



El Colegio de la Frontera Sur

**Evaluación de la Diversidad Genética en Poblaciones de
Tabebuia rosea (Bertol.) Bertero ex A. DC. en las
Subprovincias Fisiográficas del Estado Campeche**

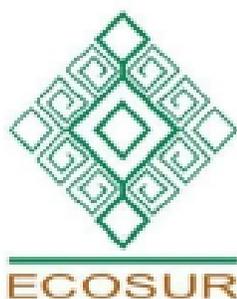
Tesis

presentada como requisito parcial para optar al grado de
Maestro en Ciencias en Recursos Naturales y Desarrollo Rural
Con orientación en Ciencias de la Sustentabilidad

Por

Biól. Hugo Ruiz González

2021



El Colegio de la Frontera Sur

Lerma, Campeche, 16 de julio del 2021.

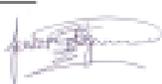
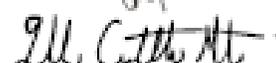
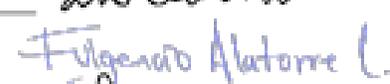
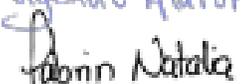
Las personas abajo firmantes, miembros del jurado examinador de:

Hugo Ruiz González

hacemos constar que hemos revisado y aprobado la tesis titulada

“Evaluación de la Diversidad Genética en Poblaciones de *Tabebuia rosea* (Bertol.) Bertero ex A.DC. en las Subprovincias Fisiográficas del Estado Campeche”

para obtener el grado de **Maestro en Ciencias en Recursos Naturales y Desarrollo Rural**

	Nombre	Firma
Director	<u>Dr. Yuri Jorge Jesús Peña Ramírez</u>	
Codirectora	<u>Dra. Miriam Monserrat Ferrer Ortega</u>	
Asesor	<u>M. C. Víctor Manuel Ku Quej</u>	
Sinodal adicional	<u>Dra. Gabriela Castellanos Morales</u>	
Sinodal adicional	<u>Dr. Fulgencio Alatorre Cobos</u>	
Sinodal adicional	<u>M.C. Natalia Y. Labrín Sotomayor</u>	
Sinodal suplente	<u>Dra. Ligia Guadalupe Esparza Olguín</u>	

Dedicatoria y agradecimientos

Dedico este trabajo a toda aquella persona que sea de su interés el tema. Agradezco enormemente a todas las personas que han colaborado en mi proyecto, tanto académicamente, como en mi formación como persona, presento un listado de los nombres de las personas, porque se merecen el respeto y reconocimiento de mi parte.

Jorge Gutiérrez Ramírez, Emma González y Jorge D. Gutiérrez González (mi familia adoptiva).

Jerman Ruiz y Etelvina González (mis padres biológicos), Aníbal, German, Neysel, Deysi y Octavio (Hermanos).

Natalia Labrín Sotomayor (compañera y encargada del laboratorio en el que desarrolle mi trabajo).

Alejandra Becerra Lucio (mi novia y compañera).

Dra. Miriam Ferrer Ortega, M.C. Víctor Ku y Dr. Yuri Peña Ramírez (comité de tesis).

Jess, Fátima, Suemy, Triana, Julito, Alex, Gabo, German (compañeros de la Unidad Campeche).

Manuel García (compañero de curso en Chetumal).

Lucia, Alan, Wilma, Samuel, Hugo (compañeros de curso en San Cristóbal).

Maricela García Bautista (encargada del Laboratorio de Genética en San Cristóbal, Chiapas).

Rita, Erika, Violeta y Cesar (amigos que conocí en la maestría).

Pero, el mayor agradecimiento es para Yuri Peña, quien me ha dado las herramientas y apoyo incondicional para superar este reto.

Tabla de contenido

Resumen	2
Palabras clave	2
Introducción	3
Artículo científico	11
Conclusiones	37
Literatura citada	39

