

El Colegio de la Frontera Sur

**Diversidad genética y variación demográfica de
Oreopanax xalapensis (Araliaceae) sobre un
gradiente sucesional del bosque mesófilo de
montaña de Chiapas.**

TESIS

Presentada como requisito parcial para optar al grado de
Maestría en Ciencias en Recursos Naturales y Desarrollo Rural

por

Farah Zamira Vera Maloof

2009

DEDICATORIA

A cada uno de los miembros de mi familia, los amo.

A la conservación de los Bosques de este hermoso país.

“Nada en la Biología tiene sentido si no es considerado bajo el punto de vista de la evolución.”

Theodosius Dobzhansky

AGRADECIMIENTOS

Un agradecimiento especial a mi mentor Dra. Lorena Ruiz Montoya por sus enseñanzas, compañerismo, amistad, paciencia y su apoyo en la dirección y realización de este trabajo. Gracias por escucharme, por tus palabras de aliento; con ellas crecí de mis errores.

A los Doctores: Salima Machkour M´rabet, Neptalí Ramírez Marcial, Sergio López Mendoza, Eduardo Espinoza Medinilla, por la transmisión de sus conocimientos y a través de sus sugerencias y revisión de tesis hicieron crecer este proyecto.

Gracias a todos mis maestros que con sus conocimientos y experiencias contribuyeron a la realización de este estudio, y a mi crecimiento como ser humano.

A Miguel Martínez Ico, Alfonso Luna, Manuel Gutiérrez Gómez por su apoyo en campo y vivero. A Fanny Carely Alfaro González, Arbey Eugenio Gómez Ruiz, Manuel Girón Intzin y Rodrigo Verónica Vallejo, gracias por estar siempre dispuestos a apoyarme en el momento justo, por compartir esta importante etapa de mi vida.

A todos mis amigos por disfrutar y compartir este gran sueño: Karla Leal Aguilar, Jhibran Piña, Lupita Ramírez Cedillo, Anaí López y todas aquellas personas que de alguna u otra forma me ayudaron.

A la gente que colaboró de una forma directa o indirecta durante este estudio: Carla Gasca Suárez, Helda Kramsky Espinoza (Administrativo), Felipe Pérez Santiago (Conductor). A Raymundo Mijangos Álvarez (Computo), gracias por estar siempre dispuesto a apoyarme y a salvar mis datos. A la gente en biblioteca por su disponibilidad y apoyo en la búsqueda de información, especialmente a Hermilio Cruz García, Nancy Zamora Placencia y José Ramón Mijangos. A LAIGE, especialmente a Adrián Sarabia Rangel por su ayuda en la elaboración de mapas.

A la SEP-CONACyT por la beca otorgada por el periodo Enero/2006 a Diciembre/2007

Al Colegio de la Frontera Sur, unidad Tapachula, por apoyarme en la parte académica de la maestría y hacerme crecer en la adversidad.

Al Colegio de la Frontera Sur, unidad San Cristóbal de las Casas, por las facilidades prestadas para la elaboración de este trabajo.

A PRONATURA por permitir el acceso a la Estación Biológica Cerro Huitepec.

Este proyecto fue financiado por FOMIX-CONACyT-GOBIERNO DEL ESTADO DE CHIAPAS, a través del proyecto de investigación: Chis 2006-C06-44064 Restauración de la diversidad y estructura genética de especies arbóreas del bosque mesófilo de montaña de Chiapas. También agradezco la beca-tesis otorgada por este proyecto de investigación.

Gracias a Dios y por ende a la vida por darme la oportunidad de llegar a este momento.

INDICE

1. RESUMEN.....	1
2. INTRODUCCIÓN.....	3
3. ANTECEDENTES	7
4. OBJETIVOS.....	14
4.1 GENERAL	14
4.2 PARTICULARES	14
5. HIPÓTESIS	14
6. MATERIALES Y MÉTODOS.....	15
6.1 ÁREA DE ESTUDIO	15
6.2 OREOPANAX XALAPENSIS (KUNTH) DECNE. & PLANCH.....	16
6.3 DEMOGRAFÍA.....	18
6.3.1 <i>Distribución de plántulas, juveniles y adultos</i>	18
6.3.2 <i>Crecimiento y Supervivencia</i>	18
6.4 ANÁLISIS GENÉTICO	20
6.4.1 <i>Colecta</i>	20
6.4.2 <i>Análisis de isoenzimas</i>	21
6.4.3 <i>Estimación de la variación genética</i>	23
6.4.4 <i>Estructura genética</i>	25
7. RESULTADOS.....	28
7.1 ATRIBUTOS DEMOGRÁFICOS	28
7.1.1 <i>Número de individuos</i>	28
7.1.2 <i>Distribución de DAP</i>	29
7.1.3 <i>Supervivencia</i>	30
7.1.3 <i>Crecimiento</i>	31
7.2 VARIACIÓN Y ESTRUCTURA GENÉTICA	32
7.2.1 <i>Frecuencias alélicas</i>	32
7.2.2 <i>Equilibrio de Hardy-Weinberg</i>	35
7.2.3 <i>Polimorfismo y Heterocigosidad</i>	37
7.2.4 <i>Estadísticos F de Wright</i>	38
7.2.5 <i>Agrupación con base a las distancias genéticas de Nei (1972)</i>	41
8. DISCUSIÓN.....	42
8.1 DEMOGRAFÍA.....	42
8.2 DIVERSIDAD GENÉTICA	44
9. CONCLUSIONES.....	48
10. LITERATURA CITADA	49
APÉNDICE 1	58
APÉNDICE 2	59

1. RESUMEN

La estructura genética y demográfica de poblaciones fragmentadas de especies arbóreas es escasamente conocida, al igual se desconoce si la estructura genética tiene asociación con la condición sucesional del bosque que habitan. En este trabajo, se analizó la estructura genética y demográfica de poblaciones de *Oreopanax xalapensis*, en tres condiciones sucesionales (incipiente, intermedio y maduro) del Bosque Mesófilo de Montaña en la Estación Biológica Cerro Huitepec (EBCH), Chiapas. Se evaluó la variación genética, el nivel de endogamia y la diferenciación entre poblaciones de plántulas, juveniles y adultos, de *Oreopanax xalapensis*, en las tres condiciones sucesionales. Mediante electroforesis de isoenzimas se obtuvieron los parámetros genéticos estándar (P , H_O , H_E , estadísticos F de Wright, flujo y análisis de agrupación de Nei). Se registró el número de individuos mediante parcelas circulares centradas en un punto (adultos focales) y se midió el diámetro de estos. Se estimó la supervivencia y crecimiento de *O. xalapensis* mediante un experimento de transferencia recíproca entre bosque incipiente y maduro para tener una estimación del desempeño o desarrollo de las poblaciones estudiadas.

Se registró un porcentaje de polimorfismo de 94% en el bosque incipiente e intermedio, mientras que para el bosque maduro se observó 100%. El valor más bajo de heterocigosidad observada (H_O) se presentó en adultos del bosque maduro (0.242) y el mayor valor en los juveniles del bosque incipiente (0.478). Se observó un déficit de heterocigotos (H_E) en las tres etapas de crecimiento del bosque maduro, mientras que para las otras condiciones sucesionales fue menos claro un patrón. El valor más bajo para el índice de endogamia (F) se observó en las plántulas de bosque incipiente (-0.176) mientras que los adultos en las tres condiciones,

mostraron valores altos que van de 0.370 a 0.389. La F_{ST} , para el Huitepec, fue de 0.23 que indica una alta diferenciación entre sus poblaciones. El análisis de agrupación muestra tres grupos asociados al estado de crecimiento. Las plántulas fueron las más frecuentes en el bosque incipiente. En los bosques intermedio y maduro la fase adulta se observó con mayor frecuencia. Se registró que la supervivencia es mayor si el destino es diferente al origen, y la tasa de crecimiento se favoreció en el bosque maduro. La endogamia y la baja diversidad de los adultos sugieren un proceso selectivo durante el transcurso de maduración del bosque. La diversidad expresada en las plántulas se pierde debido en parte a la selección natural y probablemente también intervienen eventos demográficos estocásticos. La población de *O. xalapensis* es altamente dinámica y parece no mostrar adaptación local.

Palabras claves:

Estructura genética, etapas de crecimiento, isoenzimas, estructura demográfica, conservación genética.

2. INTRODUCCIÓN

La deforestación de los ecosistemas naturales se ha incrementado en las últimas décadas en relación directa con el crecimiento de la población y expansión de las actividades humanas. Lo anterior ha provocado que el hábitat de diversas especies se fragmente y reduzca, de tal manera que los sitios, con determinado hábitat, se constituyan en “islas” de vegetación, pequeñas en medio de un mar de áreas con fuerte intervención humana (Templeton et al. 1990; Hedrick y Millar, 1992; Knapp, 1998).

La fragmentación trae como consecuencia no sólo la pérdida física de la vegetación, también repercute en una serie de procesos ecológicos que limitan al ecosistema mantener su capacidad de resiliencia y sostener las poblaciones de otras especies que ahí habitan. Entre los procesos ecológicos que se alteran se encuentran: (1) las condiciones micro-climáticas y edáficas (Galindo-Jaimes, 1999; Romero-Nájera, 2000), las cuales pueden inhibir la regeneración sucesional secundaria (Saunders et al. 1991; Dooley y Bowers, 1998). (2) Los ciclos de vida poblacionales pueden interrumpirse parcial o completamente, disminuyendo las oportunidades de supervivencia, fecundidad, establecimiento y dispersión, aspectos biológicos determinantes en las tasas de crecimiento poblacional (Martínez-Ramos y Álvarez-Buylla, 1995).

El efecto más notable de la deforestación y fragmentación sobre las especies es la disminución de la densidad poblacional (Dooley y Bowers, 1998). Frecuentemente, en poblaciones fragmentadas se disminuye la posibilidad de dispersión entre ellas, lo cual puede resultar en una alteración de la estructura genética y poblacional. Esa disminución de dispersión altera la magnitud y la dirección del flujo génico, así como el potencial de colonización al reducir el tamaño

efectivo de la población (Young et al. 1996; Lande, 1999; Hanski y Ovaskainen, 2000). Asimismo, si en las poblaciones hay un decremento constante en el número de individuos, éstas pueden volverse más vulnerables a la pérdida de variación genética e incrementar la probabilidad de desaparición (Menges, 1991; Donovan et al. 1995; Menges y Gordon, 1996).

Idealmente los bosques y parques deben ser reestablecidos y manejados de manera que se preserve la máxima diversidad genética en las poblaciones. Sin embargo, la estructura genética de la mayoría de las especies arbóreas de los bosques de Chiapas, y de México, es aún poco estudiada. Los estudios de variación genética de poblaciones vegetales se han hecho en especies con beneficio inmediato para el ser humano, en relación a ingresos económicos, como son las especies forestales y agrícolas (Viveros-Viveros et al. 2005) y algunos estudios genéticos para especies restringidas y en peligro de extinción como es *Pinus rzedowkii* (Delgado et al. 1999; Delgado y Piñero, 2008).

La información sobre la distribución de la variación genética dentro y entre poblaciones es prácticamente desconocida y por consecuencia las decisiones para establecer o manejar las áreas naturales pueden llegar a ser inadecuadas, desde un enfoque genético (Hamrick y Loveless, 1986).

El grado de diferenciación entre poblaciones depende, entre otros factores genéticos, de la tasa de flujo génico que exista entre poblaciones (Young et al. 1996; Knapp, 1998). Si el flujo génico se incrementa entre poblaciones, éste puede reducir o eliminar la diferenciación poblacional y simultáneamente propiciar el mantenimiento de la diversidad genética (Foré et al. 1992; White et al. 1999). Por el contrario, la falta de movimiento genético entre poblaciones incrementa la diferenciación a través del tiempo como resultado de la endogamia, deriva génica, y

selección natural (Ellstrand y Elam, 1993; Young et al. 1996; Knapp, 1998; Rosquist y Prentice, 2000).

Bajos niveles de diversidad genética limita la habilidad de la población a adaptarse a las cambiantes condiciones locales (Rosquist y Prentice, 2000) y compromete la permanencia de la población local (Young et al. 1996; Young y Clarke, 2000). Sin embargo, las poblaciones naturales pueden tener bajos niveles de diversidad genética como resultado de la selección natural y por lo tanto se encuentran adaptadas al lugar (Hedrick, 2005). Estas poblaciones son particularmente vulnerables si las condiciones ambientales cambian, independientemente si las causas de cambio son de origen natural o antropogénico por que la selección ha eliminado gran parte de la variación y la población no tiene un acervo genético que le permita responder a los cambios ambientales. Asimismo, durante el proceso de restauración forestal se tiene el propósito de incrementar la población y es común que se introduzcan genotipos maladaptativos, con lo cual se corre el riesgo de desestabilizar genéticamente la población y pueden obtenerse resultados opuestos a los esperados (Montalvo et al. 1997). Por ello contar con el conocimiento de la diversidad genética en las poblaciones es fundamental para asegurar mayor impacto efectivo en la conservación y manejo de las especies (Templeton et al. 1990).

El propósito de este trabajo es describir la estructura genética de *Oreopanax xalapensis* (Kunth) Decne. & Planch (Apiales: Araliaceae) en las diferentes etapas de crecimiento y reconocer su posible relación con la demografía de poblaciones ubicada en un gradiente sucesional-altitudinal de la vegetación en la Estación Biológica Cerro Huitepec (EBCH) en Chiapas. Se espera que exista una diferenciación genética entre los diferentes gradientes sucesionales en la EBCH y

que esta diferencia genética se refleje en la distribución en las diferentes etapas de crecimiento. Se eligió *Oreopanax xalapensis*, ya que se cuenta con información de su biología y dispersión lo cual facilita la interpretación de los datos, se sabe que cuenta con frutos característicos de aquellas especies que son consumidas y dispersadas por aves; es fuente de alimento de algunas especies de aves como son *Catharus ustulatus* y *Turdus rufitorques* (Ruiz-Ruvalcaba, 2004). Sin embargo, no se tiene registro de su estructura genética. Por otro lado, *O. xalapensis* es tolerante a niveles intermedios de disturbio y son fáciles de propagar, lo que las hace buenas candidatas para impulsar programas de producción masiva de plantas y ser reintroducidas en sitios moderadamente degradados (Ramírez-Marcial et al. 2005).

3. ANTECEDENTES

Bosque Mesófilo

En México, los bosques nublados del neotrópico reciben el nombre de Bosque Mesófilo de Montaña (BMM) (Rzedowski, 1981). Dentro de esta denominación se incluye un conjunto de bosques muy heterogéneo fisonómicamente, que comprende desde bosque bajos hasta altos, hojas con bordes enteros y árboles generalmente perennifolios (Luna et al. 2001). Se caracterizan por la presencia de nubes y neblina persistente o estacional (Kappelle y Brown, 2001) y por poseer una biodiversidad alta, ser santuarios de especies amenazadas, contener un alto porcentaje de taxones endémicos, y la adaptación mesófila de la mayoría de las especies que ahí ocurren (Luna et al. 2001).

La persistencia de nubosidad le da una estructura peculiar, reduce la radiación solar, provocando un descenso en la temperatura, que mantiene la humedad atmosférica alta, por lo que se reduce el déficit de presión de vapor, suprimiendo los procesos de evaporación. La precipitación que llega al interior del bosque se incrementa por el aporte de la neblina interceptada por la vegetación ("precipitación horizontal"), que queda disponible de esta manera (Luna et al. 2001). En comparación con los húmedos sistemas forestales de tierras bajas, los BMM presentan árboles de menor tamaño, incrementándose por consiguiente la densidad de los tallos. Los árboles dominantes del dosel generalmente exhiben troncos y ramas retorcidos o tortuosos, presentando hojas más pequeñas y coriáceas. También estos bosques presentan una proporción alta de epífitas (briófitas, líquenes y helechos) y una correspondiente reducción de las lianas leñosas. Los suelos en general son húmedos y presentan una gruesa capa de materia orgánica humificada (Hamilton et al. 1995).

Actualmente en México, la distribución de estos bosques está sumamente fragmentada, generalmente de manera archipelágica en las laderas húmedas de la mayoría de las montañas mexicanas. Representa el 1% de la superficie del país, sin embargo, resguardan el 12% de la flora mexicana. Se estima que más del 50% del BMM ha desaparecido y la tendencia continúa (Luna et al. 2001). La explotación forestal para madera, en México, se concentra en las especies de los géneros *Dalbergia*, *Juglans*, *Liquidambar*, *Podocarpus* y *Quercus*. (Kappelle y Brown, 2001).

En algunas regiones del país los estratos arbóreos están mejor definidos que en otros, por ejemplo en la Reserva del Triunfo, Chiapas, se observa una estructura más complicada, y es difícil distinguir estratos, mientras que en los bosques mesófilos del norte-occidente del país se pueden distinguir dos o más estratos arbóreos (Luna et al. 2001). A pesar de que no es sencillo caracterizar este tipo de bosques en función de sus elementos florísticos, se puede distinguir un conjunto de géneros que son miembros frecuentes y a veces dominantes o codominantes, como: *Abies*, *Acer*, *Alnus*, *Arbutus*, *Billia*, *Brunnelia*, *Carpinus*, *Carya*, *Celtis*, *Chaetoptelea*, *Clethra*, *Cleyera*, *Clusia*, *Cornus*, *Dendropanax*, *Eugenia*, *Fagus*, *Ficus*, *Fuchsia*, *Ilex*, *Illicium*, *Inga*, *Juglans*, *Leucothoe*, *Liquidambar*, *Litsea*, *Magnolia*, *Matudaea*, *Meloiosma*, *Morus*, *Nyssa*, *Ocotea*, *Oreopanax*, *Osmanthus*, *Ostrya*, *Perrottetia*, *Persea*, *Phoebe*, *Pinus*, *Platanus*, *Podocarpus*, *Prunus*, *Quercus*, *Sambucus*, *Stemmadenia*, *Styrax*, *Ternstroemia*, *Tilia*, *Trichilia*, *Weinmannia* y *Zinowiewia* (Luna et al. 2001).

Los Bosques Mesófilos de Montaña están sujetos a fuertes cambios en estructura y composición, ya sea por procesos naturales o por disturbio antropogénico; siendo este último el más importantes, al provocar que la distribución del bosque se restrinja a sitios de difícil acceso y que actualmente ocupe una

superficie mucho menor a la estimada en las últimas décadas (menos del 1% del país). El disturbio de tipo natural se lleva a cabo a través de la caída de árboles, lo cual permite la formación de claros y mediante el deslizamiento de laderas (erosión en masa), también pueden ocurrir incendios de forma natural. Sin embargo, en el BMM es difícil que se de esta situación de incendio, por la misma composición del ambiente (alta humedad). Estos procesos naturales, sumados a los de tipo antropogénico, desencadenan procesos de colonización, sucesión y regeneración de la vegetación (Luna et al. 2001).

Bosque Mesófilo en Chiapas

En los últimos 50 años, la región de Los Altos de Chiapas ha sido altamente afectada por los cambios del uso de suelo. Principalmente se ha dado la transformación de bosques para áreas de cultivo, cuyas consecuencias se reflejan en la reducción y fragmentación forestal y el establecimiento de comunidades secundarias después de abandonada la agricultura (González-Espinosa et al. 1991; Ochoa-Gaona y González-Espinosa, 2000; Ramírez-Marcial et al. 2001).

En la región de Los Altos se han llevado acabo diversos estudios florísticos, de la caracterización de las comunidades, estudios demográficos, análisis de sucesión secundaria, uso y explotación de los bosques (González-Espinosa et al. 1991; Ramírez-Marcial et al. 1998; Ochoa-Gaona y González-Espinosa, 2000; Romero-Nájera, 2000; Ramírez-Marcial et al. 2001; Ruiz-Ruvalcaba, 2004; Cayuela et al. 2006). En contraste, no hay estudios sobre genética de las poblaciones de plantas.

Estación Biológica Cerro Huitepec (EBCH)

La EBCH es una reserva privada de 136 ha, que consta de una cubierta forestal relativamente extensa, con diferentes gradientes sucesionales. Ubicada en la ladera este-noreste del cerro Huitepec a 4.5 km al oeste de la ciudad de San Cristóbal de Las Casas, Chiapas. Localizada geográficamente a 92°40'15" longitud y 16°44'38" latitud, con las altitudes que van desde los 2230 hasta los 2710 msnm (Ramírez-Marcial et al. 1998). Forma parte de un cono cinerítico cuyo origen geológico data del terciario y que está constituido por una serie de laderas con pendientes pronunciadas (40-60%). El sustrato lo compone material ígneo en la zona más elevada, mientras que en las partes bajas predomina el material sedimentario. El clima es templado subhúmedo con abundantes lluvias en verano. La temperatura media anual oscila entre 14 y 15° C, la precipitación media anual es alrededor de 1300 mm (García, 1988). La mayor parte de la vegetación representa un bosque de encino. En la parte más alta y en el fondo de pequeñas cañadas existen elementos florísticos típicos de un bosque de neblina (Ramírez-Marcial et al. 1998).

El gradiente de desarrollo sucesional está relacionado directamente con la altitud e inversamente con las actividades antropogénicas ocurridas antes del decreto de la reserva en 1986 (Ramírez-Marcial et al. 1998).

En la parte baja de las laderas norte y noreste se encuentra vegetación característica del Bosque incipiente (BI). Presenta gran abundancia de tocones, el dosel es discontinuo y de poca altura (6-8 m), dominado por encinos (*Quercus* spp) en su mayoría rebrotados y con más de 30 cm de diámetro. El sotobosque incluye un gran número de plantas juveniles de árboles de especies características de comunidades más avanzadas. El estrato herbáceo está dominado por *Lycopodium complanatum* y *Pteridium aquilinum* (sensu lato), pero también es frecuente

encontrar una alta densidad de plántulas de otras especies arbóreas como *Oreopanax xalapensis*; *Rhamnus* spp y *Viburnum jucundum* ssp. *jucundum*.

A lo largo de una angosta franja altitudinal que va desde los 2330 hasta los 2,460 msnm en la ladera oriente y parte de la ladera norte, se puede observar un Bosque sucesional intermedio (BT). El dosel presenta las 8 especies de encino característicos de la EBCH, *Quercus crassifolia*, *Q. rugosa*, *Q. laurina*, *Q. candicans*, *Q. skutchi*, *Q. aff. acutifolia*, *Q. crispipilis* y *Quercus* sp. Se caracteriza por la presencia de individuos adultos dispersos (25-30 m de altura), un estrato intermedio escaso (8-15 m) y un estrato bajo (4-7 m) con plántulas juveniles de árboles del sotobosque como *O. xalapensis*, *Myrsine juerguesenii*, *Styrax warczewiskii* y *Viburnum jucundum* ssp. *jucundum*.

La vegetación predominantes es de bosque de encino, en un gradiente altitudinal que va de los 2460 a los 2620 msnm. El dosel tiene como característica la dominancia de varias especies de *Quercus* y en menor número *Arbustos xalapensis* y *Alnus acuminata* ssp. *arguta*. El estrato bajo arbóreo está representado por *Garrya laurifolia*; *Oreopanax xalapensis*; *Prunus serotina* ssp. *capuli*; *Myrsine juerguesenii* y *Viburnum jucundum*. El estrato arbustivo se considera denso, con especies de los géneros *Cestrum*; *Fuchsia*; *Gaultheria*; *Litsea*; *Senecio* y *Xylosma*. Entre las herbáceas se presentan varios tipos de helechos de los géneros *Adiantum*;, *Asplenium* y *Polypodium*.

En el extremo oeste y noroeste de la EBCH se presenta una vegetación característica del Bosque maduro (BM). Terreno con pendientes de 45°. En esta zona se han registrado 125 especies vegetales. El dosel alcanza los 30-35 m, con individuos de *Quercus laurina* principalmente. Frecuentemente los árboles grandes presentan diferentes especies de epifitas, principalmente bromelias, orquídeas,

helechos, musgos y líquenes. En el subdosel a 20-25 m de altura se encuentran individuos entremezclados de *Clethra macrophylla*; *Cleyera thaeoides*; *Persea americana*, *Styrax magnus*, *Acer negundo* subesp. *mexicanum*; *Cornus disciflora*, *Quetzalia contracta*; *Drimys granadensis*; *Miconia glaberrima*; *Myrsine juergenesenii*, *Oreopanax xalapensis*, *Ostrya virginiana* var. *guatemalensis*, *Prunus* spp., *Rhammus sharpii* y *Saurauia latipetala* (Ruiz-Ruvalcaba, 2004).

Para la conservación de los recursos naturales es necesario encontrar un mecanismo para implementar medidas concretas de manejo que integren varias disciplinas. La preservación de la biodiversidad sólo será posible si elaboramos una estrategia de conservación en la cual las áreas de reserva sean un componente importante y para ello es central la generación de conocimiento.

Variación genética

La genética de poblaciones nos permite estimar la variación y estructura genética entre y dentro de las poblaciones, esta variación puede ser medida a partir de las frecuencias alélicas. Al medir las frecuencias alélicas en las poblaciones naturales se puede determinar si se mantienen las condiciones del Equilibrio de Hardy-Weinberg. El Equilibrio de Hardy-Weinberg (EHW) menciona que las frecuencias alélicas en equilibrio permanecerán constantes de generación en generación. El EHW proporciona una serie de condiciones ideales bajo las cuales las frecuencias alélicas permanecen constantes y por lo tanto las poblaciones no evolucionan. Al enlistar las condiciones ideales en EHW, se identifican los factores que pueden dar lugar a evolución en el mundo real. Al violar una o más de estas condiciones, las conclusiones del equilibrio no se cumplen y por lo tanto algunas de las fuerzas evolutivas están actuando y se refleja en las frecuencias alélicas. Las condiciones

ideales más importantes del EHW son: no hay selección, las mutaciones son nulas, no hay migración, el tamaño de la población es infinita y los apareamientos son al azar. Al actuar las fuerzas evolutivas en la población las frecuencias alélicas cambian de una generación a otra.

Para estimar el grado de diferenciación genética se utilizan los estadísticos F , los cuales reparten la variación genética a diferentes niveles: Total (T), subdividida (S) y por individuo (I). Se trata de una estimación de la probabilidad de que dos alelos sean idénticos por descendencia, por lo que también son estimadores de la endogamia a diferentes niveles jerárquicos F_{ST} (subpoblación), F_{IT} (población total), F_{IS} , (individuos dentro de una población). F_{ST} es especialmente importante ya que sugiere el nivel de diferenciación entre poblaciones cuyo valor puede ser alterado por la tasa de flujo genético que ocurre entre pares de poblaciones (Hedrick, 1997; Slatkin, 1985). El valor de F_{ST} varía de 0 a 1. Los valores mayores representan más variación en frecuencias alélicas entre poblaciones.

No existe información sobre la diversidad y estructura genética para ninguna especie de *Oreopanax*. Este género comprende 80 especies, de las cuales siete de ellas se han registrado en Chiapas (González-Espinosa et al. 2005): *O. arcanus*, *O. capitatus*, *O. liebmannii*, *O. obtusifolius*, *O. peltatus*, *O. sanderianus* y *O. xalapensis*. Se ha considerado de especial interés a *Oreopanax xalapensis* debido a que es una especie nativa del Bosque Mesófilo de Montaña (Ramírez-Marcial et al. 2003) el cual es un ecosistema que se encuentra en riesgo de desaparecer. Además, de que es una especie con potencial para evaluar estrategias para la recuperación y enriquecimiento de los BMM degradados, debido a su alta distribución, alta abundancia local, fácil propagación y rápido crecimiento (Ramírez-Marcial et al. 2003).

4. OBJETIVOS

4.1 General

- Describir la estructura genética y demográfica de *Oreopanax xalapensis* en la Estación Biológica Cerro Huitepec (EBCH) en Los Altos de Chiapas, México.

4.2 Particulares

- Caracterizar la estructura genética poblacional en las diferentes etapas de crecimiento (plántula, juvenil, adulto) de *Oreopanax xalapensis*.
- Estimar la diversidad genética de *O. xalapensis* en la EBCH.
- Determinar si existen diferencias genéticas entre las poblaciones de diferente condiciones sucesional.
- Evaluar la distribución de plántulas, juveniles y adultos de *O. xalapensis* en la EBCH.
- Evaluar la sobrevivencia y tasa de crecimiento de *O. xalapensis*.

5. HIPÓTESIS

Existe una diferenciación genética entre las poblaciones sobre gradientes sucesional-altitudinal y se reflejará en la distribución de las diferentes etapas de crecimiento. De acuerdo con la historia de disturbio en el área se anticipa que la mayor tasa de variación genética estará contenida en los sitios con evidencia de disturbio reciente.

6. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1 Área de estudio

La colecta de los individuos de *Oreopanax xalapensis* se llevo a cabo en tres sitios que representan diferentes condiciones sucesionales del bosque de encino: incipiente, intermedio y maduro; dentro de la Estación Biológica Cerro Huitepec (EBCH) (Fig.1).

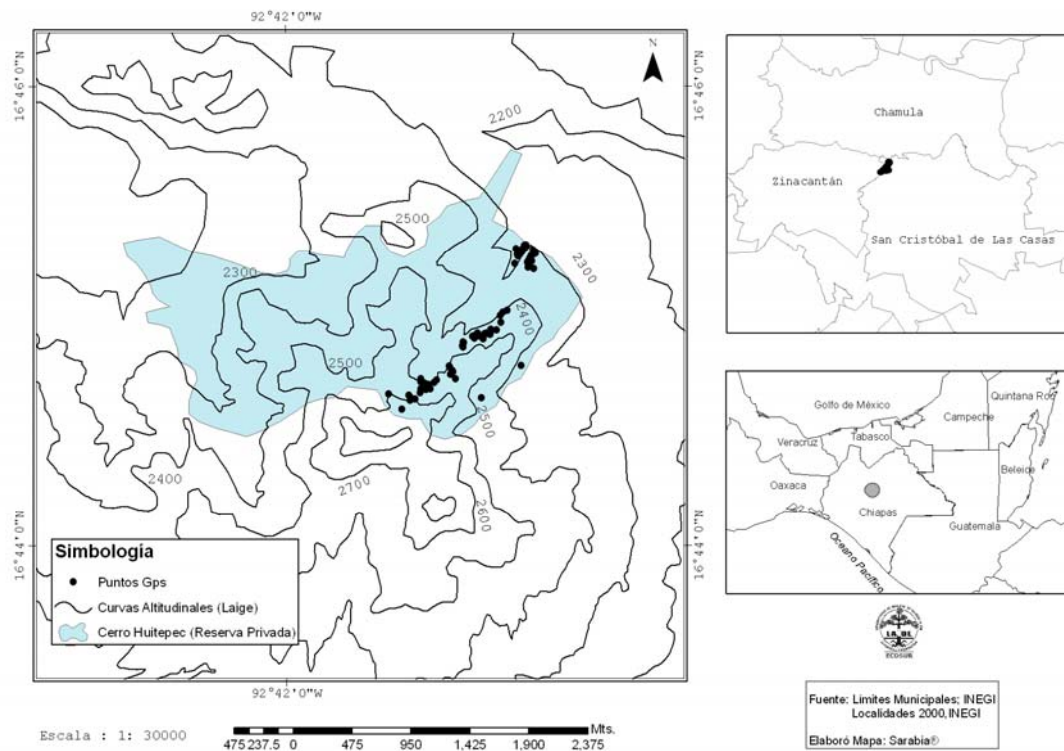


Figura 1. Localización geográfica de la Estación Biológica del Cerro Huitepec (EBCH), San Cristóbal de las Casas, Chiapas.

Bosque Incipiente (BI): Se caracteriza por presentar gran abundancia de tocones, dosel discontinuo y de poca altura (6-8 m) con más de 30 cm de diámetro. El sotobosque presenta un gran número de plantas juveniles de árboles de especies características de comunidades más avanzadas.

Bosque Intermedio (BT): Condición vegetal que se caracteriza por la presencia de individuos adultos dispersos (25-30 m de altura), un estrato intermedio escaso (8-15 m) y un estrato bajo (4-7 m) con plántulas juveniles de árboles del sotobosque.

Bosque Maduro (BM): Esta comunidad se puede distinguir por un dosel que alcanza los 30-35 m, en este caso, con individuos de *Quercus laurina* principalmente. Frecuentemente los árboles presentan diferentes especies de epifitas.

6.2 *Oreopanax xalapensis* (Kunth) Decne. & Planch.

Oreopanax xalapensis (Araliaceae) es un árbol con gran plasticidad y se encuentra ampliamente distribuido en las regiones neotropicales. En el cuadro 1 se presenta una síntesis de las características demográficas y morfológicas de *O. xalapensis*. Es conocida comúnmente con diferentes nombres: Mano de león, Mano de danta (Chis., Gro., Oax); Siente hojas (centro de Ver.); Jabnal (tzotzil, Chis.); Acubisi (zoque, Chis.); Xocotamal (ver.); Salum te (tzeltal, Chis.).

Cuadro1. Parámetros demográficos y morfológicos de *Oreopanax xalapensis*.

Demografía	Morfología
Se distribuye ampliamente a lo largo de la Sierra Madre Oriental y Occidental de México, continuando hacia Guatemala, Honduras, El Salvador, Nicaragua, Costa Rica y Panamá (Pennington y Sarukhán, 2005).	Crece como arbolito o árbol de hasta 30 m de altura y 1 m DAP (Diámetro a la altura del pecho). Corteza gris pardusca, ligeramente escamosa (Ruiz-Ruvalcaba, 2004). Especie plástica, puede presentar el tronco unipodial o multipodial y copa densa o formas muy ramificadas.
Con afinidad fitogeográfica meridional Andina (Quintana-Ascencio y González-Espinosa 1993; Luna et al. 2001)	Generalmente se desarrolla en sitios húmedos y protegidos de la insolación directa.
Se considera de sucesión tardía (Quintana-Ascencio y González-Espinosa, 1993; González-Espinosa et al. 1997; Galindo-Jaimes et al. 2002) por lo que es frecuente como un elemento dominante en el interior de los Bosques Mesófilos de Montaña de México y centroamérica (González-Espinosa et al. 1991; Meave et al. 1992; Quintana-Ascencio y González-Espinosa, 1993; González-Espinosa et al. 1997; Luna et al. 2001).	Tolerante a la sombra (López-González, 2000; Ramírez-Marcial et al. 2005), o bien, que la germinación y el crecimiento de plántulas se estimulan en los claros donde hay mayor radiación de luz pero siempre bajo una cobertura forestal (Meave et al. 1992; Ruiz-Ruvalcaba, 2004).
	Su reproducción de forma sexual o vegetativa.
	La floración se presenta entre los meses de otoño e invierno (finales de noviembre hasta principios de febrero).

6.3 Demografía

6.3.1 Distribución de plántulas, juveniles y adultos

Se establecieron parcelas circulares de seis metros de diámetro alrededor de 30 individuos reproductivos en cada fase sucesional (849 m² de área muestreada por condición sucesional), a cada uno de estos individuos se le midió el Diámetro a la altura del pecho (DAP). La distribución de clases de tamaño de DAP se comparó entre las condiciones usando la prueba de Kolmogorov-Smirnov para dos muestras. Esta prueba se uso ya que los datos no presentan una distribución normal.

En cada parcela se contabilizo cada uno de los individuos de *O. xalapensis* y se registró la etapa de crecimiento en el que se encontraron: plántula (individuos con altura menores a 50 cm), juveniles (> 50 y <150 cm), adulto (> 150 cm de altura y aquellos que presentaran estructuras reproductivas). Para comparar las frecuencias de las etapas de crecimiento entre condiciones se usó la prueba estadística de χ^2 .

6.3.2 Crecimiento y Supervivencia

Se obtuvieron semillas de individuos del bosque maduro y del bosque incipiente, ya que por el grado de perturbación del bosque son las dos condiciones sucesionales en las que se podrían encontrar diferencias significativas en cuanto a crecimiento y tasa de supervivencia. Estas semillas se establecieron en el vivero de El Colegio de la Frontera Sur (ECOSUR). Posteriormente, se transplantaron nuevamente a la EBCH de la siguiente manera: Se establecieron diez parcelas de 90 X 120 cm, con 20 individuos cada una. Cinco de las parcelas se ubicaron en el bosque maduro (BM) y cinco en el bosque incipiente (BI). Cada parcela se conformó de 10 plántulas provenientes del bosque maduro y de 10 del bosque incipiente, de forma intercalada con una separación de 30 cm entre ellos (Fig. 2).

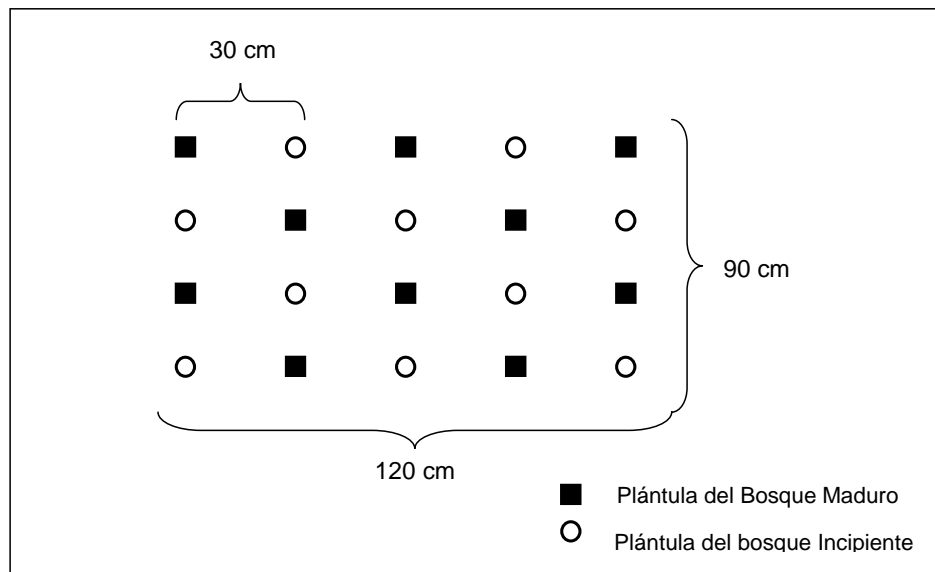


Figura 2. Distribución de plántulas en las parcelas

La distancia entre cada parcela va de cinco hasta los diez metros, según las condiciones del terreno.

El crecimiento se evaluó directamente en las plantas establecidas en las parcelas. La primera medida se llevó a cabo una semana después de establecer las parcelas (ya que se había asentado la tierra después de llover). Se marcó cada plántula, se registro datos de la altura hasta el ápice de crecimiento. Después de seis meses se obtuvieron los mismos datos para estimar la tasa de crecimiento. La tasa de crecimiento en altura se calculó por medio de la función $TCa = -(\ln(T_2/T_1))/m$, donde T_1 es el la altura en el tiempo 1, T_2 la altura en el tiempo 2 y m es el periodo de crecimiento considerado (6 meses) (Wilson y Tilman, 1991). Las diferencias significativas se establecieron por medio de un análisis de varianza (ANOVA multifactorial) cuyos factores fueron el bosque origen, bosque receptor y la interacción, todos considerados como factores fijos. Las diferencias significativas para la proporción de individuos sobrevivientes se obtuvo con una prueba estadística de χ^2 . Se utilizó el software JMP (versión 5.1) para llevar a cabo los análisis estadísticos.

6.4 Análisis genético

Como un primer acercamiento a la estructura genética de *Oreopanax xalapensis* se utilizó las isoenzimas como marcadores moleculares. Las enzimas son proteínas formadas por cadenas de aminoácidos. En las isoenzimas, las sustituciones de aminoácidos que cambian la carga eléctrica de la enzima son fáciles de identificar por electroforesis y esto constituye la base para el uso de las isoenzimas como marcadores moleculares.

La electroforesis se basa en la separación de moléculas según la movilidad de éstas en un campo eléctrico a través de una matriz porosa, la cual finalmente separa las moléculas por la carga eléctrica, masas y tamaños moleculares. Posteriormente, la matriz porosa se pone en contacto con un sustrato para una reacción química catalizada por la enzima en cuestión y un colorante que se une a un producto de la reacción química. La cual, teñirá la matriz sólo en los lugares a donde haya llegado la enzima estudiada.

La identificación de la variación enzimática por medio de electroforesis es una herramienta frecuentemente usada para el análisis genético en árboles forestales (Bermejo-Velázquez, 2004).

6.4.1 Colecta

Para el análisis genético se colectó material vegetal (cuatro hojas por árbol) de 60 individuos de *O. xalapensis* por condición sucesional, 20 por etapa de crecimiento (plántulas, juveniles y adultos) siguiendo los métodos estándar (Cheliak y Pitel, 1984), lo cual es suficiente para poder analizar si existen diferencias genéticas. Los ejemplares colectados se colocaron en hielos para su transporte hasta el laboratorio de Genética de Poblaciones de ECOSUR, Unidad San Cristóbal. En el laboratorio

las muestras se conservaron en nitrógeno líquido hasta el momento de efectuar los corrimientos de electroforesis.

6.4.2 Análisis de isoenzimas

Se utilizó la técnica de electroforesis en acetato de celulosa siguiendo los protocolos de Herbert y Beaton (1993). Esta técnica fue empleada ya que presenta una buena resolución, es rápida y práctica.

Extracción

En el Laboratorio se tomó una porción de hoja de cada individuo y se maceró en 0.5 ml de solución ABIES (Yeh y O'Malley, 1980; Cheliak y Pitel, 1984) (descripción en el apéndice 1). Una vez obtenido, el macerado se centrifugó a 13000 rpm x 4 minutos para la extracción de las proteínas.

Corrimiento

Los acetatos de celulosa (Titan III Helena Laboratorios) fueron remojados durante dos horas en el buffer respectivo (Cuadro 2), para posteriormente aplicar las muestras y someterlos a diferentes voltajes, amperajes y tiempo según la enzima. Las soluciones amortiguadoras de corrimiento se prepararon de acuerdo a Herbert y Beaton (1993). Para estandarizar las condiciones de corrimiento se realizaron pruebas pilotos en los cuales se determinó el tiempo y el voltaje para cada enzima. Se determinó valores óptimos para cada uno de los siguientes parámetros: voltaje a 45 volts, corriente a 20 mA y un tiempo de corrimiento de 100 min (Cuadro 2).

Revelado

Las soluciones de tinción se prepararon con base al procedimiento de Herbert y Beaton (1993). Se utilizaron 11 enzimas: 1) Fosfatasa alcalina (ALP), 2) Esterasa (EST), 3) Dismutasa superoxidasa (SOD), 4) Fosfatasa ácida (FA), 5) Fumarato hidratasa (FUM), 6) Fosfogluconato deshidrogenasa (G6PDH), 7) Isocitrato Deshidrogenasa (IDH), 8) Glutamato Oxalato Transaminasa (GOT), 9) Gliceraldeido-3-fosfato (G3PDH). 10) Glucosa-6-Fosfato isomerasa (GPI) y 11) Fosfoglucomutasa (PGM). Estas enzimas fueron elegidas por su mayor actividad en pruebas previas en el laboratorio de Genética de ECOSUR. En el apéndice 2 se describen la forma de preparación de la solución amortiguadora, así como también la preparación de los sustratos y la solución para la tinción de cada una de las enzimas.

Lectura

La lectura del corrimiento se basa en el bandeo de las proteínas (enzimas) sobre los acetatos de celulosa. Con base en la distancia a la cual migraron los electromorfos (áreas de actividad evidenciada por las técnicas de tinción que forma una banda de color), se caracterizó como locus 1 al electromorfo que migró la mayor distancia desde el punto de origen, como locus 2 al que presentó la menor distancia desde el punto de origen. En cada uno de los loci se determinó el número de alelos (electromorfos separados por menos de un centímetro) y se le asignó un número. Los electromorfos separados por más de un centímetro representan un loci diferente, de esa manera se determinó el número de loci que presentó cada enzima (Cuadro 2).

Cuadro 2. Enzimas analizadas y funciones enzimáticas. Solución amortiguadora, condiciones de pH y loci revelados en poblaciones de *Oreopanax xalapensis* en la EBCH.

Enzimas	Nomenclatura internacional	Abreviación	Buffer	pH	No. Loci	No. Alelos
Alkaline Phosphatase	EC 3.1.3.1	ALP	CAAPM	7.0	2	2
Carboxylesterase	EC 3.1.1.1	EST	CAAPM	7.0	2	2
Superoxide dismutase	EC 1.15.1.1	SOD	CAAPM	7.0	1	2
Acid Phosphatase	EC 3.1.3.2	FA	CAAPM	7.0	1	2
Fumarate hydratase	EC 4.2.1.2	FUM	CAAPM	7.5	1	2
Glucose-6-phosphate dehydrogenase	EC 1.1.1.49	G6PDH	CAAPM	7.5	2	2
Isocitrate dehydrogenase	EC 1.1.1.42	IDH	CAAPM	7.5	2	2
Glutamate oxaloacetate transaminase	EC 2.6.1.1	GOT	TG	7.0	1	2
Glyceraldehyde-3-phosphate	EC 1.2.1.12	G3PDH	TG	7.0	2	2
Glucose-6-phosphate isomerase	EC 5.3.1.9	GPI	TG	7.0	2	2
Phosphoglucomutase	EC 5.4.2.2	PGM	TG	7.0	2	2

6.4.3 Estimación de la variación genética

La información de la lectura de la electroforesis nos permitió estimar la variabilidad genética en las poblaciones de *O. xalapensis* por medio de la proporción de loci polimórficos (P), número promedio de alelos observados (n_a) y efectivo (n_e), y la hererocigosidad observada (H_o) y esperada (H_E).

6.4.3.1 Número de alelos promedio

El número promedio observado (n_a) es la media aritmética del número de alelos observado por locus. El número de alelos efectivos se obtuvo del recíproco de la homocigosidad (n_e) (Hartl y Clarck 1997).

6.4.3.2 Porcentaje de loci polimórficos (P)

Se consideró un locus polimórfico cuando la frecuencia del alelo más común es menor a 0.95 (95%).

El polimorfismo se calculó mediante la relación:

$$P = x/m$$

Donde:

x = es el número de loci polimórficos (con más de un alelo)

m = es el número total de loci analizados

6.4.3.3 Heterocigosidad

Para medir el grado de heterocigosidad (proporción de heterocigotos en la población) se tomaron dos estimadores. Se calculó la proporción de heterocigosidad observada (H_O), que es la suma de heterocigotos sobre el total de organismo analizados, y el esperado (H_E) bajo condiciones de equilibrio de Hardy-Weinberg. La heterocigosidad esperada se calculó de la siguiente manera (Hamrick y Loveless, 1986):

$$H_E = 1 - \sum q_i^2$$

Donde:

q_i = es la frecuencia de los alelos de locus i

La heterocigosidad promedio esperada por población fue obtenida por el promedio entre todas las isoenzimas de la proporción de heterocigotos en cada locus, por condición sucesional y por etapa de crecimiento.

Para inferir la existencia de factores que modifican las frecuencias genotípicas y alélicas, se probó el equilibrio de Hardy-Weinberg mediante una χ^2 , el cual establece que en una población grande bajo apareamiento aleatorio sin selección, mutación o migración, las frecuencias génicas y genotípicas permanecen constantes de generación en generación (Hartl y Clark, 1997).

6.4.4 Estructura genética

Se describió la estructura genética de las poblaciones estudiadas mediante la obtención del coeficiente de endogamia (F) y los estadísticos F de Wright (F_{IT} , F_{IS} , y F_{ST}) (Wright, 1978).

6.4.4.1 Coeficiente de endogamia (F)

Según Wright (1951), el coeficiente de endogamia (F) mide la reducción en la heterocigosidad dentro de una población como una consecuencia del entrecruzamiento entre parientes en relación con la heterocigosidad esperada en equilibrio de Hardy-Weinberg. Una población se encuentra en equilibrio de Hardy-Weinberg si las frecuencias alélicas y genotípicas permanecen estables a través de las generaciones, donde la F toma el valor de 0. El coeficiente de endogamia se expresa como:

$$F = (H_E - H_O) / H_E.$$

Donde:

H_O : Es la heterocigosis observada en la población

H_E : Es la proporción de heterocigotos esperados para cualquier par de alelos en el locus.

Los valores del coeficiente de endogamia toman valores de -1 a +1. Los valores negativos indican un exceso de heterocigotos y los positivos una carencia de estos.

6.4.4.2 Estadísticos F de Wright

Los índices utilizados para describir el grado de diferenciación genética entre las poblaciones son los estadísticos F de Wright (Wright, 1951). Estos estadísticos describen cuantitativamente la variación genética intrapoblacional a tres escalas: de individuos en la población total (F_{IT}), de individuo con respecto a las subpoblaciones (F_{IS}) y entre subpoblaciones (F_{ST}).

El primer nivel F_{IT} mide la reducción en la heterocigosidad observada de un individuo dentro de la población total en relación a la esperada de un individuo en una población no subdividida con apareamientos al azar, es decir en equilibrio de Hardy-Weinberg. Este estadístico se basa en los efectos del apareamiento no azaroso y en los efectos de la subdivisión de la población. Por ello, este estadístico mide el grado de endogamia total de la población considerando a todas las subpoblaciones.

El segundo nivel F_{IS} estima la reducción de la heterocigosidad de un individuo que se encuentra en una subpoblación como consecuencia de apareamientos no azarosos tomando como referencia a una subpoblación ideal en la que todos los apareamientos están dados al azar (Hartl y Clark, 1997).