Resumen

Actualmente, en México los programas de reforestación con especies nativas no cuentan con estudios que permitan evaluar los niveles de variabilidad genética necesarios para la conservación de la diversidad genética. El objetivo de este trabajo fue evaluar las posibles diferencias en diversidad y estructura genética de *Tabebuia rosea* (Bertol.) Bertero ex A.DC. (Bignoniaceae), en tres poblaciones de pastoreo y tres cultivadas, ubicadas en tres subprovincias fisiográficas en el estado de Campeche. Utilizando nueve marcadores tipo SSR y cuatro de tipo ISSR se evaluaron 180 individuos en total. Se obtuvieron y compararon los índices de diversidad genética entre condiciones (de pastoreo y cultivadas) y entre poblaciones y estructura genética entre las poblaciones estudiadas. En la condición de pastoreo se encontró un promedio de alelos por locus de 10.7 y 1.105 con los marcadores SSR e ISSR, respectivamente; la Heterocigosidad esperada (H_E) fue de 0.663 y el Coeficiente de endogamia (F_{IS}) fue de 0.302. Para la condición cultivada el promedio de alelos, por locus fue de 11.3 y 1.045 con SSR e ISSR, respectivamente; H_E de 0.672 y F_{IS} de 0.369. La estructura genética poblacional fue significativa para ambas condiciones, el coeficiente de diferenciación genética entre poblaciones de pastoreo fue de $F_{ST}= 0.261$ y en poblaciones cultivadas de $F_{ST}= 0.264$. El coeficiente de endogamia total fue $F_{IT}= 0.490$ ($P=0.001$). El dendrograma UPGMA no mostró algún patrón de agrupamiento por tipo de población o por distribución poblacional. En conclusión, la diversidad genética de ambas condiciones es similar, lo que implica que las prácticas culturales de selección de semillas para poblaciones cultivadas no provocan cambios detectables en la variabilidad genética en las poblaciones cultivadas de las subprovincias fisiográficas de Campeche.

Palabras clave

Selección de semillas, poblaciones cultivadas, poblaciones de pastoreo, SSR, ISSR, variabilidad genética.

Capítulo 1

Introducción

La diversidad genética, se define como el número total de características genéticas existentes en cada especie. Está determinada por fenómenos como la mutación, la deriva génica, la migración, el tamaño efectivo de la población y la presión selectiva (Ellegren 2009; Aguirre et al. 2012). La diversidad genética permite la adaptación de las especies a las nuevas condiciones ambientales y favorece la resistencia a las enfermedades (FAO 2002). Para conocer la diversidad genética de las poblaciones, es necesario estimar la riqueza alélica, la riqueza genética, la proporción de polimorfismos, la heterocigosidad observada y su diferencia respecto a la heterocigosidad esperada (Randall et al. 2008; González 2011). Los análisis de diversidad genética de poblaciones permiten inferir a través del tiempo los cambios evolutivos e identificar las fuerzas y factores que provocan dicha variación (González 2011). La caracterización geográfica y genética es necesaria para proponer planes de manejo que contribuyan a la conservación y/o al uso sustentable de las especies (Uribe 2015).

Las estrategias reproductivas afectan el mantenimiento de los niveles de diversidad genética y regulan la diferenciación de las poblaciones. Por ejemplo, en especies con alta tasa de autopolinización se favorece la endogamia y la diferenciación genética entre poblaciones (Rocha y Gasca 2007); mientras que, en aquellas especies con sistema de apareamiento cruzado se puede encontrar una mayor diversidad genética (Badanol y Schlumpberger 2001; FAO 2014). Estas estrategias reproductivas afectan la migración o flujo de genes, mediante la dispersión de polen o semillas dentro y entre las poblaciones, el mantenimiento de este flujo es determinante para mantener la conectividad genética (Nora et al. 2011). Al respecto, se ha descrito que un mayor flujo génico disminuye la varianza genética entre las poblaciones, y por lo tanto esperamos observar bajos niveles de diferenciación genética entre estas (Hamrick 2004). Cuando se presentan factores que interrumpen ese flujo génico por la disminución o extinción de polinizadores o de dispersores de semillas o por el surgimiento de una barrera geográfica, se puede generar una diferenciación genética entre poblaciones (Rocha y Gasca 2007).

El clima es un factor que limita la habilidad de las especies para colonizar ciertas áreas (Hamrick y Godt 1990; Rzedowski 2006). Lo que puede tener un efecto en el tamaño poblacional, en poblaciones pequeñas puede aumentar los efectos de la deriva génica (Neto et al. 2014). Los desastres naturales, al igual que otras relaciones ecológicas negativas como depredación, parasitismo o incluso competencia son factores que pueden generar importantes mermas poblacionales que resultan en una disminución súbita de organismos reproductivos, ocasionando pérdida de riqueza alélica. Su efecto en la diversidad genética depende de la magnitud y la duración del evento el cual puede ocasionar cuello de botella lo que posteriormente se verá reflejado en la pérdida de diversidad genética (H_E) (Hartl y Clark 1997; Spielman et al. 2004).

Además de los procesos naturales que alteran la diversidad genética, las intervenciones antropogénicas pueden exacerbar estos fenómenos a través de la sobreexplotación de las poblaciones o su afectación por conversión de áreas naturales en áreas urbanas, agrícolas y de pastoreo (FAO 2014). Estos cambios en el paisaje provocan la fragmentación, pérdida de conectividad y degradación del hábitat, acelerando los procesos naturales de pérdida de biodiversidad antes descritos y la reducción directa del tamaño poblacional por deforestación (Spielman et al. 2004; Jump y Peñuelas 2006; Vinson et al. 2018). Estas afectaciones son más drásticas para aquellas especies que dependen de la presencia de polinizadores especializados para su polinización haciéndolas más susceptibles a presentar depresión por endogamia, ya que dependen de otros organismos para el transporte del polen (Nora et al. 2011; Barrett 2003). En los bosques tropicales, se ha encontrado evidencia de los efectos negativos de la fragmentación y perturbación de los ecosistemas por diversas actividades antropogénicas, las que provocan una baja diversidad genética, bajo polimorfismo y altos niveles de endogamia en poblaciones de algunas especies arbóreas con mayor relevancia ecológica como *Cedrela odorata* L. (Leshner-Gordillo et al. 2018), *Swietenia humilis* Zucc. (Rosas et al. 2011) y *Tabebuia ochracea* A.H. Gentry (Moreira et al. 2009).

Considerando los factores que pueden afectar la variabilidad genética de las especies, se debe evaluar de manera particular a cada una de ellas, ya que no es posible generalizar. Cada especie mantiene atributos distintos que la afectan particularmente,

como su sistema reproductivo, su estrategia para mantener el flujo genético, su demografía y la historia de sus poblaciones (Rocha y Gasca 2007). Por ello, con el fin de evaluar la diversidad genética de cada especie, es necesario analizar la distribución y sus variaciones a nivel intra e inter poblacional (González 2011). Estos análisis son necesarios para generar evidencia que permita conocer el grado de afectación que puede sufrir alguna población, ya sea por efectos ecológicos, evolutivos o antrópicos.

En México, y en particular en la Península de Yucatán, los impactos antrópicos que ocasionan la deforestación, fragmentación del paisaje e interrupción del flujo génico, pudieran estar afectando gravemente a las especies forestales nativas, por ello es importante evaluar la situación en la que se encuentran algunas especies de alta importancia como *Tabebuia rosea* (Bertol.) Bertero ex A.DC. conocida localmente como Maculís.

Tabebuia rosea es una especie arbórea, con una amplia distribución desde México hasta Centroamérica, y es pionera en las selvas bajas caducifolias, medianas subcaducifolias, y zonas de transición (Martínez et al. 2006; Pennington y Sarukhán, 2005). Se encuentra, preferentemente, en comunidades secundarias y en potreros de zonas tropicales (Martínez et al. 2006). En México su mayor desarrollo es en los estados de Chiapas, Campeche y Tabasco, preferentemente en sitios planos, con suelos de origen calizo, ígneo o aluvial (Pennington y Sarukhán, 2005). Los suelos que generalmente presentan problemas de drenaje, por su alta concentración de arcillas como los vertisoles favorecen su crecimiento (Pennington y Sarukhán, 2005; FAO 2015). El rango de temperatura media anual, en las áreas donde se distribuye va de los 22 a los 27 °C; con una precipitación de 1,250 a 2,500 mm de lluvia anual (Martínez et al. 2006). Es una especie, que presenta un sistema de auto-incompatibilidad reproductiva que promueve la fecundación cruzada (Bawa y Webb 1984). El flujo de polen en esta especie está directamente relacionado con poblaciones de insectos (Gentry 1992). Sus semillas dependen del viento para la dispersión a larga distancia (Vozzo 2010)

En Campeche, México no existen reportes de la distribución de la especie en cada subprovincia fisiográfica. Las condiciones óptimas para el desarrollo de *T. rosea* reportado por Pennington y Sarukhán (2005), se encuentran en las subprovincias

fisiográfica “Llanuras y Pantanos Tabasqueños,” donde predominan los suelos vertisoles y gleysoles, con clima cálido húmedo y abundantes lluvias en verano (SEMARNAT y CONAFOR 2014). En la subprovincia del “Karst y Lomeríos de Campeche” donde hay una menor precipitación, y presenta zonas bajas con suelos vertisoles y gleysoles (SEMARNAT y CONAFOR 2014), las poblaciones de *T. rosea* se desarrollan muy bien, aunque su abundancia es menor. Finalmente, la subprovincia del “Karst Yucateco” tiene la menor precipitación de las tres subprovincias, es abundante en suelos poco profundos y pedregosos como los Leptosoles, así como suelos salinos como los solanchak (SEMARNAT y CONAFOR 2014), en esta subprovincia la densidad de *T. rosea* es muy escasa donde sus poblaciones más abundantes están asociadas principalmente a traspatios y arborización urbana.