Finalmente el estadístico F_{ST} mide la reducción en la heterocigosidad esperada de un individuo que se encuentra en una población dividida con respecto al valor en una población no subdividida con apareamientos al azar, es decir, el efecto considerando el de la subdivisión de la población. A F_{ST} se le considera una medida de la diferenciación genética entre las subpoblaciones debido a la deriva genética (Hartl y Clark, 1997).

Wright propone interpretar los valores de F_{ST} de la siguiente manera:

- Los valores que van de 0 a 0.05 se consideran con poca diferenciación
- Aquellos que van de 0.05 a 0.15 tienen una diferenciación moderada
- Los que van de 0.15 a 0.25 indican una diferenciación genética importante
- Finalmente los valores por arriba de 0.25 la diferenciación es muy importante.

6.4.5 Distancias genéticas

Con base a las distancias genéticas de Nei (1972) se construyó un cladograma, con el propósito de detectar las posibles relaciones genéticas entre las poblaciones de *O. xalapensis* en la EBCH. La agrupación se hizo por el método UPGMA (unweighted pair-group method with arithmetic mean) o método de agrupamiento por pares no ponderados con media aritmética, que se basa en una matriz de distancias genéticas entre pares de poblaciones. Estableciendo de esta manera las relaciones genealógicas entre las poblaciones con base a similitudes o distancias genéticas (Nei, 1972). La distancia genética toma valores de cero si las poblaciones tienen frecuencias alélicas idénticas, hasta infinito si las poblaciones no comparten alelos (Weir y Cockerham, 1984).

Todos los análisis de heterocigosidad, polimorfismo, equilibrio de Hardy-Weinberg, los estadísticos F y distancias genéticas, se obtuvieron por medio del programa de análisis genético TFPGA (Tools For Populations Genetics Analices, Miller, 1997) con diferentes niveles de significancia $P < 0.05$, 0.01, 0.001 y 0.0001. El análisis de homogeneidad se llevo a cabo en el programa GENEPOP (Yeh et al. 1999).

7. RESULTADOS

7.1 Atributos demográficos

7.1.1 Número de individuos

La frecuencia de plántulas, juveniles y adultos fue significativamente diferente entre las condiciones sucesionales ($\chi^2_{gl. 4} = 97.8$, $P < 0.001$; Fig. 3). Se registró un mayor número de individuos de *O. xalapensis* en el bosque incipiente, en donde la frecuencia de plántulas fue notablemente mayor que la de juveniles o adultos. En el bosque intermedio y maduro la fase adulta fue la de mayor frecuencia y es notoria la baja frecuencia de plántulas en el bosque maduro (Fig. 3).

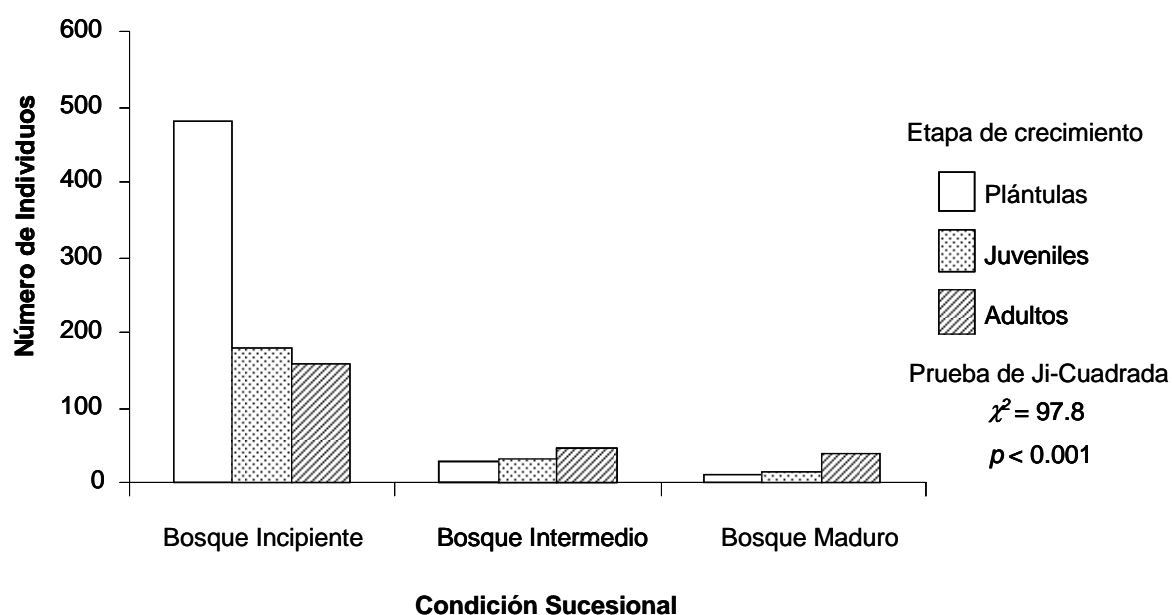


Figura 3. Número de individuos de *Oreopanax xalapensis* para tres etapas de crecimiento que se desarrollan en diferentes condiciones sucesionales del Bosque mesófilo de montaña en la Estación Biológica Cerro Huitepec, Chiapas.

7.1.2 Distribución de DAP

La distribución de DAP (Fig. 4) del bosque maduro fue significativamente distinto de la observada en el bosque incipiente e intermedio ($P < 0.001$), entre estos dos últimos no hubo diferencia significativa ($P = 0.39$).

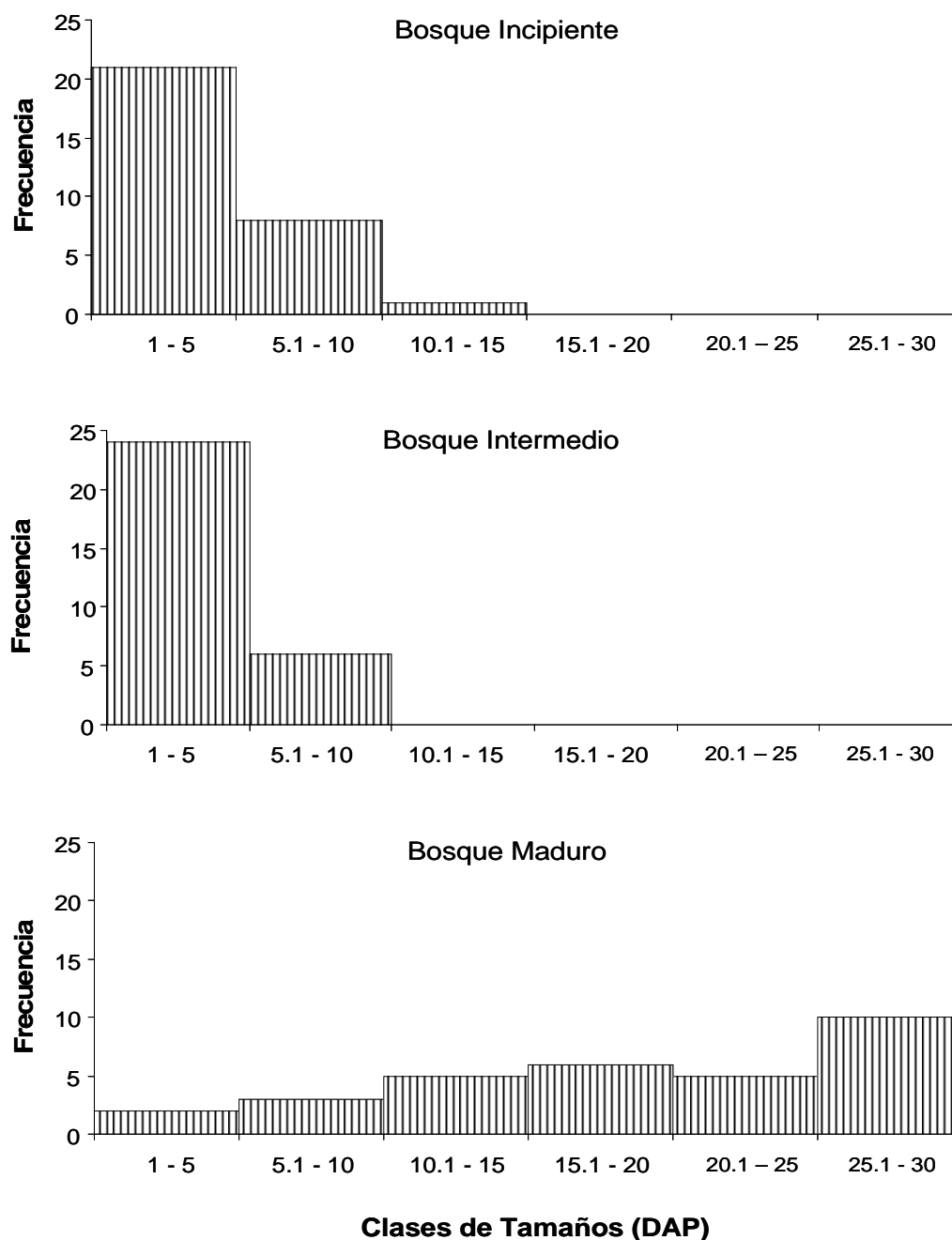


Figura 4. Distribución de DAP de *Oreopanax xalapensis* en tres condiciones sucesionales del Bosque mesófilo de montaña en la Estación Biológica Cerro Huitepec, Chiapas.

7.1.3 Sobrevivencia

La sobrevivencia de las plantas del experimento de transferencia reciproca mostró un patrón diferente al esperado. Se esperaba una mayor sobrevivencia si el origen y destino fuese el mismo. El análisis de supervivencia mostró diferencias significativas únicamente para el factor origen. Aparentemente hubo una mayor sobrevivencia si el origen es distinto al destino (Fig. 5).



Figura 5. Sobrevivencia de *Oreopanax xalapensis* evaluadas mediante un experimento de transferencia reciproca entre la condición sucesional de bosque maduro y bosque incipiente en la Estación Biológica Cerro Huitepec, Chiapas.

7.1.3 Crecimiento

La tasa de crecimiento se vio favorecida en el bosque maduro, y dentro de este las plántulas que provenían de este bosque fueron las que más crecieron en el periodo de seis meses (Fig. 6). En ningún bosque se obtuvo una tasa de crecimiento significativa, sin embargo el crecimiento es más favorable en el bosque maduro.

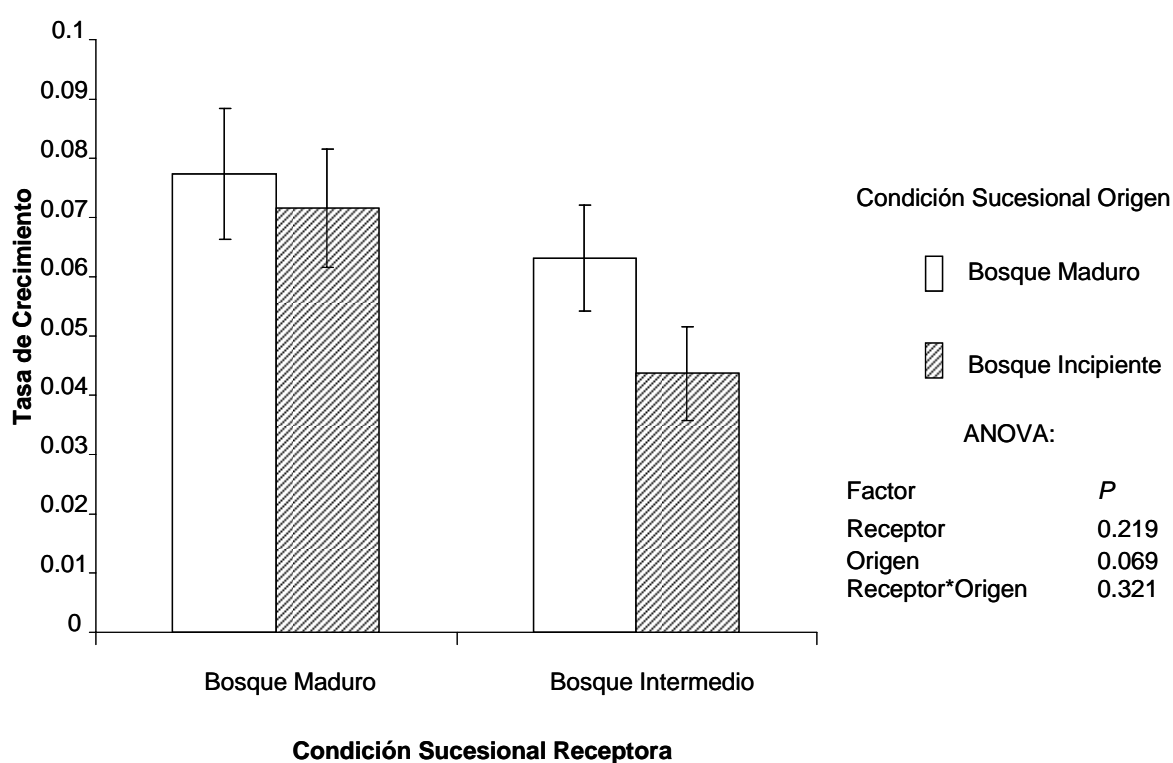


Figura 6. Tasa de crecimiento de *Oreopanax xalapensis* evaluadas mediante un experimento de transferencia recíproca entre las condiciones sucesionales de bosque maduro y bosque incipiente de encinos en la Estación Biológica Cerro Huitepec, Chiapas.

7.2 Variación y estructura genética

Se analizaron un total de 180 individuos: 20 individuos por etapa de crecimiento (plántula, juveniles y adultos) en tres condiciones sucesionales del bosque del BMM (incipiente, intermedio y maduro).

Se ensayaron 11 isoenzimas, con las cuales se obtuvieron 18 loci; todos con dos alelos (Cuadro 2).

7.2.1 Frecuencias alélicas

La frecuencia del alelo más común (alelo rápido) de los loci ALP-2, EST-1, FA, IDH-1, G6PDH-1, G6PDH-2, G3PDH-1, GPI-2, GOT, PGM-1 y PGM-2 mostró diferencias significativas entre condición sucesional (Cuadro 3).

Cuadro 3. Homogeneidad (χ^2) entre poblaciones de *Oreopanax xalapensis* que se desarrollan en diferentes condiciones sucesionales del Bosque Mesófilo de Montaña en la Estación Biológica Cerro Huitepec, Chiapas.

Isoenzimas	Bosque Maduro	Bosque Intermedio	Bosque Incipiente	Entre Condición Sucesional	Huitepec
ALP-1	24.242***	7.633*	8.460*	4.873 ^{NS}	40.869****
ALP-2	0.000 ^{NS}	0.000 ^{NS}	0.000 ^{NS}	14.191***	14.191 ^{NS}
EST-1	5.849 ^{NS}	26.485****	33.911****	7.323*	83.843****
EST-2	8.626*	1.481 ^{NS}	0.000 ^{NS}	3.651 ^{NS}	13.340 ^{NS}
FA	12.116*	44.709****	40.085****	9.067*	97.948****
IDH-1	16.355***	6.985*	20.831****	16.352***	54.788****
IDH-2	11.698**	31.206****	5.616 ^{NS}	2.058 ^{NS}	48.264****
G6PDH-1	8.278*	0.058 ^{NS}	2.393 ^{NS}	26.265****	77.073****
G6PDH-2	21.194****	28.964****	17.731***	6.220*	68.059****
SOD	6.785*	8.604*	0.259 ^{NS}	1.050 ^{NS}	20.010*
FUM	10.407**	0.067 ^{NS}	1.086 ^{NS}	4.174 ^{NS}	20.188**
G3PDH-1	3.348 ^{NS}	0.000 ^{NS}	0.000 ^{NS}	26.696****	32.065****
G3PDH-2	3.615 ^{NS}	3.383 ^{NS}	7.222*	2.637 ^{NS}	15.883*
GPI-1	0.536 ^{NS}	3.238 ^{NS}	1.370 ^{NS}	4.687 ^{NS}	20.164**
GPI-2	5.604 ^{NS}	12.078**	49.605****	87.674****	104.818****
GOT	0.409 ^{NS}	49.091****	2.413 ^{NS}	33.671****	66.283****
PGM-1	17.173***	15.989***	5.217 ^{NS}	8.470*	40.924****
PGM-2	46.828****	17.954***	2.475 ^{NS}	61.822****	125.234****

****, p<0.0001; ***, p<0.001; **, p<0.01; *, p<0.05; NS, No significativo.

En el bosque incipiente se presentó la mayor frecuencia del alelo rápido de los loci ALP-2, EST-1, FA, GPI-2 y PGM-2, y disminuyó conforme aumentó la edad sucesional. La variación en la frecuencia del alelo rápido de los loci G6PDH-2, GOT y PGM-1 no mostró alguna relación con la condición sucesional, aunque la menor frecuencia se encontró en el bosque incipiente (Fig. 7). Tampoco se observó alguna relación de las frecuencia alélicas del loci IDH-1 y G6PDH-1 con la condición del bosque; coinciden en que la menor frecuencia se registró en el bosque intermedio. La frecuencia alélica del locus G3PDH-1 fue significativamente menor en el bosque maduro que en las otras dos condiciones (Fig. 7, Cuadro 3).

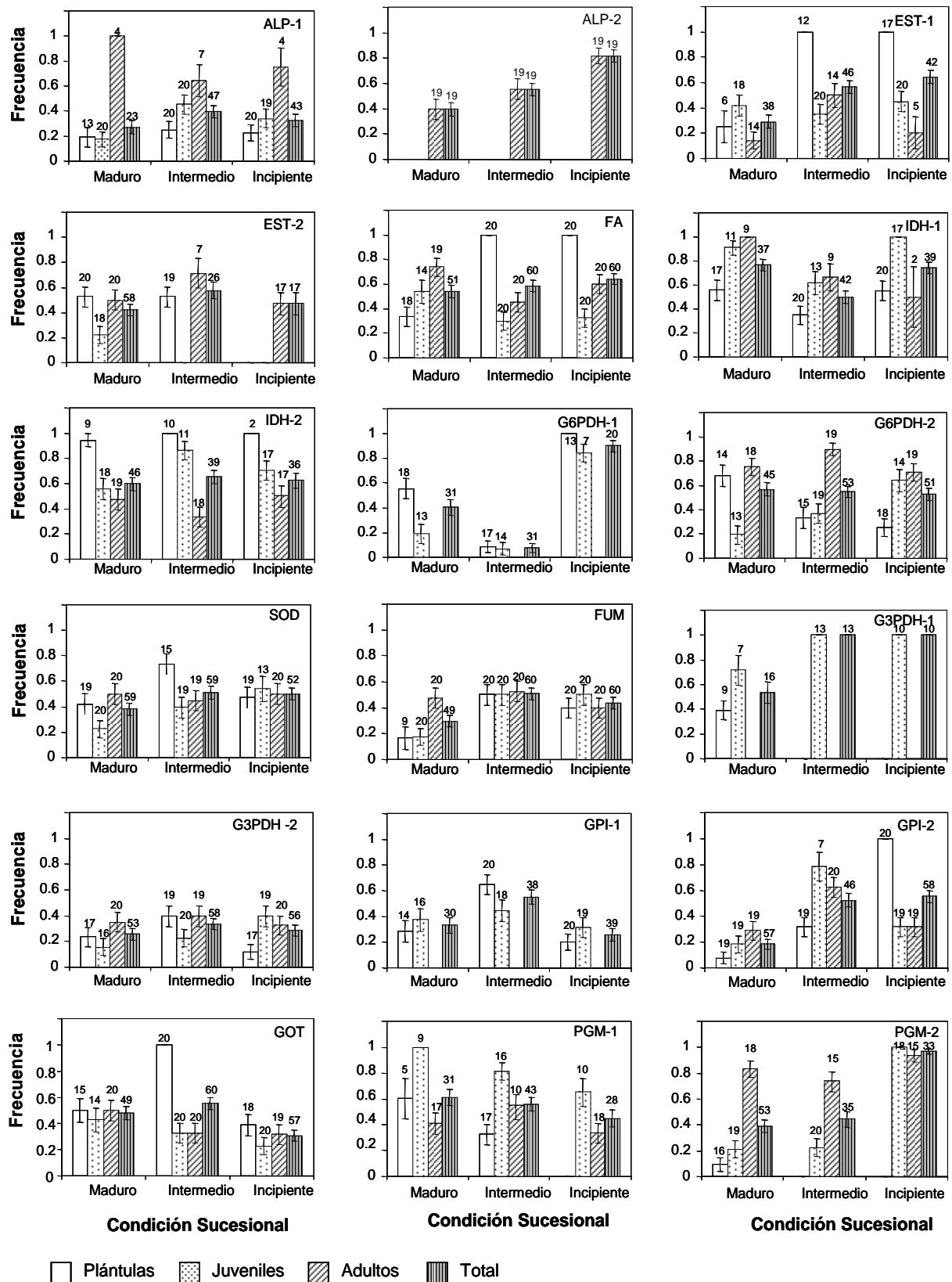


Figura 7. Frecuencias alélicas de *Oreopanax xalapensis* en tres condiciones sucesionales del Bosque Mesófilo de Montaña en la Estación Biológica Cerro Huitepec, Chiapas.

El alelo rápido de ALP-2 se observó únicamente en adultos, en plántulas y juveniles no se detectó actividad (Fig. 7). IDH-2 mostró diferencias significativas entre etapas de crecimiento en bosque maduro y bosque intermedio, en las plántulas se observó la mayor frecuencia del alelo rápido y en adultos la menor frecuencia. La frecuencia del alelo rápido en los loci EST-1 y FA obtuvieron valores altos en plántulas de bosque intermedio e incipiente. EST-2 y G6PDH-1 mostraron diferencias significativas entre las etapas de crecimiento del bosque maduro, donde las plántulas obtuvieron la mayor frecuencia. El alelo rápido de IDH-1 muestra la frecuencia más alta en el bosque maduro, donde a su vez, los adultos obtienen el mayor valor.

7.2.2 Equilibrio de Hardy-Weinberg

Las plántulas del bosque maduro presentaron un mayor número de loci en equilibrio Hardy-Weinberg (13 de 18 loci) y los adultos del bosque maduro y del bosque intermedio obtuvieron 7 y 6 respectivamente de 18 loci (Cuadro 4). La falta de equilibrio indica que las poblaciones están bajo algún factor de cambio genético derivado de condiciones ambientales y/o de la biología de la especie.

Cuadro 4. Análisis de Ji-Cuadrada para probar Equilibrio de Hardy-Weinberg en poblaciones de *Oreopanax xalapensis* que se desarrollan en diferentes condiciones sucesionales del Bosque Mesófilo de Montaña del Cerro Huitepec (Chiapas, México).

<i>Locus</i>	Bosque Maduro			Bosque Intermedio			Bosque Incipiente		
	Plántulas	Juveniles	Adultos	Plántulas	Juveniles	Adultos	Plántulas	Juveniles	Adultos
ALP-1	0.860 ^{NS}	4.618*	Fijo	0.800 ^{NS}	13.388***	2.161 ^{NS}	6.496*	5.138*	4.000*
ALP-2	N.O	N.O	0.851 ^{NS}	N.O	N.O	4.158*	N.O	N.O	0.899 ^{NS}
EST-1	1.852 ^{NS}	0.720 ^{NS}	0.389 ^{NS}	Fijo	2.031 ^{NS}	7.143**	Fijo	13.388***	0.313 ^{NS}
EST-2	5.076*	1.469 ^{NS}	20.000***	2.554 ^{NS}	N.O	7.000**	N.O	N.O	1.446 ^{NS}
FA	1.125 ^{NS}	10.268***	19.000***	Fijo	0.726 ^{NS}	0.737 ^{NS}	Fijo	4.637*	12.535***
IDH-1	7.009**	0.110 ^{NS}	Fijo	0.195 ^{NS}	0.008 ^{NS}	9.000**	0.900 ^{NS}	Fijo	2.000 ^{NS}
IDH-2	0.031 ^{NS}	10.811***	19.000***	Fijo	0.274 ^{NS}	18.000***	Fijo	0.302 ^{NS}	13.235***
G6PDH-1	1.901 ^{NS}	0.737 ^{NS}	N.O	6.8421**	14.000***	N.O	Fijo	13.000***	N.O
G6PDH-2	9.791**	0.737 ^{NS}	13.062***	0.6000 ^{NS}	0.326 ^{NS}	0.263 ^{NS}	2.000 ^{NS}	0.062 ^{NS}	2.466 ^{NS}
SOD	4.968*	1.686 ^{NS}	0.000 ^{NS}	1.9835 ^{NS}	0.851 ^{NS}	4.158*	15.390***	1.887 ^{NS}	0.000 ^{NS}
FUM	0.360 ^{NS}	0.360 ^{NS}	9.779**	20.000***	20.000***	1.779 ^{NS}	4.201*	20.000***	6.806**
G3PDH-1	3.645 ^{NS}	7.000**	N.O	N.O	Fijo	N.O	N.O	Fijo	N.O
G3PDH-2	1.610 ^{NS}	0.549 ^{NS}	0.292 ^{NS}	8.518**	1.604 ^{NS}	8.518**	0.392 ^{NS}	8.081**	0.013 ^{NS}
GPI-1	2.240 ^{NS}	5.760*	N.O	2.031 ^{NS}	11.520***	N.O	1.250 ^{NS}	4.047*	N.O
GPI-2	0.140 ^{NS}	0.969 ^{NS}	0.436 ^{NS}	4.997*	0.521 ^{NS}	4.356*	Fijo	4.047*	0.013 ^{NS}
GOT	3.267 ^{NS}	7.875**	0.800 ^{NS}	Fijo	4.637*	0.818 ^{NS}	1.606 ^{NS}	1.686 ^{NS}	0.013 ^{NS}
PGM-1	0.139 ^{NS}	Fijo	0.781 ^{NS}	0.746 ^{NS}	16.000***	1.552 ^{NS}	N.O	2.899 ^{NS}	1.125 ^{NS}
PGM-2	0.171 ^{NS}	1.351 ^{NS}	18.000***	N.O	0.000 ^{NS}	6.516*	N.O	Fijo	15.000***

NO, no se observó actividad; NS, no significativo; *, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$; ***, $P < 0.001$.

7.2.3 Polimorfismo y Heterocigosidad

El número promedio de alelos observados es mayor que el esperado en todas las poblaciones (Cuadro 5). El porcentaje de polimorfismo en el bosque incipiente e intermedio fue del 94% mientras que en el bosque maduro se observó 100% de polimorfismo (Cuadro 5). Por etapa de crecimiento el porcentaje de polimorfismo presentó valores en un intervalo más amplio, de 44.4% en plántulas del bosque incipiente a 94% en plántulas del bosque maduro (Cuadro 5).

La menor heterocigosidad observada se presentó en adultos del bosque maduro (0.242) y el mayor valor en los juveniles del bosque incipiente (0.478). En las tres condiciones sucesionales la población de adultos mostró la menor heterocigosidad observada. En el bosque intermedio e incipiente los juveniles presentaron la heterocigosidad observada más alta, mientras que en el bosque maduro lo fueron las plántulas. La heterocigosidad esperada (H_E) fue mayor a la observada en todas las etapas de crecimiento en el bosque maduro, pero en las otras condiciones no fue posible detectar un patrón claro. La heterocigosidad esperada varió de 0.253 (plántulas en bosque incipiente) a 0.464 (adultos en bosque intermedio).

Cuadro 5. Parámetros genéticos de *Oreopanax xalapensis* que se desarrollan en diferentes condiciones sucesionales del Bosque Mesófilo de Montaña en la Estación Biológica Cerro Huitepec, Chiapas.

Condición	Nivel de análisis	<i>N</i>	<i>n_a</i> (EE)	<i>n_e</i> (EE)	<i>H_o</i> (EE)	<i>H_E</i> (EE)	<i>P</i>	<i>F</i>
Madura	Plántulas	28	2.000 (0.000)	1.680 (0.310)	0.385 (0.245)	0.3969 (0.1390)	94.4	0.030
	Juveniles	31	1.941 (0.243)	1.571 (0.292)	0.325 (0.136)	0.3531 (0.1357)	88.9	0.079
	Adultos	34	1.867 (0.352)	1.688 (0.358)	0.242 (0.254)	0.3843 (0.1767)	72.2	0.370
	Total	84	2.000 (0.000)	1.823 (0.172)	0.346 (0.192)	0.4526 (0.0591)	100.0	0.236
Intermedia	Plántulas	35	1.733 (0.458)	1.557 (0.397)	0.316 (0.296)	0.3172 (0.2143)	61.1	0.004
	Juveniles	34	1.938 (0.250)	1.654 (0.311)	0.463 (0.313)	0.3821 (0.1475)	83.3	-0.212
	Adultos	31	2.000 (0.000)	1.834 (0.202)	0.283 (0.243)	0.4637 (0.0818)	83.3	0.389
	Total	85	1.945 (0.236)	1.858 (0.287)	0.341 (0.220)	0.4474 (0.1387)	94.4	0.239
Incipiente	Plántulas	34	1.615 (0.506)	1.436 (0.417)	0.297 (0.316)	0.2528 (0.2237)	44.4	-0.176
	Juveniles	34	1.813 (0.403)	1.643 (0.359)	0.478 (0.333)	0.3650 (0.1912)	72.2	-0.309
	Adultos	31	2.000 (0.000)	1.752 (0.252)	0.273 (0.197)	0.4421 (0.1181)	83.3	0.383
	Total	80	1.944 (0.236)	1.703 (0.324)	0.355 (0.199)	0.3908 (0.1554)	94.4	0.092
Huitepec	Total	250	2.00 (0.000)	1.896 (0.136)	0.353 (0.148)	0.4717 (0.0454)	100.0	0.252

Abreviaciones: **N**, número de alelos analizados; **n_a**, número de alelos promedio observado; **n_e**, número de alelos promedio efectivos; **P**, Polimorfismo; **H_o**, Heterocigosidad observada; **H_E**, Heterocigosidad esperada bajo equilibrio de Hardy-Weinberg; **F**, Coeficiente de endogamia $[(H_E - H_O)/H_E].EE$.

Se observaron valores negativos en el coeficiente de endogamia (*F*) de la población de plántulas (-0.176) y juveniles (-0.309) del bosque incipiente, y los juveniles (-0.212) del bosque intermedio (Cuadro 5). Este resultado indica un exceso de heterocigotos en estas poblaciones. Los adultos de las tres condiciones sucesionales presentaron los valores más altos del coeficiente de endogamia, con valores entre 0.370 y 0.389 (Cuadro 5), lo que sugiere una deficiencia de heterocigotos.

7.2.4 Estadísticos *F* de Wright

El estadístico F_{ST} , indicó un nivel de diferenciación genética significativo entre las etapas de crecimiento dentro de las tres condiciones sucesionales (Cuadro 6). La mayor diferenciación se observó en el bosque intermedio (0.239). La F_{ST} entre

condiciones sucesionales fue más baja que la obtenida por cada condición sucesional y significativamente diferente ($F_{ST} = 0.101$). El nivel de diferenciación entre 9 poblaciones (3 etapas de crecimiento x tres condiciones sucesionales) fue de 0.231, sugiere que el ~23% de la variación genética se explica por las diferencias entre poblaciones. El intervalo de valores de los F_{IT} va de 0.157 (bosque incipiente) hasta 0.328 (bosque maduro), con un promedio del Huitepec de 0.269 (con un intervalo de 0.118 a 0.488).

La estimación de flujo genético (Cuadro 6) indica que ocurre un flujo limitado entre las etapas de crecimiento del bosque intermedio ($Nm = 0.80$), no así dentro las condiciones sucesionales de bosque incipiente ($Nm = 1.0$) y bosque maduro ($Nm = 1.1$). Entre condiciones se estimó un flujo genético de 2.23; y para las nueve poblaciones (Huitepec) fue de 0.83. Teóricamente valores de $Nm \geq 1$, este movimiento de un individuo por generación, es suficiente para homogeneizar genéticamente dos poblaciones.

Cuadro 6. Estadísticos F de Wright obtenidos para poblaciones de *Oreopanax xalapensis* que habitan tres condiciones sucesionales del Bosque de la Estación Biológica Cerro Huitepec, y estimación de flujo genético (Nm). Se hizo una prueba de Ji-Cuadrada para probar que los promedios son distintos de cero.

Condición sucesional	Método	F_{IS}	F_{IT}	F_{ST}	Nm
Bosque Maduro ^a	Promedio	0.172 ^{NS}	0.328 ^{NS}	0.189*	1.07
	Jackknife (Media \pm Error Estándar)	0.171 \pm 0.120	0.330 \pm 0.114	0.190 \pm 0.045	
	Bootstrap (Intervalo de confianza al 95%)	-0.049 – 0.374	0.104 – 0.511	0.111 – 0.276	
Bosque Intermedio ^a	Promedio	0.041 ^{NS}	0.270 ^{NS}	0.239*	0.80
	Jackknife (Media \pm Error Estándar)	0.039 \pm 0.115	0.271 \pm 0.105	0.240 \pm 0.049	
	Bootstrap (Intervalo de confianza al 95%)	-0.164 – 0.258	0.068 – 0.462	0.142 – 0.328	
Bosque Incipiente ^a	Promedio	-0.053 ^{NS}	0.157 ^{NS}	0.200*	1.0
	Jackknife (Media \pm Error Estándar)	-0.055 \pm 0.087	0.157 \pm 0.084	0.201 \pm 0.058	
	Bootstrap (Intervalo de confianza al 95%)	-0.206 – 0.121	0.012 – 0.315	0.092 – 0.304	
Entre condiciones ^b	Promedio	0.191 ^{NS}	0.272 ^{NS}	0.101*	2.23
	Jackknife (Media \pm Error Estándar)	0.190 \pm 0.082	0.273 \pm 0.086	0.102 \pm 0.043	
	Bootstrap (Intervalo de confianza al 95%)	0.035 – 0.345	0.104 – 0.430	0.031 – 0.185	
Huitepec ^c	Promedio	0.050 ^{NS}	0.269 ^{NS}	0.231*	0.83
	Jackknife (Media \pm Error Estándar)	0.048 \pm 0.081	0.270 \pm 0.084	0.231 \pm 0.041	
	Bootstrap (Intervalo de confianza al 95%)	0.354 – 0.020	0.118 – 0.488	0.105 – 0.266	

NS, no significativo; *, $P < 0.0001$; ^a, el análisis considera tres poblaciones (plántulas, juveniles, y adultos); ^b, considera tres poblaciones (Bosque maduro, intermedio e incipiente); ^c, considera nueve poblaciones (tres fases de vida por tres condiciones sucesionales).

7.2.5 Agrupación con base a las distancias genéticas de Nei (1972)

El dendrograma (Fig. 8) muestra tres posibles grupos asociados a la etapa de crecimiento. El primer grupo está formado por los adultos de las tres condiciones sucesionales y los juveniles del bosque incipiente, estas poblaciones presentaron las mayores diferencias entre la heterocigosidad esperada y la observada. El segundo grupo presenta bajos niveles de endogamia con valores altos de polimorfismo constituido por los juveniles del bosque maduro e intermedio y las plántulas del maduro. El tercer grupo se forma por las plántulas del bosque intermedio e incipiente, estas poblaciones presentaron valores bajos de polimorfismo, endogamia y heterocigosidad esperada.

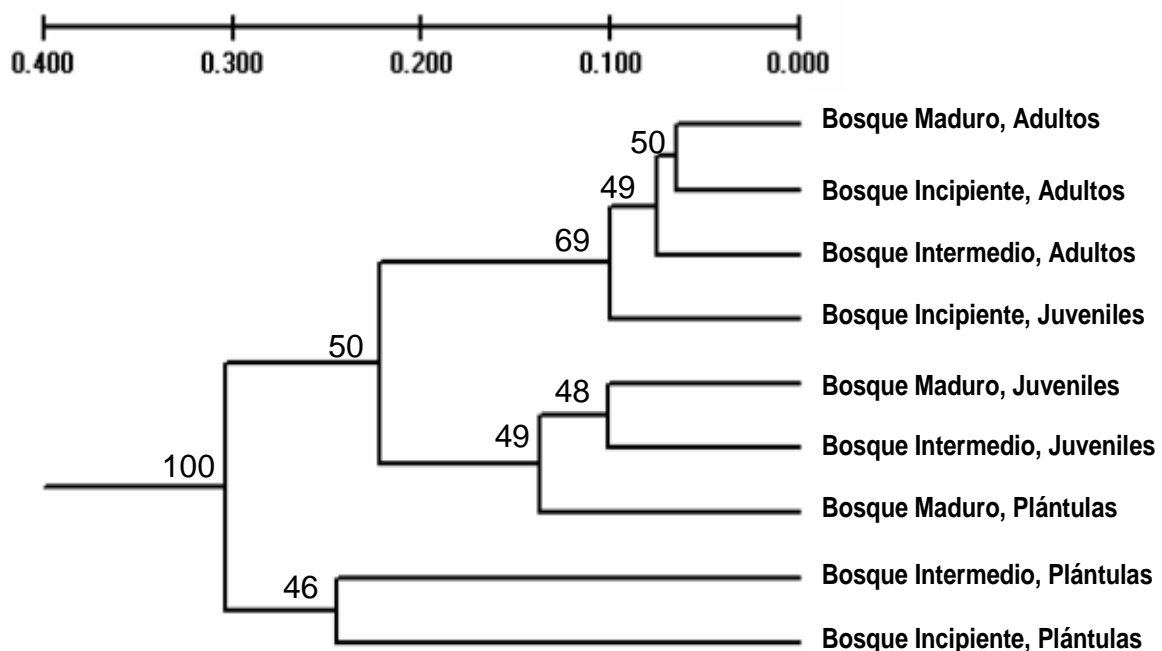


Figura 8. Análisis de agrupación con base a las distancias genéticas de Nei para poblaciones de *Oreopanax xalapensis* en diferentes etapas de crecimiento (plántula, juvenil y adulto), de tres condiciones sucesionales encontradas en la Estación Biológica Cerro Huitepec, Chiapas. Los números en cada nodo representan el valor de bootstrap en 1000 permutaciones.

8. DISCUSIÓN

8.1 Demografía

Se registró un mayor número de individuos de *O. xalapensis* en el bosque incipiente, de los cuales, las plántulas fueron las más frecuentes. Esto puede ser resultado de la mayor incidencia de luz en el bosque incipiente, la cual es favorable para la germinación de *O. xalapensis* (Meave et al. 1992; Olvera-Vargas, 2000; Ruiz-Ruvalcaba, 2004; Mejía-Domínguez, 2006). También puede ser el resultado de que en el bosque incipiente se observó con mayor frecuencia individuos jóvenes con estructuras reproductivas (Altura < 1m, DAP < 3 cm; observación personal), de tal forma que hay un mayor número de organismos aportando individuos a generaciones posteriores. Otra posible explicación es que la reproducción temprana puede ser una respuesta a las condiciones de estrés ambiental (Hutchinson, 1981) que se asocia al bosque incipiente, caracterizado por bajos niveles de luz ($4-12 \text{ mmol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{seg}^{-1}$; Quintana-Ascencio et al. 2004).

La disminución de individuos conforme avanza el crecimiento es un proceso común en los organismos (Hutchinson, 1981). La mayor tasa de mortalidad usualmente se observa en las etapas tempranas de crecimiento, luego desciende de manera regular con el tiempo (Hutchinson, 1981; Krebs, 1985). La muerte de las plantas puede ocurrir por diferentes factores físicos y bióticos. También intervienen factores genéticos especialmente la posible expresión de genes recesivos desfavorables (Hutchinson, 1981).

La sucesión ecológica secundaria implica un proceso continuo de establecimiento de unas especies y la salida de otras, hasta llegar a una condición de bosque maduro donde el remplazo de especies cesa, y sólo prevalece el

reemplazo de individuos viejos por jóvenes. En la condición incipiente de la sucesión la competencia puede ser de mayor magnitud y las condiciones microambientales altamente variables (Galindo-Jaimes, 2002), situación que para algunas especies, por ejemplo para *O. xalapensis*, pueden ser estresante. La respuesta de *O. xalapensis* puede ser que tiene una reproducción temprana e invierte el máximo de recurso en la reproducción, aun cuando otros atributos se vean comprometidos (por ejemplo el crecimiento, la resistencia y tolerancia a patógenos, entre otros). En condiciones intermedias los factores ambientales pueden ser más estables permitiendo el crecimiento y reproducción más tardía.

Experimento de transferencia recíproca

Estudios previos han registrado un desempeño diferencial de *O. xalapensis* de acuerdo al estado sucesional del bosque donde se desarrolla (Ramírez-Marcial et al. 2001; Quintana-Ascencio et al. 2004; Mejía-Domínguez, 2006). Sin embargo, el experimento no mostró diferencias en la sobrevivencia y crecimiento de *O. xalapensis* entre el origen y tipo de bosque receptor, e interacción, es posible que se requiera de un tamaño de muestra mayor y una escala temporal mayor. No obstante, la tendencia en crecimiento inicial de las plántulas sugiere que el bosque maduro favorece su crecimiento. Esto difiere con los resultados obtenidos en un estudio demográfico previo realizado con *O. xalapensis* y otras especies donde el mayor crecimiento se observó en el bosque intermedio después de 96 meses de evaluación (Quintana-Ascencio et al. 2004), lo cual no es comparable a lo obtenido en este estudio por las diferencias en cuento tiempo de observación y número de muestras evaluadas. La conservación del Bosque Mesófilo de Montaña a largo plazo sin duda dependerá del establecimiento de especies como *Oreopanax xalapensis*, cuyo

crecimiento es favorecido únicamente en estos ambientes (Meave et al. 1992; Quintana-Ascencio et al. 2004; Mejía-Domínguez, 2006).

8.2 Diversidad genética

Este es el primer estudio que describe la variación genética de *O. xalapensis*, cuya diversidad genética es notablemente alta. El polimorfismo fue total (100%) y la heterocigosidad fue tres veces más alta que la registrada para especies de coníferas y angiospermas (H_E , 0.15-0.16) (Manos y Fairbrothers, 1987; Mayes et al. 1998; Delgado et al. 1999; Ledig et al. 2001; Chung et al. 2002, Delgado y Piñero, 2008). Con base en el número de alelos la diversidad genética es comparable con la de *Quercus acutissima* (2.0; Chung et al. 2002) y *Pinus rzedowskii* (1.8; Delgado et al. 1999). La diversidad genética de *O. xalapensis* es significativa y esta asociada a las condiciones sucesionales y a las etapas de crecimiento.

O. xalapensis presenta un moderado grado de diferenciación genética en la EBCH con relación a las condiciones sucesionales, evidenciado por la distribución heterogénea de las frecuencias alélicas y por los valores de $F_{ST}=0.101$, este último se incrementa si se asume como población la condición sucesional y la fase de crecimiento ($F_{ST} = 0.231$). Lo cual contrasta notablemente con la estructura observada en otras especies cuyos valores de F_{ST} oscilan entre 0.063 y 0.119 (Delgado y Piñero, 2008). La diferenciación de las poblaciones de *O. xalapensis* en el EBCH está ocurriendo por procesos naturales asociados a la dinámica demográfica o poblacional y a los cambios ambientales derivados del proceso de sucesión natural. Este resultado sugiere que la diferenciación genética de las poblaciones de *O. xalapensis* puede ser un fenómeno natural pero que las actividades humanas podrían incrementar. El análisis de un mayor número de poblaciones, separadas por una distancia geográfica mayor y en áreas que están

bajo manejo podría indicar la magnitud del cambio genético derivado de factores antropogénicos.

Es posible que no todos los genotipos de *O. xalapensis* sean afectados por procesos de aislamiento o fragmentación de sus poblaciones. En condiciones de baja perturbación humana propias del bosque maduro, se esperaría encontrar a los genotipos más aptos para sobrevivir durante todo el proceso de sucesión, y para continuar en el bosque maduro. Este proceso tiene necesariamente un efecto en la estructura y diversidad genética de *O. xalapensis*, que asumiendo un proceso selectivo la diversidad genética sería menor en el bosque maduro y mayor en el incipiente y poblaciones claramente estructuradas. Sin embargo, aunque se observa una estructura con relación a las condiciones sucesionales ($F_{ST} = 0.101$) la diversidad (H_E) muestra una tendencia inversa, lo que sugiere que además de factores selectivos también está sometida a factores como la deriva génica y a los asociados a la biología de la especie. La presencia de factores de cambio genético en las poblaciones de *O. xalapensis* de cada condición sucesional se infieren también de la falta de Equilibrio de Hardy Weinberg en diferentes loci.

Las fuentes de variación genética para *O. xalapensis* serían en principio la forma de reproducción y del flujo genético (Hamrick et al. 1993). El flujo genético es otra fuente de diversidad, que puede ocurrir a través de la dispersión del polen o de semillas (Hamrick y Loveless, 1986; Hamrick y Nason, 1996; Delgado y Piñero, 2008). La dispersión de *O. xalapensis* ocurre principalmente por la remoción de semillas por aves y murciélagos (Ruiz-Ruvalcaba, 2004). La introducción de semillas al bosque maduro podría explicar porque tiene la mayor diversidad, ya que implica un aporte de genotipos nuevos. De hecho la estimación de flujo genético sugiere un movimiento importante de alelos entre las condiciones sucesionales. Por la

capacidad de movimiento de las aves y murciélagos también es posible que la EBCH sea receptor y al mismo tiempo donador de alelos para otras poblaciones de *O. xalapensis* al alcance de los organismos que la dispersan.

Al interior de cada condición sucesional la diversidad genética se estructura en función de las etapas de crecimiento. La etapa adulta en general es la que contiene la mayor diversidad, contrario a lo que se esperaba. Esta diversidad puede ser producto también del flujo genético entre las condiciones sucesionales y entre parches de bosques de Los Altos de Chiapas. Se esperaba que la diversidad de plántulas fuera mayor bajo el supuesto de que esta fase es el resultado de un apareamiento entre diferentes individuos, y que sólo hayan pasado por una presión selectiva precigótica. Conforme se avanza en el crecimiento sólo quedarán los individuos que logren sobrevivir a las presiones selectivas y de cambios aleatorios. Por cada evento selectivo, se elimina a los individuos menos adaptados, homogenizando y mejorando el funcionamiento de la población con el paso del tiempo (Eguiarte et al. 1999). Sin embargo, es interesante notar que hay un exceso de heterocigotos en las etapas tempranas de crecimiento en el bosque incipiente e intermedio. Lo cual indica que posiblemente estos individuos provienen de un entrecruzamiento entre individuos reproductivos, que habitan estas tres condiciones sucesionales (incipiente, intermedio y maduro), o del entrecruzamiento entre individuos de otras poblaciones que son introducidos por aves y murciélagos a la EBCH.

La agrupación entre etapas de crecimiento da interesantes indicios de que el ajuste de las poblaciones no sólo se da a nivel de las condiciones sucesionales sino también al ambiente que la EBCH representa. Esto sugiere que la diversidad

genética y su estructuración es el resultado de procesos selectivos y aleatorios que ocurren a nivel local y nivel regional.

9. Conclusiones

El bosque incipiente favorece un mayor reclutamiento de plántulas de *Oreopanax xalapensis*. En cuanto a la tasa de crecimiento y sobrevivencia se requiere de mayor tiempo para poder observar diferencias significativas entre las diferentes etapas sucesionales.

En variación genética *Oreopanax xalapensis* presenta una alta diversidad debido al flujo genético y la diferenciación genética de las poblaciones, la diversidad está asociada aleatoriamente con las condiciones sucesionales y las etapas de crecimiento.

Una posible intervención humana como la formación de barreras geográficas por el proceso de fragmentación en la EBCH, sin considerar la estructura genética de *O. xalapensis* reduciría la diversidad y aumentaría la diferenciación entre las poblaciones de dicha especie.

Es necesario hacer más estudios para determinar los factores que afectan la diversidad genética de *O. xalapensis* y las implicaciones en su manejo. Por lo cual se sugiere llevar este estudio a un nivel regional en donde las condiciones ambientales, demográficas, biológicas y genéticas de la especie sean tomadas en cuenta, así como el factor antropogénico en estos sitios.

10. LITERATURA CITADA

- Bermejo-Velázquez, B.** 2004. Análisis de la estructura genética en poblaciones de árboles forestales. Pp. 33- 42. En: Vargas Hernández, J., B. Bermejo-Velázquez y T. Ledig (Eds), Colegio de Postgraduados, México.
- Cayuela, L., D. Golicher, J.M. Rey-Benayas, M. González-Espinosa y N. Ramírez-Marcial.** 2006. Fragmentation, disturbance and tree diversity conservation in tropical montane forests. *Journal of Applied Ecology* 43: 1172-1181.
- Cheliak W. M., y J. A. Pitel.** 1984. Techniques for starch electrophoresis from forest trees. Information Report #PI-X-42. Petawa National Forest Reserve, Chalk River, Ontario: Institute of the Canadian Forest Service.
- Chung, M. T., J. Nason, M. G. Chung, K. J. Kim, C.W. Park, B. Y. Sun y J. H. Pak.** 2002. Landscape-level spatial genetic structure in *Quercus acutissima* (Fagaceae). *American Journal of Botany* 89: 1229-1236.
- Delgado, P., D. Piñero., A. Chaos, N. Pérez-Nasser y E. R. Alvarez- Buylla.** 1999. High population differentiation and genetic variation in the endangered Mexican pine *Pinus rezedowskii* (Pinaceae). *American Journal of Botany* 86: 669-676.
- Delgado, P. y D. Piñero.** 2008. Marcadores moleculares, diversidad genética y filogeografía en árboles forestales. Pp. 310-327. En: Sánchez-Velásquez, L. R., J. Galindo-González, F. Díaz-Fleischer (Eds), Ecología, manejo y conservación de los ecosistemas de montaña en México. Mundi Prensa, México.
- Donovan, M. T., H. R. Lamberson, A. Kimber, J. F. Thompson.** 1995. Modeling the effects on habitat fragmentation on source and sink demography of neotropical migrant birds. *Conservation Biology* 9: 1396 - 1407.