La fragmentación del hábitat de *T. rosea* y su aprovechamiento, han ocasionado reducciones drásticas en sus poblaciones (Martínez et al. 2006). Los individuos silvestres remanentes pueden encontrarse aún en zonas de pastizales, especialmente en áreas inundables y en grupos de vegetación secundaria alrededor de zonas de cultivo y traspatios (Martínez et al. 2006). Por otro lado, de manera cultivada, las poblaciones de esta especie han aumentado tanto en el número de individuos como en su distribución, encontrándose como parte de la flora urbana y aparece en programas de establecimiento de plantaciones forestales (PRONARE 2001; CONAFOR 2013; INEGI 2017). Su uso ha sido priorizado para proyectos de reforestación, por su capacidad pionera en la regeneración de vegetación secundaria (PRONAFOR 2018); para ornamentación de espacios públicos debido a su intensa floración de color rosa (Vit 2004); y para plantaciones con fines comerciales, por su rápido crecimiento, ausencia de plagas importantes y calidad de su madera (Vit 2004; Martínez et al. 2006).

Pese al éxito en el uso de *T. rosea* como especie comercial, una de las preocupaciones que subyacen debido al incremento de poblaciones de *T. rosea* por intervención humana radica en que no se considera la calidad genotípica y fenotípica del árbol donante, dado que no se documenta el germoplasma forestal usado para la producción comercial de plántulas en viveros (Meza-Sandoval 2014; Solís-Guillén et al. 2017). Reproducir selectivamente material de pocos individuos genera el mismo tipo de cuello de botella del

que se habló previamente, con el potencial de ocasionar un aumento del efecto de la deriva génica, así como un incremento en los niveles de endogamia si se utilizan pocos progenitores, tanto en las poblaciones plantadas, como en las poblaciones silvestres vecinas a dichas plantaciones. Lo anterior incrementaría la vulnerabilidad de la especie ante enfermedades y disminuiría su capacidad de adaptación a los cambios climáticos (Vargas et al. 2004; FAO 2014).

Estudios previos en especies tropicales demuestran los efectos negativos del uso de semillas no seleccionadas para el establecimiento de plantaciones, provocando pérdida de diversidad alélica. Es el caso de *Inga vera* (Mimosaceae), especie en la que se demostró que la riqueza de alelos es de apenas el 50 % en plantaciones cultivadas en comparación con individuos remanentes de bosques. Además, la descendencia de los individuos plantados presenta un mayor índice de endogamia que las descendencias de poblaciones naturales (Neto et al. 2014). Este fenómeno se ha documentado también en *Tabebuia roseo-alba*, donde se demostró que una población cultivada tenía una reducción del 48 % del número promedio de alelos respecto de una población silvestre impactada por la agricultura (Feres et al. 2009), lo cual representa una clara evidencia del impacto que puede tener el coleccionar semillas de pocos individuos.

En Colombia, se evaluó la diversidad genética de *T. rosea* en 71 individuos que corresponden a tres poblaciones de plantaciones de diferentes orígenes, utilizando 21 microsatélites. Las poblaciones conservan una alta diversidad genética, número alto de alelos y un bajo índice de endogamia. Se sugiere que el sistema de reproducción auto-incompatible de esta especie pudiera ser el responsable de favorecer y mantener la diversidad genética al menos a nivel local (López et al. 2015). En otro estudio, se reportaron niveles similares de diversidad genética y valores altos en los índices de endogamia en dos poblaciones, una de potrero y una plantación comercial, ambas pertenecientes a la subprovincia fisiográfica Karst y Lomeríos de Campeche, lo cual pudiera ser indicativo de que ambas poblaciones se originaron de plantas madre con sistemas reproductivos capaces de capturar una carga genética similar (Raggio 2016).

Pese a que la evidencia apunta a que el propio sistema de auto-incompatibilidad de *T. rosea* es un importante factor para la conservación y transmisión de la diversidad genética