- Dooley, L. J.** y M. A. Bowers. 1998. Demographic responses to habitat fragmentation: experimental tests at the landscape and patch scale. *Ecology* 79: 969 - 980.
- Eguiarte, L. E.,** J. Larson-Guerra, J. Nuñez-Farfán, A. Martínez-Palacios, K. Santos del Prado y H. T. Arita. 1999. Diversidad filogenética y conservación: ejemplos a diferentes escalas y una propuesta a nivel poblacional para *Agave victoriae-reginae* en el desierto de Chihuahua, México. *Revista Chilena de Historia Natural* 72: 275-492.
- Ellstrand, N. C.** y D. R. Elam. 1993. Population genetic consequences of small population size: implications for plant conservation. *Annual Review Of Ecological Systems*, 24: 217 - 242.
- Foré, S. A.,** R. J. Hickey, J. L. Vankat, S. I. Guttman y R. L. Shaefer. 1992. Genetic structure after forest fragmentation: a landscape ecology perspective on *Acer saccharum*. *Canadian Journal of Botany*, 70: 1659 - 1668.
- Galindo-Jaimes, L.** 1999. Estructura y composición de rodales dominados por *Pinus* spp., en Los Altos de Chiapas, México. Tesis de Maestría. ECOSUR, San Cristóbal de las Casas, México. 37p.
- Galindo-Jaimes, L.,** M. González-Espinosa, P. Quintana-Ascencio y L. García-Barrios. 2002. Tree composition and structure in disturbed stands with varying dominance by *Pinus* spp. in the highlands of Chiapas, México. *Plant Ecology*, 162: 259 – 272.
- García, E.** 1988. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen. Instituto de Geografía, Universidad Nacional Autónoma de México. México, D. F. 217 p.

- González-Espinosa, M.**, P. F. Quintana-Ascencio, N. Ramírez-Marcial y P. Guzmán. 1991. Secondary succession in disturbed *Pinus-Quercus* forest in the highlands of Chiapas, México. *Journal Vegetation Science* 2: 351-360.
- González-Espinosa, M.**, S. Ochoa-Gaona, N. Ramírez-Marcial y P. F. Quintana-Ascencio. 1997. Contexto vegetacional y florístico de la agricultura. Pp. 85-117. En: Parra-Vázquez M. R., y B. M. Díaz-Hernández (Eds), Los Altos de Chiapas, agricultura y crisis rural. Tomo 1. ECOSUR, San Cristóbal, México.
- González-Espinosa, M.**, N. Ramírez-Marcial, G. Méndez-Dewar, L. Galindo-Jaimes y D. Golicher. 2005. Riqueza de especies de árboles en Chiapas: variación espacial y dimensiones ambientales asociadas al nivel regional. Pp. 81-126. En: González-Espinosa, M., N. Ramírez-Marcial, L. Ruiz-Montoya (Eds), Diversidad biológica en Chiapas. Plaza y Valdés, México.
- Hamilton, L. S.**, J. O. Juvik y F. N. Scatena. 1995. Tropical Montane Cloud Forests. Springer Verlag, Nueva York. 407 p.
- Hamrick, J. L.** y M. D. Loveless. 1986. The influence of seed dispersal mechanisms on the genetic structure of plant populations. Pp. 212-223. En: Estrada, A. y T. H. Fleming (Eds), Frugivores and seed dispersal. Dr. W. Junk Publishers, Dordrecht, The Netherlands.
- Hamrick, J. L.**, D. A. Murawski y J. D. Nason. 1993. The influence of seed dispersal mechanisms on the genetic structure of tropical tree populations. Pp. 281-297. En: Fleming T. H. y A. Estrada (Eds), Vegetation: Frugivory and seed dispersal: Ecological and evolutionary aspects. Kluwer Academic Publishers, Bélgica.
- Hamrick, J. L.** y J. D. Nason. 1996. Consequences of dispersal in plants. Pp. 203-236. En Rhodes, O. E., R. K. Chesson y M. H. Smith (Eds), Population dynamics in ecological space and time. The University of Chicago Press, Chicago.

- Hamrick, J. L.** y M. D. Loveless. 1986. Isozyme variation in tropical trees: procedures and preliminary results. *Biotropical* 18: 201 - 207.
- Hanski, I.** y O. Ovaskainen. 2000. The metapopulation capacity of a fragmented landscape. *Nature* 404: 755 - 758.
- Hartl, D. L.** y A. G. Clark. 1997. Principles of population genetics. 3ª edición, Sinauer, Canadá. 542 p.
- Hedrick, P. W.** y Millar P.S. 1992. Conservation genetics: Techniques and fundamentals. *Ecological Applications* 2: 30 - 46.
- Hedrick W. P.** 1997. Gene Flow and Populations Structure. Capítulo 7. Pp 265-300. En: Hedrick W. P. *Genetics of Populations*. 2ª edición, Jones and Bartlett Publishers, Sudbury, Massachusetts.
- Hedrick, P.W.** 2005. Genetic restoration: a more comprehensive perspective than genetic rescue. *Trends in Ecology and Evolution* 20 : 109.
- Herbert, D. N.** y M. J. Beaton. 1993. Methodologies for allozyme analysis using cellulose acetate electrophoresis. *Technical Manual of Cellulose Acetate Electrophoresis*. Helena Laboratories, EUA. 35 p.
- Hutchinson, G. E.** 1981. Introducción a la ecología de poblaciones. Blume, España. 492 p.
- Kappelle. M** y A. D. Brown. 2001. Bosques nublados del neotrópico. IMBio. Costa Rica. 704 p.
- Knapp, E. E.** 1998 . When do genetic considerations require special approaches to ecological restoration?. Pp. 346 – 363. En: Fiedler, P. L. y P. M. Kareiva. (Eds), *Conservation Biology*. 2ª edición, Champman y Hall, Nueva York.
- Krebs, C. J.** 1985. Ecology: The experimental analysis of distribution and abundance. 3ª. edición, Harper International. 800 p.

- Lande, R.** 1999. Extinction risks from anthropogenic, ecological and genetic factors. Pp. 1-21. En: Landwebwer, L. F. y A. P. Dobson (Eds), Genetics and extinction of species: DNA and the conservation biodiversity. Princeton University Press, Princeton.
- Ledig, F. T.,** M. A. Capó-Arteaga, P. D. Hodgskiss, H. Sbay, C. Flores-López, M. T. Conkle y B. Bermejo-Velázquez. 2001. Genetic diversity and the mating system of a rare mexican piñon, *Pinus pinceana*, and a comparison with *Pinus maximartinezii* (Pinaceae). American Journal of Botany 88: 1977-1987.
- López-González, G.** 2000. Caracterización fotosintética de cuatro especies del interior del bosque de encino en los Altos de Chiapas, México. Tesis de Maestría, ECOSUR, San Cristobal de las Casas, México. 37 p.
- Luna, I.,** A. Velázquez y E. Velázquez. 2001. México. Pp. 183-229. En: Kappelle, M. y A. D. Brown (Eds), Bosques nublados del neotrópico. INBio. Costa Rica.
- Manos, P. S.** y D. E. Fairbrothers. 1987. Allozyme variation in populations of six northeastern american Red Oaks (Fagaceae: Quercus subg. Erythrobalanus). Systematic Botany, 12(3): 365-373.
- Martínez-Ramos, M.** y E. Álvarez-Buylla. 1995. Ecología de poblaciones de plantas en una selva húmeda de México. Boletín de la Sociedad Botánica de México 56: 121-153.
- Mayes, S. G.,** M. A. McGinley y C. R. Werth. 1998. Clonal population structure and genetic variation in sand-shinnery oak, *Quercus havardii* (Fagaceae). Journal of Botany 85 (11): 1609-1617.
- Meave, J.,** M. A. Soto, L. M. Calvo-Irabien, H. Paz-Hernández y S. Valencia-Avalos. 1992. Análisis gincológico del bosque mesófilo de montaña de Omiltemi, Guerrero. Boletín de la Sociedad Botánica de México 52: 31-77.

- Menges, S. E.** 1991. The application of minimum viable population theory to plants.
En: Donald, A. F y E. K. Holsinger (Eds), Genetics and conservation of rare plants. Oxford, Nueva York.
- Menges, S. E.** y R. O. Gordon. 1996. Three levels of monitoring Intensity for rare plant species. Natural Areas Journal, 16: 227-237.
- Mejía-Domínguez, N. R.** 2006. Dinámica de la comunidad de árboles de un bosque mesófilo de montaña en la sierra madre del sur (Oaxaca), México. Tesis de Maestría. UNAM. 82 p.
- Miller, M. P.** 1997. TFPGA 1.3. Tools for population genetics analysis: A Windows program for the analysis of allozymes and molecular population genetic data. Northern Arizona University, USA.
- Montalvo, A. M.,** S. L. Williams, K. J. Rice, S. L. Buchman, C. Cory, S. N. Habhan, R. Primack y R. H. Robichaux. 1997. Restoration Biology: a population biology perspective. Restoration Ecology 5: 277-290.
- Nei, M.** 1972. Genetic distance between populations. The American Naturalist 106: 283-292.
- Ochoa-Gaona, S.** y M. González-Espinosa. 2000. Land use and deforestation in the highlands of Chiapas, México. Applied Geography 20: 17-42.
- Olvera-Vargas, M.** 2000. Inventario forestal en bosques dominados por encino: (*Quercus* spp. Fagaceae) en la Sierra de Manantlán, Jalisco-Colima, México: Descripción de los patrones de respuesta al medio físico y biológico. Universidad de Guadalajara. 68 p.
- Pennington, T. D.** y J. Sarukhán. 2005. Árboles tropicales de México. Manual para la identificación de las principales especies, 2ª edición. Fondo de Cultura Económica, México, D.F. 426 p.

- Quintana-Ascencio, P. F.** y M. González-Espinosa. 1993. Afinidad Fitogeografica y papel sucesional de la flora leñosa de los bosques de pino-encino de Los Altos de Chiapas, México. *Acta Botánica Mexicana*, 21: 43-57.
- Quintana-Ascencio, P. F.,** N. Ramírez-Marcial, M. González-Espinosa y M. Martínez-Icó. 2004. Sampling survival and growth of coniferous and broad leaved trees in successional highland habitats in Mexico. *Applied Vegetation Science* 7: 81-88.
- Ramírez-Marcial, N.,** S. Ochoa-Gaona, M. Gonzáles-Espinosa y P. Quintana-Ascencio. 1998. Análisis florístico y sucesional en la estación biológica Cerro Huitepec, Chiapas, México. *Acta Botánica Mexicana* 44: 59–85.
- Ramírez-Marcial, N.,** M. González-Espinosa y G. Williams-Linera. 2001. Anthropogenic disturbance and tree diversity in montane rain forest in Chiapas, México. *Ecology Management*, 154: 311-326.
- Ramírez-Marcial, N.,** A. Camacho-Cruz y M. González-Espinosa. 2003. Guía para la propagación de especies leñosas nativas de los Altos y montañas del Norte de Chiapas. Fray Bartolomé, San Cristóbal, México. 49 p.
- Ramírez-Marcial, N.,** A. Camacho-Cruz y M. González-Espinosa. 2005. Potencial florístico para la restauración de bosques en Los Altos y Montañas del Norte de Chiapas. Pp. 325–369. En González-Espinosa, M., N. Ramírez-Marcial, L. Ruiz-Montoya (Eds). *Diversidad biológica en Chiapas*. Plaza y Valdés, México.
- Romero-Nájera, I.** 2000. Estructura y condiciones microambientales en bosques perturbados de Los Altos de Chiapas, México. Tesis de Licenciatura. UNAM, México.
- Rosquist, C. y Prentice, H. C.** 2000. Habitat fragmentation and the structure of genetic diversity within disjunct isolate of *Anthericum racemosum* L.

- (Anthericaceae) in Scandinavia. *Biological Journal of the Linnean Society* 69: 193-212.
- Ruiz-Ruvalcaba, S. E.** 2004. Variación demográfica de *Oreopanax xalapensis* en comunidades sucesionales de los altos de Chiapas, México. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México, México. 91 p.
- Rzedowski, J.** 1981. Vegetación de México. Limusa. México. 432 p.
- Saunders, A. D., R. J. Hobbs y C. R. Margules.** 1991. Biological consequences of ecosystem fragmentation: a review. *Conservation Biology*, 5: 18-32.
- Slatkin M.** 1985. Gene flow in Natural Populations. *Ann Rev Ecol Syst*, 16:393-430
- Templeton, A. R., K. Shaw, E. Routman y S. K. Davis.** 1990. The genetic consequences of habitat fragmentation. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 77: 13–27.
- Viveros-Viveros, H., C. Sáenz-Romero, J. López-Upton y J. Jesús Vargas-Hernández.** 2005. Variación genética actitudinal en el crecimiento de plantas de *Pinus pseudostrobus* Lindl. en campo. *Agrociencia*, 39: 575-587.
- Weir, B. S. y C.C. Cockerham.** 1984. Estimating *F*-statistics for the analysis of population structure. *Evolution* 38: 1358-1370.
- Wilson, S. D. y D. Tilman.** 1991. Components of plant competition along an experimental gradient of nitrogen availability. *Ecology* 72: 1050-1065.
- White, G. M., D. H. Boshier y W. Powell.** 1999. Genetic variation within a fragmented population of *Swetenia humilis* Zucc. *Molecular Ecology* 8: 1899 - 1909.
- Wright, S.** 1951. The genetical structure of populations. *Ann. Eugenics*, 15: 97-159.
- Wright, S.** 1978. Evolution and the genetics of populations. Variability within and among natural populations. Universidad de Chicago, Chicago.

- Yeh, F. C.**, R-c Yang y T. Boyle. 1999. Popgene version 1.31, Microsoft windows-based freeware for population genetics analysis. quick user Guide. University of Alberta y Centre for International Forestry Reserch, <ftp://ftp.microsoft.com/Softlib/MSLFILES/HPGL.EXE>
- Yeh, F. H.** y D. M. O'Malley. 1980. Enzyme variation in natural populations of Douglas-Fir, *Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco from British Columbia. I. Genetics variation patterns in coastal populations. *Silvae Genetica.*, 29: 83-92.
- Young, A. G.** y G. M. Clarke (Eds). 2000. Genetics, demography and viability of fragmented populations. Cambridge University Press, Cambridge.
- Young, A. G.**, T. Boyle y T. Brown. 1996. The population genetic consequences of habitat fragmentation for plants. *Trends Ecology Evolution* 11: 413–419.

APÉNDICE 1

Método de extracción de proteínas para análisis de electroforesis de *Oreopanax xalapensis* en la Estación Biológica Cerro Huitepec

- **Buffer de extracción ABIES**

Solución 1

10. ml	solución Tris-ácido pH 7.0 (1.57 g Trizma, 0.83 g de ácido cítrico esta solución aforarla a 100 ml)
0.05 g	NADP
0.018 g	NAD
0.018 g	ácido ascórbico
0.034 g	EDTA
0.10 g	albúmina sérica
0.33 ml	3-Mercapto-etanol

Aforar a 100ml

Solución 2

0.31 g	ácido bórico
2 ml	tergitol
2 g	PEG 8000
7 g	PVP 360
0.58 g	ácido ascórbico
0.02 g	NAD
0.1 g	albúmina sérica
0.005 g	Pyridoxal 5' fosfato
27 g	sucrosa
0.19 g	cisteína HCl
0.66 ml	2-mercaptoetanol

Aforar con agua destilada a 100 ml con pH 7.1 con NaOH

El buffer de extracción ABIES (Yeh y O'Malley, 1980; Cheliak y Pitel, 1984) se prepara con las siguientes proporciones: 3 partes de la solución uno con una parte de la solución dos (3:1). Una vez preparado el buffer se debe mantener en frío. Las soluciones 1 y 2 deben mantenerse en el congelador.

APÉNDICE 2

Preparación de los sustratos y soluciones para la tinción de cada una de las enzimas

Todas las enzimas analizadas en este estudio se prepararon de acuerdo al protocolo del Herbert y Beaton (1993), Manual de Helena Laboratorios.

Recetas para los Buffer de electrodos

- **TG**

6.66 g Trizma base
32 g Glycine

Aforar a 2 litros con agua destilada
y ajustar a pH 7.0

- **CAAMP**

16.8 g ácido citrico (anhydrous)
20 ml N(3-aminopropil) morpholine

Aforar a 2 litros con agua destilada
y ajustar a pH 7 o 7.5 según el caso

Recetas para los Buffer de tinción

- **0.1 M Tris Maleate buffer pH 5.3**

1.2 g Trizma base
1.2 g maleic acid
2.4 ml 1M NaOH

Aforar a 100 ml con agua destilada

- **0.09 M Tris HCl pH 8.0**

1.11 g Trizma base
6.2 ml 1M HCl a 1 M

Aforar a 100 ml y ajustar pH 8.0

- **0.09M Tris HCl pH 7.0**

1.11 g Trizma base
8.75 ml 1M HCl

Aforar a 100 ml, ajustar a pH 7.0

- **0.20 M Tris HCl pH 9.0**

2.46 g Trizma base
3.0 ml 1M HCl

Aforar a 100 ml y ajustar pH 9.0

Recetas para revelar enzimas en *Oreopanax xalapensis*

- **Agar**

4.0 g agar bacterial
150 ml de agua
destilada

- **Solución de ATP**

0.25g ATP
5.0 g D-glucose
10.0 ml agua

- **Solución de ADP**

0.10 g ADP
3.15 g D-glucose
10.0 ml agua destilada

- **Alkaline Phosphatase (ALP)**

2ml α -Naphthyl acid phosphate solution
5 gotas $MgCl_2$
5 gotas Fast Blue BB solución saturada

α -Naphthyl acid phosphate solution
50 ml Tris HCl, pH 9.0
200 mg NaCl
100 mg polyvinylpyrrolidone
10 mg α -Naphthyl acid phosphate
(Mantener en refrigeración después de utilizarse)

- **Glucosa-6-Phosphate Dehydrogenase (G6PDH)**

1.0 ml Tris HCl, pH 8.0
1.5 ml NADP
1.5 ml D-Glucose-6-phosphate
10 gotas $MgCl_2$
10 gotas MTT
5 gotas PMS
2 ml agar

- **Phosphoglucomutase (PGM)**

1.0 ml Tris HCl, pH 8.0
1.5 ml NAD
5 gotas $MgCl_2$
5 gotas Glucosa-1-phosphate solution
5 gotas MTT
5 gotas PMS
40 μ l G6PDH
2 ml agar

Glucosa-1-Phosphate solution
250 mg glucose-1-phosphate, Grade III
250 mg glucosa-1-phosphate, Grade VI
5.0 ml agua destilada

- **Glucosa-6-Phosphate Isomerase (GPI)**

1.0 ml Tris HCl, pH 8.0
 1.5 ml NAD
 5 gotas Fructosa-6-phosphate
 5 gotas MTT
 5 gotas PMS
 10 μ l G6PDH
 2 ml agar

- **Superoxide Dismutase (SOD)**

1.0 ml Tris HCl pH 8.0
 7 gotas MTT
 7 gotas PMS
 2 ml agar

- **Aspartate Amino Transferase (ATT / GOT)**

3ml solución #1 para GOT
 10 gotas de Fast blue BB (solución saturada)
 2 ml agar

Solución 1

100 ml 0.1 M Sodium Phosphate, pH 7.0
 10 mg Pyridoxal-5-phosphate
 460 mg L-Aspartic acid
 260 mg de alfa-Ketoglutaric acid

Ajustar a pH=7.4

- **Glyceraldehyde-3-Phosphate Dehydrogenase (G3PDH)**

1.5 ml NAD
 1.0 ml D-Fructose-1,6-diphosphate solution
 5 gotas Na_2HPO_4
 5 gotas MTT
 5 gotas PMS
 2 ml agar

Fructose-1, 6-diphosphate solution
 25 mg fructose-1, 6-diphosphate
 12.5 μ l Aldolose
 1 ml agua destilada

Incubar a 37° C por una hora, posteriormente congelar en
 alícuotas de 1.0 ml

- **Carboxylesterase (EST)**

2.0 ml 0.1 M Tris maleate, pH = 5.3
800 μ l α -naphthyl acetate solution
10 gotas Fast Blue RR (solución saturada)
2.0 ml agar

α -naphthyl acetate solution
10 ml agua
10 ml acetona
0.1 g α -naphthyl acetate

- **Isocitrate Dehydrogenase (IDH)**

1.0 ml Tris HCl, pH 7.0
1.5 ml NADP
15 gotas DL-Isocitric acid
8 gotas MgCl_2
5 gotas MTT
5 gotas PMS
2 ml agar

- **Fumarate Hydratase (FUM)**

1.0 ml Tris HCl, pH 7.0
1.5 ml NAD
0.02 g Fumaric acid
5 gotas MTT
5 gotas PMS
50 μ l MDH
2.0 ml de agar

- **Fosfatasa ácida (FA)**

3.0 ml α -naphthyl acid phosphate solution
15 gotas MgCl_2
10 gotas Fast blue BB
2.0 agar
 α -Naphthyl acid phosphate solution
20 ml Tris HCl, pH 6.0
80 mg NaCl
10 mg α -Naphthyl acid phosphate
(Mantener en refrigeración después de utilizarse)

Editorial Manager(tm) for Ecological Research
Manuscript Draft

Manuscript Number:

Title: Genetic diversity and demographic variation of *Oreopanax xalapensis* (Araliaceae) in three successional stages of Mexican Montane Cloud Forest

Article Type: Original Article

Keywords: Demographic structure, Genetic conservation, Genetic structure, Fragmentation, Succession

Corresponding Author: Biologa Lorena Ruiz-Montoya, Dra

Corresponding Author's Institution: El Colegio de la Frontera Sur

First Author: Farah Z Vera-Maloof, MSc

Order of Authors: Farah Z Vera-Maloof, MSc; Lorena Ruiz-Montoya, Dr; Neptalí Ramírez-Marcial, Dr; Sergio López, Dr



San Cristóbal de Las Casas,
Chiapas, México, January 27th 2009

Masakado Kawata

Editor-in-Chief

Ecological Research

Graduate School of Life Sciences,
Tohoku University, Aoba 6-3,
Aramaki, Aoba-ku, Sendai 980-8578, Japan

Please find attached the pdf-manuscript **GENETIC DIVERSITY AND DEMOGRAPHIC VARIATION OF *OREOPANAX XALAPENSIS* (ARALIACEAE) IN THREE SUCCESSIONAL STAGES OF MEXICAN MONTANE CLOUD FOREST** that we are very pleased to submit for its evaluation and possible publication in *Ecological Research*. The content of this manuscript has not been published or submitted for publication elsewhere in any language. All authors contributed significantly, and we agree with the content of the manuscript.

We thank you in advance your attention and we look forward to hearing from you as soon as possible.

Sincerely

Lorena Ruiz-Montoya

EL COLEGIO DE LA FRONTERA SUR

UNIDAD SAN CRISTÓBAL

Carretera Panamericana y
Periférico Sur s/n C.P. 29290
Barrio de María Auxiliadora
San Cristóbal de Las Casas, Chiapas-Méx
Tel. (967) 674 9000 Fax: (967) 678 2322

UNIDAD TAPACHULA

Caar. Antiguo Aeropuerto km 2.5
C.P. 30700 A.P. 36
Tapachula, Chiapas-Méx
Tels. (962) 628 1103, 628 1104,
628 1077 Fax: (962) 628 1015

UNIDAD CHETUMAL

Carr. Chetumal-Bacalar km 2
Zona Industrial No 2 C.P. 77000
A.P. 424 Chetumal, Quintana Roo-Méx
Tels. (983) 832 1666, 832 0447,
Fax (983) 16 66 ext. 240

UNIDAD CAMPECHE

Calle 10x61 No 264
Colonia Centro C.P. 24000
Campeche, Campeche-México
Tel. (981) 816 4221
Fax: (981) 816 5978

UNIDAD VILLAHERMOSA

Carlos Pellicer Cámara
Col. José Ma. Pino Suárez C.P. 86029
A.P. 1042, Villahermosa, Tabasco-Méx.
Tel. (993) 51 5074
Fax. (993) 51 0893

Genetic diversity and demographic variation of *Oreopanax xalapensis* (Araliaceae) in three successional stages of Mexican Montane Cloud Forest

Farah Z. Vera-Maloof¹, Lorena Ruiz-Montoya¹, Neptali Ramirez-Marcial¹ and Sergio Lopez²

¹El Colegio de la Frontera Sur
Carretera Panamericana y Periferico Sur s/n, 29290
San Cristobal de Las Casas, Chiapas, Mexico.