a las generaciones subsecuentes, es importante evaluar si este fenómeno es consistente en poblaciones cultivadas y poblaciones de paisajes impactados, pero que son aún consideradas silvestres (pastoreo). También es interesante saber si distintas condiciones ambientales, como las que prevalecen en distintas subprovincias fisiográficas pueden provocar cambios en la estructura genética. La evidencia generada en el estado de Campeche por Raggio (2016), permitió estimar los niveles de variabilidad genética a nivel intra e inter poblacional. Sin embargo, las dos poblaciones analizadas en el trabajo resultan insuficientes para generar una visión aceptable del estado de afectación de la diversidad genética en poblaciones de *T. rosea* de plantaciones cultivadas, respecto de poblaciones silvestres en zonas de pastoreo al menos en el estado de Campeche. Derivado de esta situación, en este trabajo se planteó como pregunta de investigación, ¿Cuál es la diversidad genética en poblaciones cultivadas de *T. rosea*, respecto de las poblaciones de zona de pastoreo, en las subprovincias fisiográficas del estado de Campeche? La hipótesis planteada en este trabajo es que la diversidad genética de las poblaciones cultivadas de *T. rosea*, que han tenido un manejo antropogénico, es menor al de las poblaciones de zonas de pastoreo. Para averiguarlo, se ha planteado como objetivo del presente trabajo, estimar la diversidad genética de *T. rosea* en tres poblaciones de zonas pastoreo y en tres poblaciones cultivadas, localizadas en las distintas subprovincias fisiográficas del estado de Campeche. Con ello, se podrán identificar poblaciones con el mayor potencial genético para ser aprovechado como fuente semillera para otras poblaciones cultivadas, y contribuir a la conservación de las poblaciones silvestres y su aprovechamiento sustentable.

Para poder realizar este trabajo, se decidió evaluar la diversidad genética mediante el uso de marcadores moleculares, término que engloba a las técnicas que se basan en la detección de regiones discretas del genoma de estos árboles mediante la técnica de reacción en cadena de la polimerasa o PCR, por sus siglas en inglés (Nuez y Carrillo 2000; González 2011). Estas técnicas permiten identificar los diferentes alelos presentes en los individuos ya sea por la aparición o desaparición de estas marcas o bien por cambios en la longitud de los amplicones generados (Nuez y Carrillo 2000). Existen distintos tipos de marcadores moleculares que se distinguen por su capacidad de detectar polimorfismo en loci únicos o múltiples y son de tipo codominante y dominante, para este

trabajo se decidió emplear dos de ellos los SSR y los ISSR. Los microsatélites son secuencias simples repetidas de nucleótidos o SSR por sus siglas en inglés. Estos se basan en regiones variables constituidas por repeticiones en tándem, de 1 a 6 pares de bases (Tautz 1989; Kalia et al. 2011). La ventaja de los microsatélites es su carácter multialélico, aparte de que permite estudiar la variabilidad genética poblacional, son altamente polimórficos, de tipo codominante, debido a que permiten amplificar los alelos heredados de ambos progenitores, lo que permite distinguir individuos homocigotos y heterocigotos, son de fácil interpretación debido a la presencia de un solo locus por microsatélite y son selectivamente neutros (Rentería-Alcántara 2007). Estos marcadores son muy abundantes en los genomas de las plantas, se distribuyen homogéneamente y resultan apropiados para los análisis de diversidad genética de poblaciones (Vicario 2002). Una de las desventajas para el uso de los SSR, radica en que para el diseño de los microsatélites se requiere caracterizar y secuenciar las regiones del genoma que contienen al microsatélite, además, suelen ser específicos para una especie o un grupo de especies del mismo género y su desarrollo es costoso (Tautz 1989; Zhang et al. 2005). Afortunadamente, los marcadores moleculares para este estudio fueron desarrollados por Braga y colaboradores (2007), López y colaboradores (2015) y han sido validados para *T. rosea* (López et al. 2015; Raggio, 2016).

Otro tipo de marcadores moleculares que se decidió usar son los conocidos como “Inter Simple Sequence Repeats” o ISSRs por sus siglas en inglés, son regiones que se repiten en tándem de motivos simples como (CT) n o (CA) n , amplifica la región entre dos microsatélites. Estos marcadores permiten obtener niveles de variación en el genoma, por medio de la presencia y ausencia de los productos amplificados (Rentería-Alcántara 2007). Las ventajas principales de los ISSRs es que poseen un gran número de bandas polimórficas, la técnica de diseño es relativamente fácil, altamente repetible y existen cebadores universales para plantas. Las desventajas que pueden presentarse con su uso radica en que las bandas son leídas como marcadores dominantes, mediante presencia y ausencia y no permiten distinguir cuando el individuo es homocigoto dominante o heterocigoto (Rentería-Alcántara 2007).

El uso de estos marcadores moleculares permitió obtener diferentes índices de variabilidad genética a nivel intra e inter poblacional en la especie de interés. Con esta información fue posible determinar la diversidad genética existente y la proporción en cada una de las poblaciones estudiadas en el estado de Campeche y comparar las similitudes entre poblaciones de pastoreo y cultivadas. Los resultados de estos análisis se muestran en el capítulo dos de este trabajo.