²Adres actual Escuela de Ingeniería Topográfica,
Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas,
Libramiento Norte-Poniente s/n,
Col. Lajas Maciel, C.P. 29000
Tuxtla Gutierrez, Chiapas, Mexico

Corresponding author:

Lorena Ruiz-Montoya
El Colegio de la Frontera Sur
Carretera Panamericana y Periferico Sur s/n, 29290
San Cristobal de las Casas, Chiapas, Mexico.
Tel + 967 6749000 ext. 1316
Fax + 967 6749000 ext 1001
e-mail: lruiz@ecosur.mx

Abstract Genetic structure and demographic variation of *Oreopanax xalapensis* plants were studied in three successional conditions of Mountain Cloud Forest (MCF) at the Cerro Huitepec Biological Station in Chiapas Mexico. Eleven allozymes (18 loci) were used as genetic markers to obtain standard genetic parameters (allele frequency, percentage of polymorphism (P); observed heterozygosity (H_o) and expected by Hardy-Weinberg equilibrium (H_e), and Wright's F -Statistics) of seedling, saplings and adults per successional condition (early, mid- and late successional condition). Frequencies of seedlings, saplings, and adult plants were obtained in order to evaluate demographic variations of *O. xalapensis* in each successional condition. To estimate difference in survival and growth of *O. xalapensis* populations inhabiting early and late successional conditions, a reciprocal transplant experiment was carried out. High genetic diversity was significantly distributed along populations associated with MCF successional conditions ($0.30 < H < 0.45$). The adult population showed the highest inbreeding coefficient values ($0.370 < F < 0.38$). Significant differentiation was found among populations (seedlings, saplings, adults) within and among successional conditions ($0.101 > F_{ST} > 0.239$). In the early successional condition, the greatest number of seedlings, saplings, and adults was recorded, suggesting natural regeneration of *O. xalapensis*. The study did not detect significant differences in survival or height growth rates. Results suggest that genetic differentiation is mediated mainly by demographic dynamics but also by environmental change derived from the natural succession process, as well as by random events. This study serves as a baseline in order to estimate effects of anthropogenic fragmentation on genetic diversity of *O. xalapensis*.

Key terms: Demographic structure, Genetic conservation, Genetic structure,
Fragmentation, Succession

Introduction

The Montane Cloud Forest (MCF) is one of the most threatened forest ecosystems in the world (Kappelle and Brown 2001). Throughout the last few decades, a tendency toward reduction and fragmentation of MCF's has occurred as a consequence of the transformation of these ecosystems into agricultural areas and secondary communities associated with agriculture (Ochoa-Gaona and Gonzalez-Espinosa 2000; Kappelle and Brown 2001; Ramirez-Marcial et al. 2001). Deforestation favors recruitment, survival, and growth of some species, such as *Pinus* spp. (Ramirez-Marcial et al. 2001, Galindo-Jaimes et al. 2002; Garcia-Barrios and Gonzalez-Espinosa 2004). However, others, particularly understory species, may be severely affected to the degree that local populations and species are placed in danger of extinction (Gonzalez-Espinosa et al. 1997; Ramirez-Marcial et al. 1998, 2001; Camacho-Cruz et al. 2000). Forest conservation and recovery is crucial to maintaining multiple biological interactions as well as economic activities of social groups dependent on these natural areas (Kappelle and Brown 2001; Ramirez-Marcial et al. 2001, 2005).

The response of tree species to environmental change, whether due to natural or anthropogenic causes, may be considerable in terms of demographic (Martinez-Ramos et al. 1989; Ramirez-Marcial 2001, 2003 Kappelle and Brown 2001) and genetic characteristics (Vellend and Geber 2005; Pico and Quintana-Ascencio 2005). However,

there is a dearth knowledge regarding demographic dynamics. Even more scarce are studies regarding patterns of genetic diversity of species which define MCF, making it difficult to understand how genetic diversity may be upset by environmental changes brought about by human activity. To some extent, levels of a population's genetic diversity determine the probability of successful adaptation to changing local conditions (Rosquist and Prentice 2000). If diversity is low, the population's permanence is compromised (Young et al. 1996; Young and Clarke 2000; Volis et al. 2005).

As a result of forest use and fragmentation, probability of reproduction among related organisms in small populations increases, in turn increasing the degree of inbreeding and reducing survival, due to expression of deleterious alleles (Templeton et al. 1990; Young and Clarke 2000). Nevertheless, natural populations may have low levels of genetic diversity as a consequence of natural selection (Hedrick 2000), resulting in a population adapted to the habitat's prevailing environmental conditions.

Genetic studies of MCF tree species suggest that, generally, these populations have become genetically differentiated due to both geographical isolation and geological history of their areas of distribution (Newton et al. 1999, 2002). Genetic diversity of Mexican populations of *Pinus chiapensis*, *P. rezedowkii*, *Quercus* sp., and *Populus* sp ranges from 0.08 to 0.219 (H); and polymorphism is 29.7-46.8% (Weber and Stettler 1981; Manos and Fairbrother 1987; Delgado et al. 1999; Newton et al. 2002).

This study presents a description of the genetic structure of populations of seedlings, saplings, and adult *Oreopanax xalapensis* plants, as well as of variation in the number of individuals along a successional gradient of a MCF at the Cerro Huitepec Biological Station (CHBS) in Chiapas, Mexico. This MCF shows a successional development

gradient positively related to altitude and inversely related to anthropogenic activities prior to a 1986 act decreeing this area as a nature reserve (Ramirez-Marcial et al. 1998). We expected to find the least diversity in the mature forest and adult plant stages, presuming that selection would have favored those individuals with the greatest aptitude. We furthermore expected genetic and demographic differentiation to vary with successional conditions, presuming that each stage offers different environmental conditions (such as solar radiation, temperature, and relative humidity), and that local populations are maintained over generations. As a genetic marker, we used 18 enzymatic loci, revealed by the electrophoresis technique on cellulose acetate (Hebert and Beaton 1993). These loci show variability and reproducibility, and are selectively neutral, thus useful in inferring genetic structure of natural *O. xalapensis* populations. Frequencies of seedlings, saplings, and adults, as well as distribution of categories according to DBH, were used to estimate demographic variation. Also, survival and growth rates were evaluated using a reciprocal transplant experiment in order to evaluate *O. xalapensis* performance in extreme successional conditions (early and late successional conditions of MCF).

Materials and methods

Species description

Oreaopanax xalapensis belongs to the Araliaceae family, which is distributed in Neotropical regions worldwide. *O. xalapensis* is found from the Gulf of Mexico's drainage basin in Veracruz and the Huastecas to the north of Chiapas; and in the Pacific watershed from Jalisco to Chiapas, continuing on through Guatemala, Honduras, El Salvador, Nicaragua, Costa Rica, and Panama (Pennington and Sarukhan 2005).

This species is of Andean origin (Quintana-Ascencio and Gonzalez-Espinosa 1993; Luna et al. 2001), and is considered to be a member of the late successional condition of MCF (Quintana-Ascencio and Gonzalez-Espinosa 1993; Gonzalez-Espinosa et al. 1997; Galindo-Jaimes et al. 2002). It is a dominant understory species in MCF in Mexico (Meave et al. 1992; Quintana-Ascencio and Gonzalez-Espinosa 1993). It has been noted that seedling germination and growth is stimulated in forest gaps (Meave et al. 1992; Ruiz-Ruvalcaba 2004). Generally, the plant develops in moist areas protected from sunlight, and in its mature stage may reach 30 m in height and 1m DBH. The tree has a slightly scaly, rusty-grey bark (Ruiz-Ruvalcaba 2004). Flowering occurs during fall and winter (late November to early February), and fruiting in April and May. Fruit is dispersed by birds such as *Catharus ustulatus* and *Turdus rufitorques* (Ruiz-Ruvalcaba 2004).

Study area

The study was carried out within the Cerro Huitepec Biological Station (CHBS), a relatively small private reserve with fairly extensive forest cover (136 hectares) located on the east-northeast side of the Huitepec Mountain, with an altitude ranging from 2230 to 2710 masl. (Ramirez-Marcial et al. 1998). It is composed of a series of ridges with steep inclines (40-60%), and has a sub-humid climate with abundant summer rainfall. Mean annual temperature is 14 - 15°C, and mean annual precipitation approximately 1300mm (Ramirez-Marcial et al. 1998). The reserve is predominantly oak forest. In the highest areas and at the bottom of small ravines, floristic elements typical to cloudforests are found (Ramirez-Marcial et al. 1998).

This study considered three successional conditions of MCF: early, mid, and late

succession (Ramirez-Marcial et al. 1998). The early successional condition (ESC) is found in a lowland in the north and north-east areas of the CHBS. An abundance of *Quercus* spp. tree stumps indicates previous lumber extraction (Ramirez-Marcial et al. 2001). It is characterized by herbaceous layer with mostly perennial herb, vines and lianas, ferns and seedling of shrubs and tree species. Canopy is discontinuous, low in height (6-8 m), and dominated by oak (*Quercus* spp.) with diameters greater than 30 cm, most of which has resulted from re-sprouting.

The mid-successional condition (MSC) is located along a narrow band with an altitude of 2,330 to 2,460 masl on the eastern and part of the northern area of the CHBS. It is characterized by scattered adults (25-30 m in height), abundant seedlings and saplings (Ramirez-Marcial et al. 1998), and includes a sparse intermediate stratus (8-15 m in height), and a low stratus (4-7 m in height). The forest floor may be more heterogeneous and receive more directly light than ESC (Quintana-Asencio et al. 2004).

The late successional condition (LSC) covers the western and north-westernmost sector of the CHBS, and shows vegetation characteristic of a well preserved cloud forest. It is mainly composed of *Quercus laurina*, with a 30-35 m high canopy. The tallest trees have an assortment of epiphyte species, mainly bromeliads, orchids, ferns, moss, and lichens (Ramirez-Marcial et al. 1998).

Genetic analysis

Plant material collection

Four leaves were collected from each of 60 *O. xalapensis* trees in each successional condition (20 individuals each for seedling, sapling, and adult stages on April-May-2007).

A transect of variable longitude was drawn and every 5 m leaves of the closest plant were collected until 20 individuals were sampled from each growth stage. Leaves were preserved in liquid nitrogen until they could be analyzed via electrophoresis.

Electrophoresis

Cellulose acetate electrophoresis was used to obtain allozyme data for 20 plants per growth stage and successional condition following the Hebert and Beaton method (1993). Approximately 1cm² per leaf was macerated in a 0.5 ml buffer in order to extract enzymes. The extraction buffer was a 3:1 mixture of YO and VEG II buffers respectively (Yeh and O'Malley 1980, Cheliak and Pitel, 1984). The macerate obtained was then centrifuged at 13,000 rpm for 4 minutes to obtain the supernatant. Two buffers were used to separate enzymes, citrates (CAAMP), and trizma glycine (TG) (Hebert and Beaton 1993). Eighteen loci on 11 enzymes were revealed with the best resolution (Table 1). At all loci, a maximum of two alleles were obtained. Loci and alleles were designated according to protein mobility from origin to maximum distance of separation. Using allele frequencies of each enzymatic locus, a database was established and analyzed with the programs *Tools for Population Genetic Analysis* (TPFGA) (Miller 1997) and *GENEPOP* (Yeh et al. 1999) in order to obtain an estimate of genetic variation and differentiation for each growth stage (seedling, sapling, and adult) per successional condition. Descriptive and statistical analyses were carried out, considering all individuals under each successional condition.

Degree of genetic diversity was estimated by means of the ratio of loci polymorphics, average number of alleles observed (n_a) and expected (n_e) (Yeh et al. 1999), and observed (H_o) and expected heterozygosity (H_e) by Hardy-Weinberg Equilibrium

(HWE). A locus was considered to be polymorphic when the most common allele frequency was no more than 0.95. Observed heterozygosity was the ratio of heterozygotes observed. Expected heterozygosity is that which would result from the presumed HWE, meaning the ratio of heterozygotes expected when breeding is random. HWE was proved using Chi-square test (χ^2). To estimate reduction in heterozygosity due to inbreeding (inbreeding coefficient), was used $F=1-H_o/H_e$ (Hedrick 2000).

Genetic difference among populations was determined by comparing allele frequencies using a heterogeneity test:

$$\chi^2 = \frac{2NV(p)}{\overline{pq}}$$

for a locus with two alleles; where N is the total number of individuals studied; p and q are allele frequencies and $V(p)$ is weighted variance calculated as

$$V(p) = \sum \frac{N_j}{N} p_j - \bar{p}^2$$

N_j and p_j are sample size and frequency of the allele in question (Hedrick 2000). Genetic similarity among populations was evaluated by calculating the Nei genetic distance (Nei 1972), and population clusters were constructed using the genetic distance matrix according to the UPGMA method (Miller 1997).

The population structure was determined by calculating Wright's F -statistics. These coefficients make it possible to estimate: (1) degree of reduction in average whole populations ($F_{IT} = H_t - H_o/H_t$), thus an estimation of inbreeding; (2) reduction in a sub-population's heterozygosity ($F_{IS} = H_s - H_o/H_s$); and (3) estimation of grade of genetic differentiation over sub-populations ($F_{ST} = H_t - H_s/H_t$) (Miller 1997; Weir and Cockerham

1984). From F_{ST} , genetic flow (Nm) among sub-populations was indirectly estimated using:
 $Nm = \frac{1}{4} (1/F_{ST}) - 1$ (Hedrick 2000); where N is population size and m is the proportion of
immigrants with respect to N . Nm values below 1.0 denote low genetic flow, while values
equal to or greater than 1.0 indicate genetic flow sufficient to counteract genetic
differentiation produced by natural selection and genetic drift.

Demographic analysis

Distribution of categories by size

Thirty circular 6m diameter plots were set up around 30 reproductive individuals
from each successional condition (for a total surface of 84.9 m²). Diameter (DBH) of each
reproductive individual was measured. Distribution of classes based on DBH was
compared among successional conditions using the Kolmogorov-Smirnov test for two
samples.

Frequency of seedlings, saplings, and adults

All *O. xalapensis* individuals were recorded according to size categories or growth
stage: seedlings are individuals shorter than 50 cm; saplings have a height of 50 to 150 cm;
adults are taller than 150 cm. A chi-square test (χ^2) was used to compare frequencies of
these growth stages among successional conditions (Sokal and Rohlf 1995).

Survival and Growth

During May-2007 seeds were obtained from individual plants in the late and early

successional stages and germinated at the ECOSUR nursery. Only these two conditions were compared, as they are considered to be the extremes of the MCF successional gradient. Upon reaching 10 cm in height, seedlings were transplanted at the CHBS. Five 90 x 120cm plots were delineated in LSC and five in ESC. Each plot was made up of 10 seedlings from LSC and 10 from ESC, planted 30cm apart, for a total of 100 seedlings per successional condition (10 seedlings \times two origins (LSC and ESC) \times 5 plots). Minimum distance between each plot was 5 m, and maximum 10 m, depending on terrain conditions. To estimate growth rate, height was measured to the growth apex. After six months, the same data were used to estimate growth rate in height, as well as survival rate. Growth rate was calculated using the function $RG = -(\ln(T_2/T_1))/m$ (Willson and Tilman 1991), where T_1 is height at Time 1, T_2 is height at Time 2, and m is the number of months of the growth period (6 months, in this study). Significant differences were established by means of analysis of variance in which the factors were original successional condition, recipient successional condition, and their interaction; all were taken to be fixed factors. Survival rate of each plot was determined by recording the number of live plants and dead (or removed) plants of the labeled individuals. The survival percentage for each plot was transformed by the $\arcsinx^{1/2}$ equation, and subjected to an analysis of variance using the same design as that used for growth rate.

Results

Variation and genetic structure

Eleven allozymes were assayed, and 18 loci variables were obtained (Table 1).

Average number of alleles observed (n_a) is greater than expected (n_e) for all populations (Table 2). Percentage of polymorphism in early and mid-successional conditions was 94%, while 100% polymorphism was found in the late successional condition (Table 2). Percentage of polymorphism showed a broader range of values when also considering growth stage: from 44.4% (early succession seedlings) to 94% (late succession seedlings) (Table 2).

The lowest observed heterozygosity was found in LSC adults ($H_o=0.242$), while ESC saplings had the highest value (H_e 0.478). For all successional conditions, the adult population was the least heterozygous. In MSC and ESC, saplings had the highest heterozygosity rate, while in LSC, seedlings had the highest rate. Expected heterozygosity (H_e) varied from 0.253 (ESC seedlings) to 0.464 (MSC adults) (Table 2). H_e was greater than H_o for all growth stages in LSC. For the other successional stages, the pattern was not clear.

Negative values were found for the inbreeding coefficient (F) of ESC seedlings (-0.176) and saplings (-0.309), and for MSC saplings (-0.212) (Table 2). These results indicate an excess of heterozygotes in these populations. Adults from the three successional stages showed the highest values for the inbreeding coefficient, ranging from 0.370 to 0.389 (Table 2), suggesting a lack of heterozygotes.

Significant differences were found between frequencies of the most common allele (fast allele) for most of loci, within each or across successional stages (Table 3, Fig. 1 a-l). For ESC, the fast allele of the loci ALP-2, EST-1, FA, GPI-2 and PGM-2 appeared with the greatest frequency but diminished as successional stages advanced (Fig. 1 b, c, e, o, r). The frequency variation of the fast allele at loci G6PDH-2, GOT and PGM-1 showed no

correlation with successional stage (Fig. 1 i, p, q). Furthermore, no relationship between the allele frequency of loci IDH-1 and G6PDH-1 and successional condition was found (Fig. 1 f, h) although the least frequent of these loci was found in the intermediate forest. The allele frequency of locus G3PDH-1 was significantly lower in LSC than in the other successional stages (Fig. 1 l; Table 3).

The fast allele of ALP-2 was found only in adults (Fig. 1b). IDH-2 showed significant differences among growth stages in LSC and MSC (Table 3). The highest frequency of the fast allele was found for seedlings, and the lowest for adults (Fig. 1b). The fast allele frequency at the EST-1 and FA loci was high for MSC and ESC seedlings (Fig. c, e). Significant differences were found for EST-2 and G6PDH-1 frequencies at different growth stages in LSC, with seedlings showing the highest frequencies in this successional condition (Table 3, Fig. 1 d, i). The highest frequency of the IDH-1 fast allele was found in LSC adults (Fig. 1 h).

LSC seedlings had the greatest number of loci in the Hardy-Weinberg test (13 of 18 loci), while LSC and MSC adults had 7 and 6 loci, respectively (Table 4). This lack of equilibrium indicates that the populations are under the influence of some factor of genetic change related to environmental conditions or biology.

The fixation index, F_{IS} and F_{IT} , of Wright were positive with the exception of F_{IS} from the ESC ($F_{IS} = -0.053$). The F_{ST} statistic indicated a significant level of genetic differentiation within each successional condition (Table 5). The greatest differentiation was observed in the intermediate forest (0.239). F_{ST} among successional conditions was significantly different from zero ($F_{ST} = 0.101$; Table 5). Level of differentiation among nine populations (three growth stages \times three successional stages) was 0.231, suggesting that

approximately 23% of genetic variation may be explained by differences among populations. The value interval for F_{IT} ranged from 0.157 (ESC) to 0.328 (LSC), while the average for Huitepec was 0.269 (ranging from 0.118 to 0.488).

The estimate for gene flow indicates a limited flow among growth stages in MSC ($Nm = 0.80$; Table 5), but not within ESC ($Nm = 1.0$) and LSC ($Nm = 1.1$) (Table 5).

Among successional stages, a gene flow of 2.23 was estimated. For the nine populations, gene flow was 0.83. In theory, values of $Nm > 1$ indicate movement at least of one individual per generation, which is sufficient to genetically homogenize two populations (Hartl and Clark 1997).

The dendogram (Figure 2) shows three possible groups. The first is made up of four populations consisting of all adults and ESC saplings. The second group consists of LSC and MSC sapling, and LSC seedlings. These two populations showed the least polymorphism and the least expected heterozygosity. The last one group consists of MSC and ESC seedlings.

Demographic variation

DBH distribution of LSC was significantly different from that observed in ESC and MSC ($P < 0.001$) (Fig. 3), while no significant difference was found between the latter two ($P = 0.39$). Frequency of seedlings, saplings, and adults was significantly different among successional stages ($\chi^2_{gl. 4} = 97.8$, $P < 0.001$; Fig. 4). The greatest number of *O. xalapensis* individuals was found in ESC, where frequency of seedlings was notably higher than that of saplings or adults. Likewise, the greatest number of adult individuals was found in ESC.

In MSC and LSC, the adult stage was found with the greatest frequency (Fig. 4). Also, seedlings in LSC were noticeably lower in frequency than in the other successional conditions (Fig. 4).

Plant survival from the reciprocal transfer experiment showed an unexpected pattern. A higher survival rate was expected when the origin and recipient successional conditions were the same. Apparently, survival rate was greater when origin was not the same as destination, but ANOVA do not show significant differences for any factor (Fig. 5).

Growth rate was favored in LSC; growth was one time greatest for seedlings in this successional condition (Fig. 6). Seedlings in ESC grew least. Variance analysis detected marginally significant differences for the destination factor (Fig. 6).

Discussion

O. xalapensis showed a different demographic variation among successional conditions in CHBS. The greatest seedling recruitment occurred in ESC due to the greater level of available sunlight which favors *O. xalapensis* germination (Meave et al. 1992; Olvera-Vargas 2000; Ruiz-Ruvalcaba 2004; Mejia-Dominguez 2006). Additionally, we observed many young individuals (height < 1m, DBH < 3 cm) with reproductive structures, suggesting that, in ESC, more individuals contribute to the seedling population than in MSC or LSC.

A decline in numbers as growth progresses is common in organisms. The highest mortality rate is usually found in the early stages of growth, decreasing regularly over time (Hutchinson 1981; Krebs 1985). Accordingly, fewer saplings and adults than seedlings

were recorded in the three successional conditions. As may be expected in LSC, compared with the other successional conditions, a broader distribution DBH size groups was observed, indicating a long growth period for *O. xalapensis* (Ramirez Marcial et al. 2001); however recruitment of seedlings was notably lower.

Previous studies have recorded differential performance in *O. xalapensi*, depending on successional condition of the forest (Ramirez-Marcial et al. 2001; Quintana-Ascencio et al. 2004; Mejia-Dominguez 2006). The reciprocal transference experiment does not detect significant differences in *O. xalapensis* survival and growth in ESC and LSC. However, the trend in growth suggests that mature forest favors growth. This differs from results obtained in a demographic study of *O. xalapensis* where the greatest growth was observed in the intermediate forest (Quintana-Ascencio et al. 2004). It should be mentioned that the previous study recorded growth over an eight-year period, and during the first year no significant differences in growth rate were observed. Long-term conservation of *O. xalapensis* will depend on preservation of patches of MCF in different successional conditions, in which the LSC environment best favors this species (Meave et al. 1992; Quintana-Ascencio et al. 2004; Mejia-Dominguez 2006). However, ESC and MSC contribute to maintaining demographic variation, and likely genetic diversity as well.

This is the first study to describe genetic variation of *O. xalapensis*, but the most interesting factor is that genetic diversity in *O. xalapensis* at the CHBS is markedly high. Polymorphism was 100% and heterozygosity ranged from two to three times higher than that recorded for conifer and angiosperm species (H_e *O. xalapensis* = 0.252-0.464 vs. H_e , 0.15, 0.16) (Manos and Fairbrothers 1987; Mayes et al. 1998; Delgado et al. 1999; Ledig et al. 2001; Chung et al. 2002, Delgado and Piñero 2008). Based on the number of alleles,

genetic diversity is comparable to that of *Quercus acutissima* (2.0; Chung et al., 2002) and *Pinus rzedowkii* (1.8; Delgado et al. 1999).

Genetic diversity of *O. xalapensis* has a significant distribution across successional conditions and growth stages. *O. xalapensis* populations in CHBS exhibit genetic differentiation according to successional conditions and growth stages, as shown by the heterogeneous distribution of allele frequencies and by the values of F_{ST} (> 0.14). The latter increases if the population is assumed to be the successional condition ($F_{ST} = 0.231$). This contrasts with the structure found in other species such as *Abies* spp (Aguirre et al. 2000), *Acer saccharum* (Baucom et al. 2005) and *Pinus* spp (Delgado and Piñero 2008). Especially important is the fact that differentiation among populations of *O. xalapensis* at the CHBS occurs as a result of natural processes related to demographic variation and environmental change derived from ecological succession. Secondary ecological succession implies a continuous process of establishment of some species and the exit of others, until the mature stage where species replacement ceases, and only replacement of old organisms by young ones prevails. In ESC, inter- and intra-specific competition is high and micro-environmental conditions may be greatly variable (Galindo-Jaimes 2002), a situation which, for some species such as *O. xalapensis*, might be highly stressful. In MSC, environmental conditions may be more stable, allowing for growth and later reproduction (Gonzalez-Espinosa et al. 1991). Nonetheless, not all *O. xalapensis* genotypes will be favored. In LSC, those genotypes which survive throughout the entire successional process are, in principle, the most appropriate for continuing in the mature forest and will be observed. For each selective event, the least adapted individuals are eliminated, homogenizing the population and improving its functionality over time (Eguiarte et al.