Capítulo 2

Artículo científico

Con formato para someter a la revista Agrociencia-Colpos

DIVERSIDAD Y ESTRUCTURA GENÉTICA EN POBLACIONES CULTIVADAS Y DE PASTOREO DE *Tabebuia rosea* (Bertol.) Bertero ex A. DC. (Bignonaceae) EN UN PAISAJE FRAGMENTADO DEL BOSQUE MAYA EN MÉXICO

Hugo Ruiz-González ^a, María Raggio ^a, Natalia Y. Labrín-Sotomayor ^a, Víctor Ku-Quej ^c, Yuri Jorge J. Peña-Ramírez ^a, y Miriam M. Ferrer-Ortega ^b

^aDepartamento de Ciencias de la Sustentabilidad, El Colegio de la Frontera Sur unidad Campeche. Av. Rancho Polígono 2A Ciudad Industrial Lerma. Campeche, CAMP 24500, México

^bDepartamento de Manejo y Conservación de Recursos Naturales Tropicales, Campus de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Universidad Autónoma de Yucatán, Km. 15.5, Carretera Mérida-Xmatkuil, Mérida, YUC 97315, México. Tel/Fax +52 999 942 3212.

^cDepartamento de Agricultura, Sociedad y Ambiente, El Colegio de la Frontera Sur unidad Campeche. Av. Rancho Polígono 2A Ciudad Industrial Lerma. Campeche, CAMP 24500, México
ORCID de autores: HRG: 0000-0002-9517-0779; MR: 0000-0003-3199-1372; VMKQ:0000-0003-0311-3521; NYLS: 0000-0002-8455-5040; YPR: 0000-0002-1637-0087; MMFO: 0000-0003-2990-9798.

RESUMEN

Las plantaciones de árboles nativos para restauración de hábitat son comunes. En México, los programas de reforestación no contemplan la diversidad genética que permita transmitir la variabilidad genética de poblaciones silvestres a las cultivadas. Se evaluó la variabilidad y estructura genética poblacional de *Tabebuia rosea* (Bignoniaceae) en tres poblaciones cultivadas y tres poblaciones de pastoreo (consideradas silvestres). Utilizando nueve marcadores tipo SSR y cuatro de tipo ISSR se evaluaron 180 individuos en total (30 individuos por población). Se obtuvieron y compararon los índices de diversidad y estructura genética entre tipos de condición y entre poblaciones. En la condición de pastoreo se encontró un promedio de alelos por locus de 10.7 y 1.105 con los marcadores SSR e ISSR, respectivamente, Heterocigosidad esperada (H_E) 0.663 y alto coeficiente de endogamia (F_{IS}) de 0.302. Por su parte para la condición cultivada el promedio de alelos por locus fue de 11.3 y 1.045 con SSR e ISSR, respectivamente, y H_E de 0.672 y F_{IS} de 0.369. La estructura poblacional fue similar en ambas condiciones, el coeficiente de diferenciación genética entre poblaciones de pastoreo fue de $F_{ST}= 0.261$ y en poblaciones cultivadas de $F_{ST}= 0.264$. La endogamia total fue alta $F_{IT}= 0.490$ ($P=0.001$). En conclusión, la diversidad genética de poblaciones de pastoreo es similar a las presentes en poblaciones cultivadas. Esta evidencia pareciera indicar que las prácticas de selección de semillas para poblaciones cultivadas no generan cambios detectables en la variabilidad genética de acuerdo con el número de alelos encontrados.

PALABRAS CLAVES

Fragmentación poblacional, selección de semillas, especie forestal tropical, marcadores moleculares, índice de variabilidad genética

INTRODUCCIÓN

Los bosques tropicales del mundo presentan la mayor pérdida y fragmentación de hábitat por el cambio de uso de suelo, debido a las actividades agropecuarias para satisfacer las necesidades humanas (Rautner et al. 2013). La selva Maya; que representa el bosque tropical con mayor extensión de América después del Amazonas, es constantemente deforestada a causa de la agricultura, la ganadería y el crecimiento urbano (Ellis et al. 2020; Ellis et al. 2020).