1999). However, despite having observed a genetic structure with respect to successional conditions, diversity (H_e) does not show a clear trend. Thus, it is inferred that *O. xalapensis* populations are submitted to selective factors as well as to random events such as genetic drift. The presence of factors of genetic change in *O. xalapensis* populations at every successional stage is also inferred from the lack of Hardy-Weinberg Equilibrium at the various loci.

Genetic variation in *O. xalapensis* arises from the manner in which the species reproduces and from gene flow (Hamrick et al. 1993). *O. xalapensis*' mating system is unknown, although the inbreeding coefficient observed during different successional stages (F, Table 2) suggests some mating between related organisms. Gene flow is another source of diversity which may occur by means of dispersed pollen or seeds (Hamrick and Loveless 1986; Hamrick and Nason 1996; Jordano et al. 2007, Delgado and Piñero 2008). *O. xalapensis*'s seed dispersion is mediated by birds and bats (Ruiz-Ruvalcaba 2004). Introduction of seeds into each successional condition may explain the high diversity and genetic structure. Seed-mediated gene flow might involve a constant influx of new genotypes from different successional conditions, even from another forest. From a conservation standpoint, high levels of interpopulation differentiation indicate the challenge of preserving the many genetically distinct populations necessary for capturing genetic variation of *O. xalapensis* within a region with strong social pressure to economically exploit land (Ochoa-Gaona and Gonzalez-Espinosa 2000, Gonzalez-Espinosa et al. 2005).

Acknowledgements We thank Fanny Carely Alfaro Gonzalez, Arbey Eugenio Gomez Ruiz, Rodrigo Veronica, Manuel Giron Intzin, Alfonso Luna, and Miguel Ico for their

support in field and nursery work. This project was financed by FOMIX-CONACyT-Gobierno del Estado de Chiapas (Chis 2006-Co6-44064). Thanks to PRONATURA A.C. for access to the CHBS, and the Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) which provided a scholarship to FZVM.

References

- Aguirre-Planter E, Furnier GR, Eguiarte LE (2000) Low levels of genetic variation within and high levels of genetic differentiation among populations of species of *Abies* from southern Mexico and Guatemala. *Am J Bot* 87: 362-371
- Baucom RS, Estill JC, Cruzan MB (2005) The effect of deforestation on the genetic diversity and structure in *Acer saccharum* (Marsh): Evidence for the loss and restructuring of genetic variation in a natural system. *Conserv Genetic* 6: 39-50
- Camacho-Cruz A, Gonzalez-Espinosa M, Wolf JHD, De Jong BHJ (2000) Germination and survival of tree species in disturbed forests of the highlands of Chiapas, Mexico. *Can J Bot* 78: 1-10
- Cheliak WM, Pitel AJ (1984) Techniques for starch electrophoresis from forest trees. Information Report #PI-X-42. Petawa National Forest Reserve, Chalk River, Ontario: Institute of the Canadian Forest Service
- Chung MT, Nason J, Chung MG, Kim KJ, Park CW, Sun BY, Pak JH (2002) Landscape-level spatial genetic structure in *Quercus acutissima* (Fagaceae). *Am J Bot* 89: 1229-1236
- Delgado P, Piñero D (2008) Marcadores moleculares, diversidad genética y filogeografía en árboles forestales. In: Sanchez-Velasquez LR, Galindo-Gonzalez J, Diaz-

440 Fleischer F (eds) Ecología, manejo y conservación de los ecosistemas de montaña
 441 en México. Mundi-Prensa, Mexico. pp. 310-327
 442 Delgado P, Piñero D, Chaos A, Perez-Nasser N, Alvarez-Buylla ER (1999) High
 443 population differentiation and genetic variation in the endangered Mexican pine
 444 *Pinus rezedowskii* (Pinaceae). *Am J Bot* 86: 669-676
 445 Eguiarte LE, Larson-Guerra J, Nuñez-Farfan J, Martinez-Palacios A, Santos del Prado K,
 446 Arita HT (1999) Diversidad filogenética y conservación: ejemplos a diferentes
 447 escalas y una propuesta a nivel poblacional para *Agave victoriae-reginae* en el
 448 desierto de Chihuahua, México. *Revista Chilena de Historia Natural* 72: 275-492
 449 Galindo-Jaimes L, Gonzalez-Espinosa M, Quintana-Ascencio P, Garcia-Barrios L (2002)
 450 Tree composition and structure in disturbed stands with varying dominance by
 451 *Pinus* spp. in the highlands of Chiapas, Mexico. *Plant Ecology* 162: 259-272
 452 Garcia-Barrios L, Gonzalez-Espinosa M (2004) Change in oak to pine dominance in
 453 secondary forests may reduce shifting agriculture yields: experimental evidence
 454 from Chiapas, Mexico. *Agriculture, Ecosyst Environ* 102: 389-401
 455 Gonzalez-Espinosa M, Quintana-Ascencio PF, Ramirez-Marcial N, Gaytan-Guzman P
 456 (1991) Secondary succession in disturbed *Pinus-Quercus* forest in the highlands of
 457 Chiapas, Mexico. *J Veg Sci* 2: 351-360
 458 Gonzalez-Espinosa M, Ochoa-Gaona S, Ramirez-Marcial N, Quintana-Ascencio PF (1997)
 459 Contexto vegetacional y florístico de la agricultura. In: Parra-Vazquez MR, Diaz-
 460 Hernandez BM (eds) Los Altos de Chiapas, agricultura y crisis rural. Volume 1.
 461 Recursos naturales. ECOSUR, Chiapas, pp 85-117
 462 Hamrick JL, Murawski DA, Nason JD (1993) The influence of seed dispersal mechanisms

463 on the genetic structure of tropical tree populations. In: Fleming TH, Estrada A
 464 (eds) Vegetation: Frugivory and seed dispersal: Ecological and evolutionary
 465 aspects. Kluwer Academic Publishers, Belgium, pp 281-297
 466 Hamrick JL, Nason JD (1996) Consequences of dispersal in plants. In: Rhodes OE, Chesser
 467 RK, Smith MH (eds) Population dynamics in ecological space and time. The
 468 University of Chicago Press, Chicago, USA, pp 203-236
 469 Hamrick JL, Loveless MD (1986) The influence of seed dispersal mechanisms on the
 470 genetic structure of plant populations. In: Estrada A, Fleming TH (eds) Frugivores
 471 and seed dispersal. Dr. W. Junk Publishers, Dordrecht, The Netherlands, pp 212-223
 472 Hartl DL, Clark AG (1997) Principles of population genetics, 3th edn. Sinauer, Canada
 473 Hebert PDN, Beaton MJ, (1993) Methodologies for allozyme analysis using cellulose
 474 acetate electrophoresis. Technical Manual of Cellulose Acetate Electrophoresis.
 475 Helena Laboratories, USA
 476 Hedrick P (2000) Genetics of populations, 2nd edn. Jones and Bartlett Publishers Inc,
 477 Boston, USA
 478 Hutchinson GE (1981) Introducción a la ecología de poblaciones. Blume, Spain
 479 Jordano P, Garcia C, Godoy JA, Garcia-Castaño JL (2007) Differential contribution of
 480 frugivores to complex seed dispersal patterns. Proc Nat Ac Sci 104: 3278-3282
 481 Kappelle M, Brown AD (2001) Bosques nublados del neotrópico. INBio. Costa Rica.
 482 Krebs CJ (1985) Ecology: The experimental analysis of distribution and abundance, 3th
 483 edn. Harper International, New York
 484 Ledig FT, Capo-Arteaga MA, Hodgskiss PD, Sbay H, Flores-Lopez C, Conkle MT,
 485 Bermejo-Velazquez B (2001) Genetic diversity and the mating system of a rare

486 mexican piñon, *Pinus pinceana*, and a comparison with *Pinus maximartinezii*
 487 (Pinaceae). Am J Bot 88: 1977-1987
 488 Lopez-Gonzalez G (2000) Caracterización fotosintética de cuatro especies del interior del
 489 bosque de encino en los Altos de Chiapas, México. MSc Thesis. ECOSUR, San
 490 Cristobal de las Casas, Chiapas Mexico
 491 Luna I, Velazquez A, Velazquez E (2001) Los bosques mesófilos de Mexico. In: Kappelle
 492 M, Brown AD (eds) Bosques nublados del neotrópico. INBio, Costa Rica, pp 183-
 493 229
 494 Manos PS, Fairbrothers DE (1987) Allozyme variation in populations of six northeastern
 495 american red oaks (Fagaceae: *Quercus* subg. Erythrobalanus). Syst Bot 12: 365-373
 496 Martinez-Ramos M, Alvarez-Buylla E, Sarukhan J (1989) Tree demography and gap
 497 dynamics in a tropical rain forest. Ecology 70: 555-558
 498 Mayes SG, McGinley MA, Werth CR (1998) Clonal population structure and genetic
 499 variation in sand-shinnery oak, *Quercus havardii* (Fagaceae). J Bot 85: 1609-1617
 500 Meave J, Soto MA, Calvo-Irabien LM, Paz-Hernández H, Valencia-Avalos S (1992)
 501 Análisis sinecológico del bosque mesófilo de montaña de Omiltemi, Guerrero.
 502 Boletín de la Sociedad Botánica de México 52: 31-77
 503 Mejia-Dominguez NR (2006) Dinámica de la comunidad de árboles de un bosque mesófilo
 504 de montaña en la sierra madre del sur (Oaxaca), México. MSc Thesis. UNAM,
 505 México 82
 506 Miller MP (1997) TFPGA 1.3. Tools for population genetics analysis: A Windows program
 507 for the analysis of allozymes and molecular population genetic data. Northern
 508 Arizona University, USA.

509 Nei M (1972) Genetic distance between populations. Am. Nat., 106: 283-292.
 510 Newton AC, Allnutt TR, Gillies ACM, Lowe AJ, Ennos RA (1999) Molecular
 511 phylogeography, intraspecific variation and the conservation of tree species. Trends
 512 Ecol Evol 14:140-145
 513 Newton AC, Allnutt TR, Dvorak WS, Del Castillo RF, Ennos RA (2002) Patterns of
 514 genetic variation in *Pinus chiapensis*, a threatened mexican pine, detected by RAPD
 515 and mitochondrial DNA RFLP markers. Heredity 89: 191-198
 516 Ochoa-Gaona S, Gonzalez-Espinosa M. (2000) Land use and deforestation in the highlands
 517 of Chiapas, México. Appl Geography 20: 17-42.
 518 Olvera-Vargas M (2000) Inventario forestal en bosques dominados por encino: (*Quercus*
 519 spp. Fagaceae) en la Sierra de Manantlán, Jalisco-Colima, México: Descripción de
 520 los patrones de respuesta al medio físico y biológico. Universidad de Guadalajara.
 521 68 p.
 522 Pennington, TD, Sarukhan J (2005) Árboles tropicales de México. Manual para la
 523 identificación de las principales especies, 2nd edn. Fondo de Cultura Económica,
 524 Mexico, D.F. 426p
 525 Pico FX, Quintana-Ascencio PF (2005) Análisis de factores demográficos y genéticos para
 526 la conservación de poblaciones de plantas en un hábitat fragmentado. Asociación
 527 Española de Ecología Terrestre. Ecosistemas 14: 109-115. Available in
 528 <http://www.revistaecosistemas.net/pdfs/112.pdf>.
 529 Quintana-Ascencio PF, Gonzalez-Espinosa M (1993) Afinidad fitogeografica y papel
 530 sucesional de la flora leñosa de los bosques de pino-encino de Los Altos de Chiapas,
 531 México. Act Bot Mexicana 21: 43-57

- 532 Quintana-Ascencio PF, Ramirez-Marcial N, Gonzalez-Espinosa M, Martinez-Ico M (2004)
533 Sampling survival and growth of coniferous and broad leaved trees in successional
534 highland habitats in Mexico. *Appl Veg Sci* 7: 81-88
- 535 Ramirez-Marcial N (2001) Diversidad florística del bosque mesófilo en el norte de Chiapas
536 y su relación con México y Centro América. *Boletín de la Sociedad Botánica de*
537 *México* 69: 63-76
- 538 Ramirez-Marcial N (2003) Survival and growth of tree seedlings in anthropogenically
539 disturbed Mexican montane rain forests. *J Veg Sci* 14: 881-890
- 540 Ramirez-Marcial N, Camacho-Cruz A, Gonzalez-Espinosa M (2005) Potencial florístico
541 para la restauración de bosques en Los Altos y montañas del Norte de Chiapas. In:
542 Gonzalez-Espinosa M, Ramirez-Marcial N, Ruiz-Montoya L (eds) *Diversidad*
543 *biológica en Chiapas*. Plaza y Valdés, Mexico pp 325-369
- 544 Ramirez-Marcial N, Gonzalez-Espinosa M, Williams-Linera G (2001) Anthropogenic
545 disturbance and tree diversity in montane rain forest in Chiapas, México. *Ecology*
546 *Management* 154: 311-326
- 547 Ramirez-Marcial N, Ochoa-Gaona S, Gonzales-Espinosa M, Quintana-Ascencio P (1998)
548 Análisis florístico y sucesional en la estación biológica Cerro Huitepec, Chiapas,
549 México. *Act Bot Mexicana* 44: 59-85
- 550 Rosquist C, Prentice HC (2000) Habitat fragmentation and the structure of genetic diversity
551 within disjunct isolate of *Anthericum racemosum* L. (Anthericaceae). *Scandinavia*.
552 *Biol. J. Linn. Soc.* 69: 193 - 212
- 553 Ruiz-Ruvalcaba SE (2004) Variación demográfica de *Oreopanax xalapensis* en
554 comunidades sucesionales de Los Altos de Chiapas, México. Undergraduate Thesis,

555 UNAM, Mexico
 556 Sokal RR, Rohlf JF (1995) Biometrics 3th edn. Freeman and Company, New York
 557 Templeton AR, Shaw K, Routman E, Davis SK (1990) The genetic consequences of habitat
 558 fragmentation. *Ann Miss Bot Gar* 77: 13-27
 559 Vellend M, Geber MA (2005) Connections between species diversity and genetic diversity.
 560 *Ecol Lett* 8: 767-781
 561 Volis S, Bohrer G, Oostermeijer G, Tienderen PV (2005) Regional consequences of local
 562 population demography and genetics in relation to habitat management in *Gentiana*
 563 *pneumonanthe*. *Conserv Biol* 19: 357-367
 564 Weber JC, Stettler RF (1981) Isozyme variation among ten populations of *Populus*
 565 *trichocarpa* Torr. et Gray in the Pacific Northwest. *Silv Genet* 30: 82-87
 566 Weir BS, Cockerham CC (1984) Estimating F-statistics for the analysis of population
 567 structure. *Evolution* 38:1358-1370
 568 Wilson SD, Tilman D (1991) Components of plant competition along an experimental
 569 gradient of nitrogen availability. *Ecology* 72: 1050-1065
 570 Yeh FH, O'Malley DM (1980) Enzyme variation in natural populations of Douglas-Fir,
 571 *Pseutsuga menziesii* (Mirb) Franco from British Columbia. I. Genetics variation
 572 patterns in coastal populations. *Silv Genet* 29: 83-92
 573 Yeh FC, Yang R-c, Boyle T. (1999) Popgene version 1.31, Microsoft window-based
 574 freeware for population genetics analysis. Quick user Guide. University of Alberta
 575 and Centre for Internatinal Forestry Research,
 576 <http://ftp.microsoft.com/Softlib/MSLFILES/HPGL.EXE>.
 577 Young AG, Clarke GM (2000) Genetics, demography and viability of fragmented

578 populations. Cambridge University Press, Cambridge

579 Young AG, Boyle T, Brown T (1996) The population genetic consequences of habitat

580 fragmentation for plants. Trends Ecol Evol 11: 413 – 419.

581

582

583

584

585

586

587

588

589

590

591

592

Figure 1. Allele frequency of enzymatic loci in *Oreopanax xalapensis* populations inhabiting different successional conditions of Montane Cloud Forest at Cerro Huitepec Biological Station.(Chiapas, Mexico). ESC, early successional condition. MSC, mid-successional condition; LSC, late successional condition

Figure 2. According to a genetic distance matrix (Nei 1972), cluster of *Oreopanax xalapensis* populations, inhabiting different successional conditions and at different growth stages at Cerro Huitepec Biological Station (Chiapas, Mexico). ESC, early successional condition. MSC, mid-successional condition; LSC, late successional condition

Figure 3. Class size distribution of *Oreopanax xalapensis*, inhabiting different successional conditions at Cerro Huitepec Biological Station (Chiapas, Mexico).

Figure 4. Number of *Oreopanax xalapensis* individuals per growth stages inhabiting different successional conditions at Cerro Huitepec Biological Station (Chiapas, Mexico). ESC, early successional condition. MSC, mid-successional condition; LSC, late successional condition

Figure 5. According to a reciprocal transplant experiment, survival of *Oreopanax xalapensis* between early (ESC) and late successional condition (LSC) at Cerro Huitepec Biological Station (Chiapas, Mexico). Lines over bars indicate standard error

Figure 6. According to a reciprocal transplant experiment, *Oreopanax xalapensis* growth rate between early and late successional conditions at Cerro Huitepec Biological Station (Chiapas, Mexico). Lines over bars indicate standard error

Table 1. Allozyme loci revealed in populations of *Oreopanax xalapensis*. The running and revealed buffer are provided by Hebert and Beaton (1993). Alloenzyme were separated to 45 Volts, 20 mA for 100 minutes.

Enzyme (Abreviation)	Buffer	Loci
Alkaline Phosphatase (ALP)	CAAMP	2
Carboxylesterase (EST)	CAAMP	2
Superoxide dismutase (SOD)	CAAMP	1
Acid Phosphatase (FA)	CAAMP	1
Fumarate hydratase (FUM)	CAAMP	1
Glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PDH)	CAAMP	2
Isocitrate dehydrogenase (IDH)	CAAMP	2
Glutamate oxaloacete transaminase (GOT)	TG	1
Glyceraldehyde-3-phosphate (G3PDH)	TG	2
Glucose-6-phosphate isomerase (GPI)	TG	2
Phosphoglucomutase (PGM)	TG	2

Table 2. Genetic diversity of *Oreopanax xalapensis* populations inhabiting CHBS in different forest successional conditions at Chiapas, Mexico. *N*, number of individuals analyzed; *n_a*, number of alleles observed; *n_e*, number of alleles expected; *H_o*, heterozygosity observed; *H_e*, heterozygosity expected by Hardy Weingberg equilibrium; SE standard error; *P* = percentage of polymorphic loci; *F*, coefficient of inbreeding [$F=(H_e-H_o)/H_e$]; ESC, early successional condition; MSC, mid -successional condition; LSC, Late successional condition

Successional condition	Level of Analysis	<i>N</i>	<i>n_a</i> (SE)	<i>n_e</i> (SE)	<i>H_o</i> (SE)	<i>H_e</i> (SE)	<i>P</i>	<i>F</i>
ESC	Seedlings	17	1.615 (0.506)	1.436 (0.417)	0.297 (0.316)	0.2528 (0.2237)	44.4	-0.176
	Saplings	17	1.813 (0.403)	1.643 (0.359)	0.478 (0.333)	0.3650 (0.1912)	72.2	-0.309
	Adults	16	2.000 (0.000)	1.752 (0.252)	0.273 (0.197)	0.4421 (0.1181)	83.3	0.383
	Total	50	1.944 (0.236)	1.703 (0.324)	0.355 (0.199)	0.3908 (0.1554)	94.4	0.092
MSC	Seedlings	18	1.733 (0.458)	1.557 (0.397)	0.316 (0.296)	0.3172 (0.2143)	61.1	0.004
	Saplings	17	1.938 (0.250)	1.654 (0.311)	0.463 (0.313)	0.3821 (0.1475)	83.3	-0.212
	Adults	16	2.000 (0.000)	1.834 (0.202)	0.283 (0.243)	0.4637 (0.0818)	83.3	0.389
	Total	51	1.945 (0.236)	1.858 (0.287)	0.341 (0.220)	0.4474 (0.1387)	94.4	0.239
LSC	Seedlings	14	2.000 (0.000)	1.680 (0.310)	0.385 (0.245)	0.3969 (0.1390)	94.4	0.030
	Saplings	16	1.941 (0.243)	1.571 (0.292)	0.325 (0.136)	0.3531 (0.1357)	88.9	0.079
	Adults	17	1.867 (0.352)	1.688 (0.358)	0.242 (0.254)	0.3843 (0.1767)	72.2	0.370
	Total	47	2.000 (0.000)	1.823 (0.172)	0.346 (0.192)	0.4526 (0.0591)	100.0	0.236
Total population		14	2.00 (0.000)	1.896 (0.136)	0.353 (0.148)	0.4717 (0.0454)	100.0	0.252
		8						

Table 3. Values of χ^2 to test heterogeneity of allelic frequency of enzyme loci for *Oreopanax xalapensis* populations across growth stages within each successional condition and across successional conditions at Cerro Huitepec Biological Station. ESC, early successional condition. MSC, mid -successional condition; LSC, late successional condition

Loci	ESC	MSC	LSC	Across successional conditions	All populations ^a
ALP-1	8.460*	7.633*	24.242***	4.873 ^{NS}	40.869****
ALP-2	0.000 ^{NS}	0.000 ^{NS}	0.000 ^{NS}	14.191***	14.191 ^{NS}
EST-1	33.911****	26.485****	5.849 ^{NS}	7.323*	83.843****
EST-2	0.000 ^{NS}	1.481 ^{NS}	8.626*	3.651 ^{NS}	13.340 ^{NS}
FA	40.085****	44.709****	12.116*	9.067*	97.948****
IDH-1	20.831****	6.985*	16.355***	16.352***	54.788****
IDH-2	5.616 ^{NS}	31.206****	11.698**	2.058 ^{NS}	48.264****
G6PDH-1	2.393 ^{NS}	0.058 ^{NS}	8.278*	26.265****	77.073****
G6PDH-2	17.731***	28.964****	21.194****	6.220*	68.059****
SOD	0.259 ^{NS}	8.604*	6.785*	1.050 ^{NS}	20.010*
FUM	1.086 ^{NS}	0.067 ^{NS}	10.407**	4.174 ^{NS}	20.188**
G3PDH-1	0.000 ^{NS}	0.000 ^{NS}	3.348 ^{NS}	26.696****	32.065****
G3PDH-2	7.222*	3.383 ^{NS}	3.615 ^{NS}	2.637 ^{NS}	15.883*
GPI-1	1.370 ^{NS}	3.238 ^{NS}	0.536 ^{NS}	4.687 ^{NS}	20.164**
GPI-2	49.605****	12.078**	5.604 ^{NS}	87.674****	104.818****
GOT	2.413 ^{NS}	49.091****	0.409 ^{NS}	33.671****	66.283****
PGM-1	5.217 ^{NS}	15.989***	17.173***	8.470*	40.924****
PGM-2	2.475 ^{NS}	17.954***	46.828****	61.822****	125.234****

^a, considering nine populations (three successional conditions \times three growth stages). *, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$; ***, $P < 0.001$; ****, $P < 0.0001$; NS, Not significant

Table 4. Hardy-Weinberg Equilibrium test for enzyme loci in *Oreopanax xalapensis* populations inhabiting different successional conditions of Montane Cloud Forest in the Cerro Huitpec Biological Station in Chiapas, Mexico. ESC, early successional condition. MSC, mid-successional condition; LSC, late successional condition

Locus	ESC			MSC				LSC				All populations ^a	
	Seedlings	Saplings	Adults	ESC	Seedlings	Saplings	Adults	MSC	Seedlings	Saplings	Adults	LSC	
ALP-1	6.50*	5.138*	4.00*	1.00 ^{NS}	0.80 ^{NS}	13.39***	2.16 ^{NS}	4.022*	0.86 ^{NS}	4.62*	Fixed	1283***	1.23 ^{NS}
ALP-2	NO	NO	0.97 ^{NS}	0.97 ^{NS}	NO	N.O	4.16*	4.16*	NO	NO	0.85 ^{NS}	0.85 ^{NS}	1.60 ^{NS}
EST-1	Fixed	13.38***	0.31 ^{NS}	0.06 ^{NS}	Fixed	2.03 ^{NS}	7.14**	0.18 ^{NS}	1.85 ^{NS}	0.720 ^{NS}	0.39 ^{NS}	2.05 ^{NS}	1.55 ^{NS}
EST-2	NO	NO	1.45 ^{NS}	1.45 ^{NS}	2.55 ^{NS}	N.O	7.00**	7.23**	5.08*	1.47 ^{NS}	20.00***	2.04 ^{NS}	9.36**
FA	Fixed	4.64*	12.54***	12.50***	Fixed	0.73 ^{NS}	0.74 ^{NS}	8.79**	1.13 ^{NS}	10.27***	19.00***	26.71***	45.58***
IDH-1	0.90 ^{NS}	Fixed	2.00 ^{NS}	1.45 ^{NS}	0.19 ^{NS}	0.01 ^{NS}	9.00**	2.38 ^{NS}	7.01**	0.11 ^{NS}	Fixed	14.14***	16.34**
IDH-2	Fixed	0.30 ^{NS}	13.24***	7.84**	Fixed	0.27 ^{NS}	18.00***	26.87***	0.03 ^{NS}	10.81***	19.00***	34.37***	65.51***
G6PDH-1	Fixed	13.00***	NO	20.00***	6.84**	14.00***	NO	18.98***	1.90 ^{NS}	0.74 ^{NS}	NO	2.14 ^{NS}	39.69***
G6PDH-2	2.00 ^{NS}	0.06 ^{NS}	2.45 ^{NS}	2.31 ^{NS}	0.60 ^{NS}	0.33 ^{NS}	0.26 ^{NS}	1.40 ^{NS}	9.79**	0.74 ^{NS}	13.062***	21.00***	16.86***
SOD	15.39***	1.89 ^{NS}	0.00 ^{NS}	2.77 ^{NS}	1.98 ^{NS}	0.85 ^{NS}	4.16*	0.47 ^{NS}	4.97*	1.67 ^{NS}	0.001 ^{NS}	2.03 ^{NS}	1.40 ^{NS}
FUM	4.20*	20.00***	6.81**	5.03*	20.00***	20.00***	1.78 ^{NS}	19.30***	0.36 ^{NS}	0.36 ^{NS}	9.779**	10.43**	4.65*
G3PDH-1	NO	Fixed	NO	Fixed	NO	Fixed	NO	Fixed	3.64 ^{NS}	7.00**	NO	0.24 ^{NS}	6.95**
G3PDH-2	0.39 ^{NS}	8.08**	0.01 ^{NS}	2.83 ^{NS}	8.52**	1.60 ^{NS}	8.52**	19.8***	1.61 ^{NS}	0.55 ^{NS}	0.29 ^{NS}	0.10 ^{NS}	2.98 ^{NS}
GPI-1	1.25 ^{NS}	4.05*	NO	4.64*	2.03 ^{NS}	11.52***	NO	9.13**	2.24 ^{NS}	5.76*	NO	7.5**	12.69***
GPI-2	Fixed	4.05*	0.01 ^{NS}	5.32*	5.00*	0.52 ^{NS}	4.36*	10.48**	0.14 ^{NS}	0.97 ^{NS}	0.44 ^{NS}	0.68 ^{NS}	19.35***
GOT	1.61 ^{NS}	1.69 ^{NS}	0.01 ^{NS}	0.15 ^{NS}	Fixed	4.64*	0.82 ^{NS}	6.40*	3.27 ^{NS}	7.88**	0.80 ^{NS}	9.10**	0.40 ^{NS}
PGM-1	NO	2.9 ^{NS}	1.13 ^{NS}	1.46 ^{NS}	0.75 ^{NS}	16.00***	1.55 ^{NS}	8.11**	0.14 ^{NS}	Fixed	0.78 ^{NS}	1.05 ^{NS}	3.67 ^{NS}
PGM-2	NO	Fixed	15.00***	33.0***	NO	0.01 ^{NS}	6.52*	8.03**	0.17 ^{NS}	1.351 ^{NS}	18.00***	16.77***	53.39***

^a, considering nine populations (three successional conditions × three growth stages); *, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$; ***, $P < 0.001$; NS, not significant; NO, not activity observed

Table 5. Wright's F -statistics for *Oreopanax xalpensis* populations inhabiting different successional conditions of Montane Cloud Forest at Cerro Huitepec Biological Station. Nm , genetic flor; SE, Standar error

Successional condition	Method	F_{IS}	F_{IT}	F_{ST}	Nm
Late ^a	Average	0.172 ^{NS}	0.328 ^{NS}	0.189*	1.07
	Jackknife: Average (SE)	0.171 (0.120)	0.330(0.114)	0.190 (0.045)	
	Bootstrap (95% Confidence Interval)	-0.049 – 0.374	0.104 – 0.511	0.111 – 0.276	
Mid ^a	Average	0.041 ^{NS}	0.270 ^{NS}	0.239*	0.80
	Jackknife: Average (SE)	0.039± 0.115	0.271± 0.105	0.240 ±0.049	
	Bootstrap (95% Confidence Interval)	-0.164 – 0.258	0.068 – 0.462	0.142 – 0.328	
Early ^a	Average	-0.053 ^{NS}	0.157 ^{NS}	0.200*	1.0
	Jackknife: Average (SE)	-0.055 ± 0.087	0.157 ± 0.084	0.201 ± 0.058	
	Bootstrap (95% Confidence Interval)	-0.206 – 0.121	0.012 – 0.315	0.092 – 0.304	
Across successional conditions ^b	Average	0.191 ^{NS}	0.272 ^{NS}	0.101*	2.23
	Jackknife: Average (SE)	0.190 ± 0.082	0.273 ± 0.086	0.102 ± 0.043	
	Bootstrap (95% Confidence Interval)	0.035 – 0.345	0.104 – 0.430	0.031 – 0.185	
All populations ^c	Average	0.050 ^{NS}	0.269 ^{NS}	0.231*	0.83
	Jackknife: Average (standard error)	0.048 ± 0.081	0.270 ± 0.084	0.231 ± 0.041	
	Bootstrap (95% Confidence Interval)	0.354 – 0.020	0.118 – 0.488	0.105 – 0.266	

NS, not significant; *, $P < 0.0001$; ^a, considering three populations (seedlings, saplings, adults); ^b, considering three populations (Late, Mid- and Early successional conditions); ^c, considering nine populations (three successional conditions × three growth stages).

Figure 1
[Click here to download high resolution image](#)

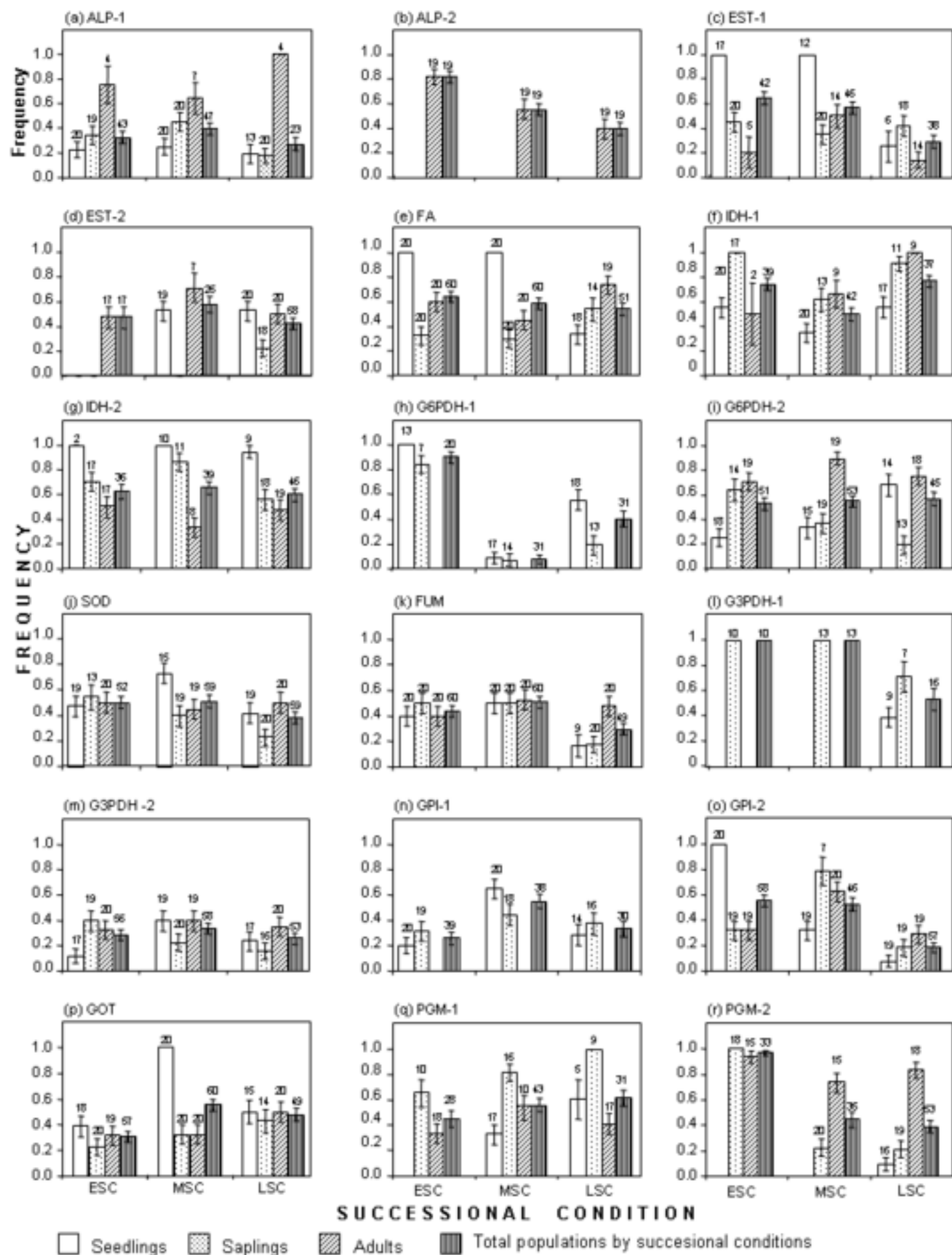


Figure 2
[Click here to download high resolution image](#)

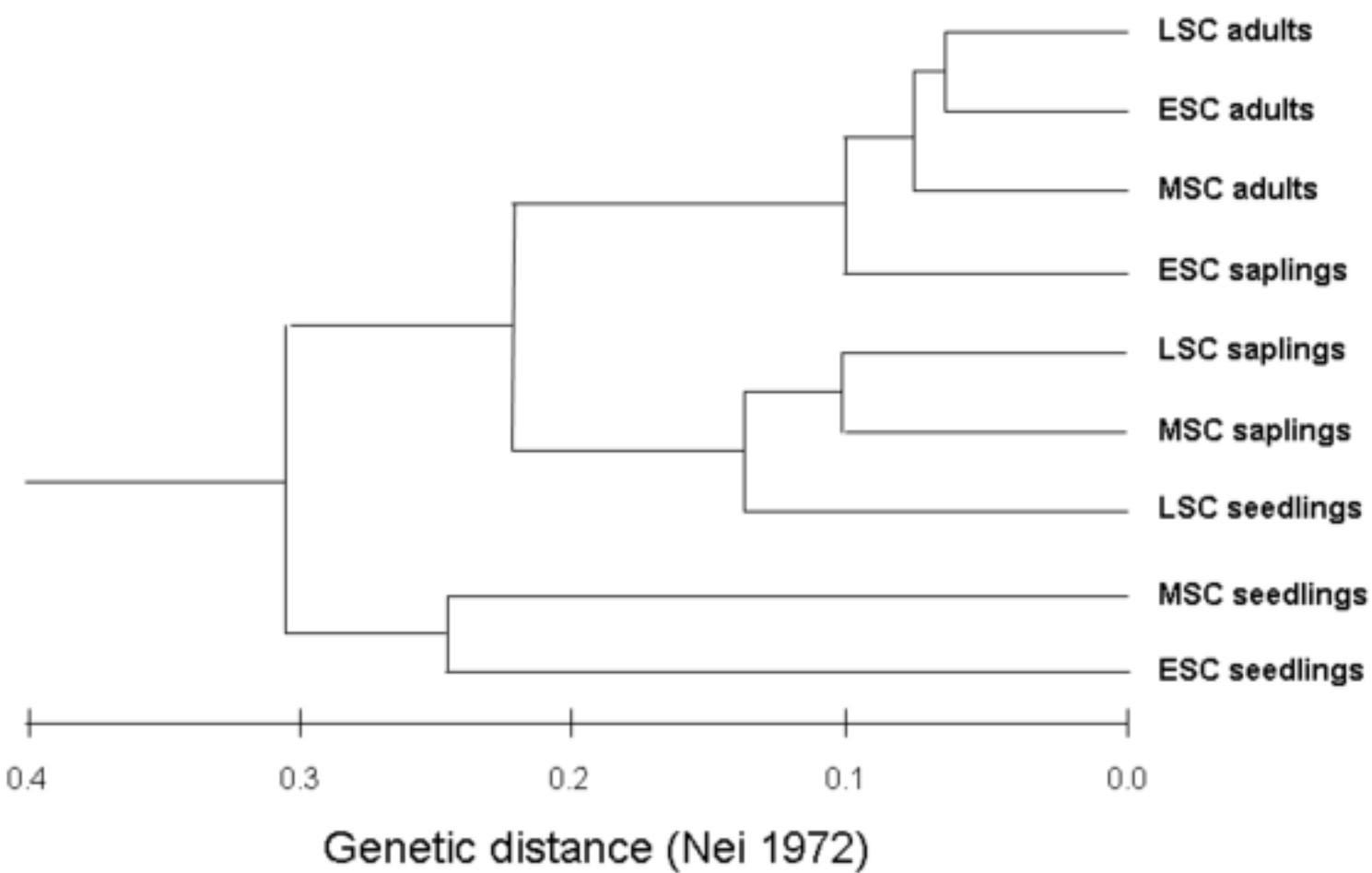


Figure 3
[Click here to download high resolution image](#)

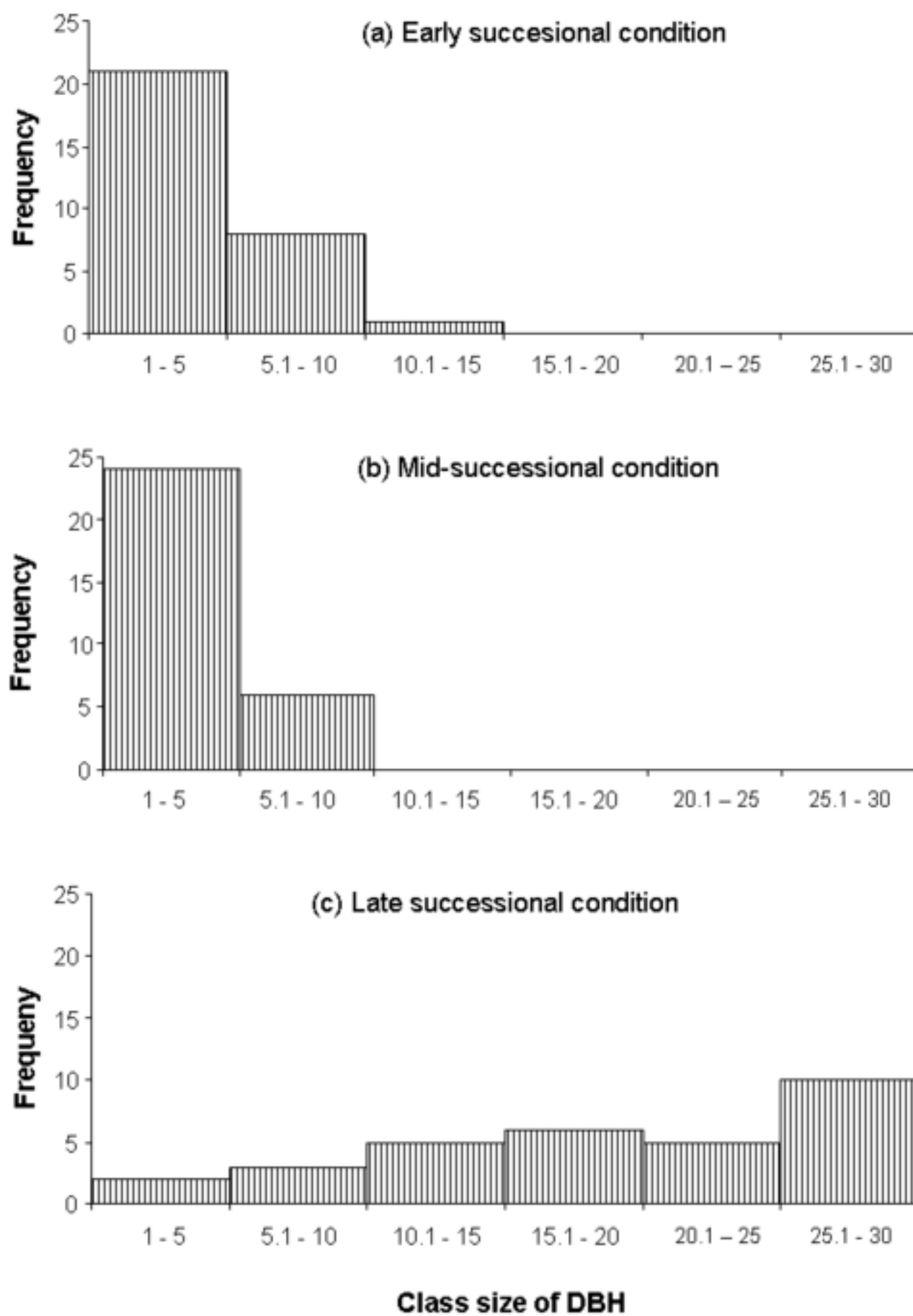


Figure 4
[Click here to download high resolution image](#)

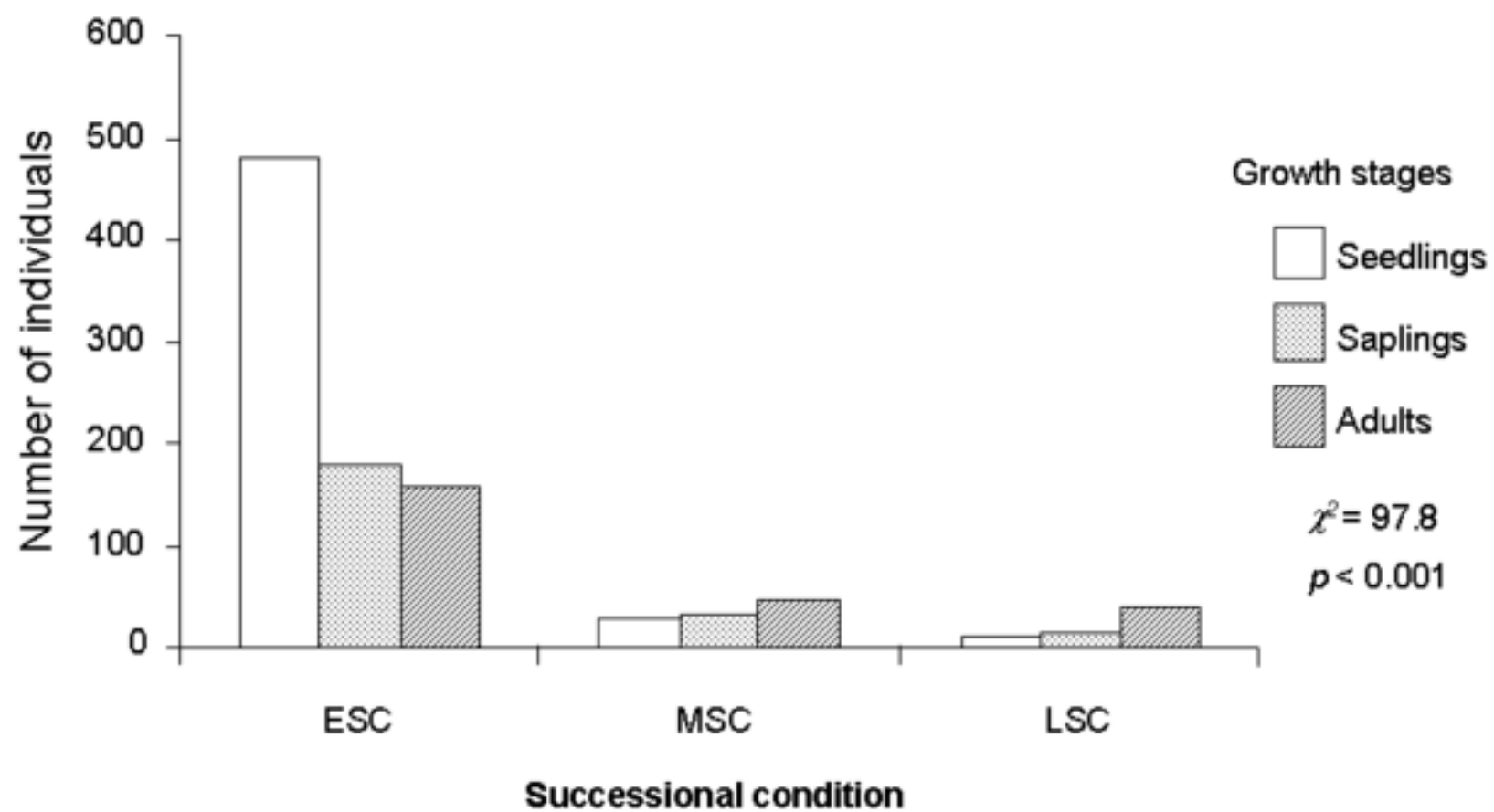


Figure 5
[Click here to download high resolution image](#)

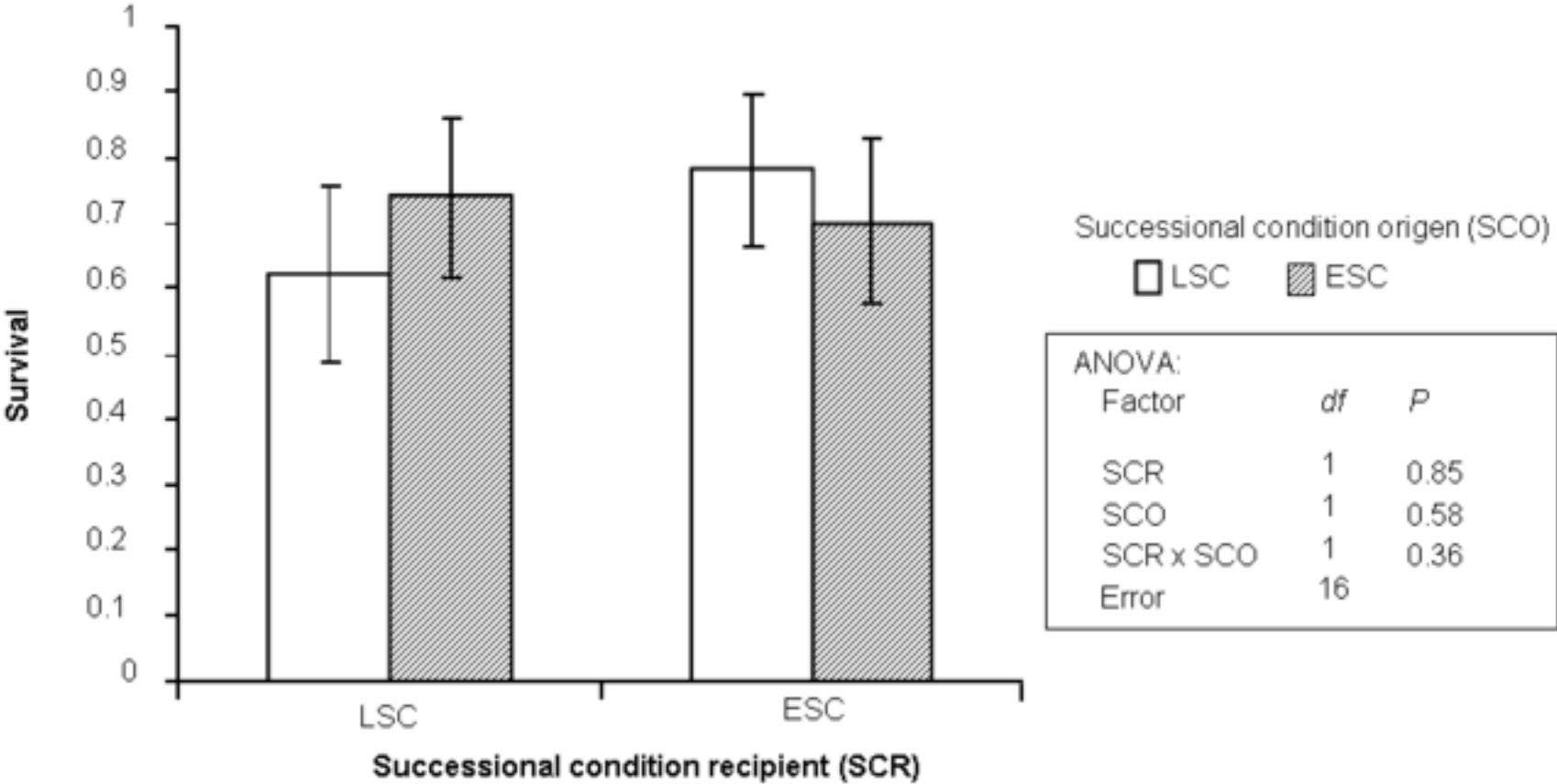


Figure 6
[Click here to download high resolution image](#)