La fragmentación del hábitat por causas naturales, o por deforestación, tiene como consecuencia la pérdida de diversidad genética lo que pone en riesgo la supervivencia de las especies a mediano y largo plazo (Quédraogo 1997; Spielman et al. 2004). La reforestación puede mitigar estos cambios en las poblaciones, pero es necesario considerar aspectos relacionados con el manejo genético, que permita proporcionar información para la selección de semillas destinadas a establecer nuevas poblaciones (Alía 2003; Vargas et al. 2004). De no considerarse, las consecuencias pueden ser contraproducentes exacerbando la erosión genética que se traduce en una reducción de supervivencia y baja productividad a largo plazo (Vargas et al. 2004; Rodriguez 2009). En México, los programas de reforestación productiva y de restauración ecológica han priorizado algunas especies nativas con potencial económico, ecológico y social. *Tabebuia rosea* (Bertol.) Bertero ex A.DC. es considerada como la especie más prometedora (PRONAFOR 2018), debido a su capacidad de supervivencia temprana y desarrollo en diferentes condiciones ambientales (Pennington y Sarukhán 2005; Vit 2004). Su rápido crecimiento, la ausencia de plagas importantes, la calidad de su madera y su capacidad pionera en la regeneración de vegetación secundaria (Martínez et al. 2006; PRONAFOR 2018) la hacen una especie prioritaria. En consecuencia, las poblaciones de *T. rosea* han aumentado significativamente en entornos manejados respecto de las poblaciones silvestres. Los registros históricos para el estado de

Campeche, México, sugieren el establecimiento de cerca de 6,000 ha entre los años 2001 y 2016 (PRONARE 2001; CONAFOR 2013; INEGI 2017).

Una de las principales preocupaciones del incremento poblacional de *T. rosea*, resultado de su manejo en México, es que el germoplasma forestal que se utiliza proviene de fuentes desconocidas; la colecta de semillas se realiza sin que exista alguna práctica que permita asegurar que la variabilidad genética presente en las poblaciones silvestres se captura adecuadamente (Solís-Guillén et al. 2017). La reproducción de pocos individuos puede tener consecuencias graves, equivalentes a una deforestación masiva. En este caso, una liberación al ambiente, aún en zonas perturbadas o urbanas puede introducir un número desproporcionado de ciertos alelos mediante un flujo de polen hacia las poblaciones silvestres, ejerciendo una presión extra que las lleve a un vórtice de extinción (Vargas et al. 2004; FAO 2014).

Las consecuencias reportadas sobre la pérdida y fragmentación de hábitat y los efectos negativos del uso de semillas no seleccionadas para plantaciones cultivadas para otras especies del género *Tabebuia* son bajos niveles de polimorfismo, baja diversidad alélica y genética y altos niveles de endogamia en *T. ochracea* (Moreira et al. 2009; Sebbenn et al. 2000; Feres et al. 2009). Por el contrario, en *T. rosea* se evaluó la diversidad genética, entre poblaciones cultivadas, las cuales conservan una alta diversidad genética, número alto de alelos y bajo índice de endogamia, confirmando que el sistema de auto-incompatibilidad reproductiva de la especie, favorece y mantiene su diversidad genética, al menos a nivel local (López et al. 2015).

En este estudio se evaluó la diversidad y estructura genética de poblaciones de *T. rosea* para probar cuánta diversidad genética se retiene en poblaciones cultivadas con relación a poblaciones de pastoreo en el estado de Campeche.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

Para la especie modelo, se contemplaron dos tipos de condiciones, 1) poblaciones de pastoreo (consideradas silvestres, son individuos aislados remanentes de bosques en tierras de pastoreo que fueron en su mayoría desmontadas, sin ningún tipo de cuidado humano ni intervención para su establecimiento) y 2) poblaciones cultivadas (individuos sembrados deliberadamente por el ser humano en zonas urbanas y en plantaciones forestales que están bajo algún tipo de manejo). Se estudiaron un total de seis poblaciones de *T. rosea* provenientes de sitios con distintas historias de usos localizados en la selva Maya en la región de Campeche, México (Figura 1).

Para las poblaciones de pastoreo se seleccionaron árboles coetáneos adultos, con una altura mínima de 8 m y un mínimo de diámetro a la altura del pecho (DAP) de 25 cm. Para las poblaciones cultivadas, ciudad de Campeche (arborización urbana) y Xbacab (plantación forestal) están formados por árboles coetáneos adultos con una altura mínima de 5 m y un mínimo de DAP de 20 cm. La población de Calkiní (arborización urbana) está formada por árboles coetáneos juveniles con una altura mínima de 1.5 m y un mínimo de DAP de 5 cm (Cuadro 1). En total se muestrearon 180 individuos (30 individuos por población de manera aleatoria), se colectaron hojas jóvenes de la parte inferior-media de la copa, con una distancia mínima de 30 m entre individuos. Cada muestra fue guardada en bolsa plástica, la cual se mantuvo refrigerada hasta llegar al laboratorio, donde se almacenó a -70° C hasta el momento de procesarlas.

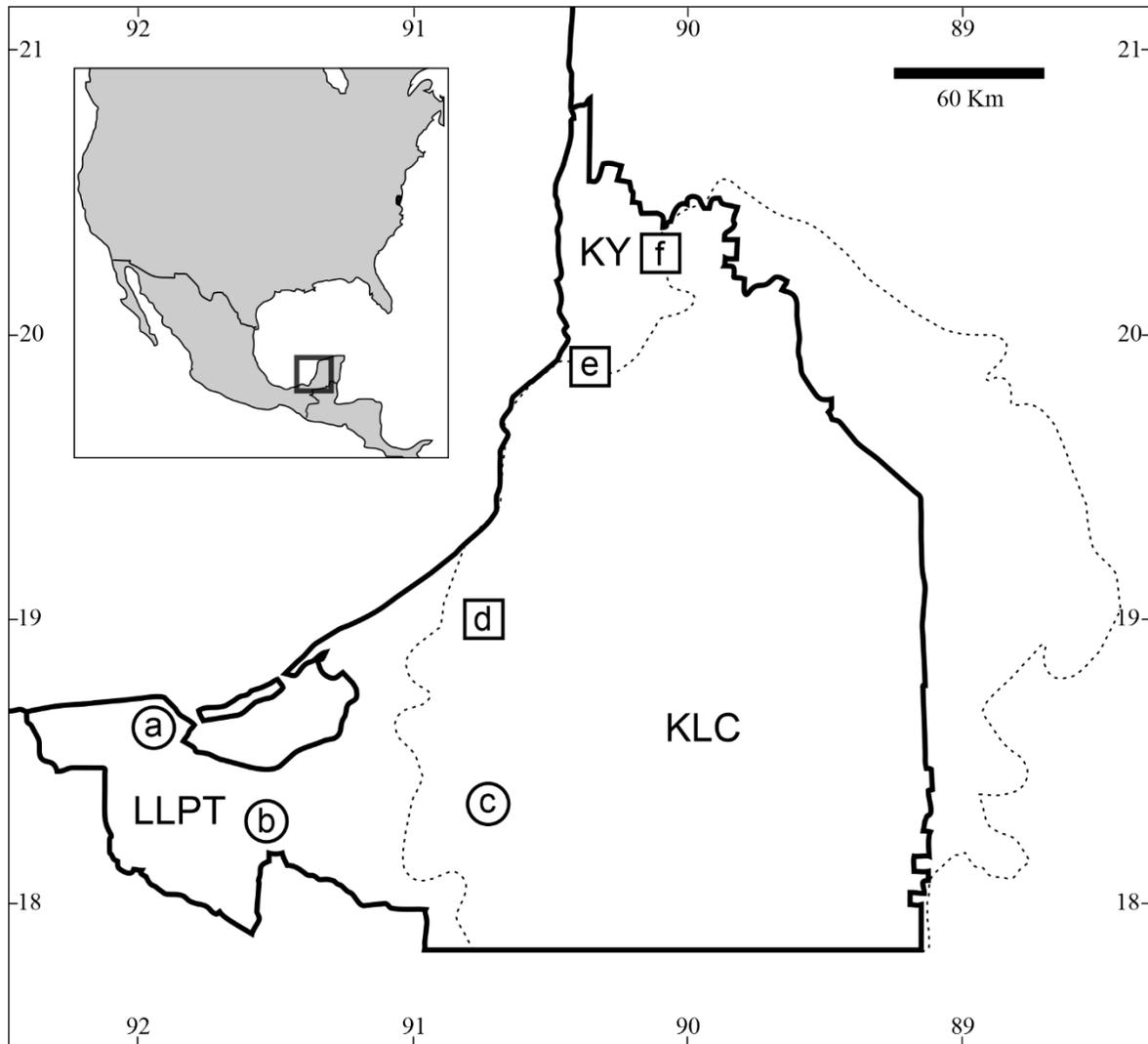


Fig. 1 Localización de las zonas de muestreo. En círculos se muestra la ubicación de las poblaciones de pastoreo de Atasta (a), Constitución (b) y División del Norte (c). En cuadrado se muestran las poblaciones cultivadas de Xbacab (d), Campeche (e) y Calkiní (f). En el mapa se muestra en línea continua el límite del estado de Campeche y en línea punteada los límites de las subprovincias fisiográficas de Llanuras y pantanos de Tabasco (LLPT) Karst y Lomeríos de Campeche (KLC) y Karso Yucateco (KY).

Cuadro 1. Ubicación geográfica de las poblaciones de *T. rosea* en Campeche.

Nombre de las Poblaciones	Abreviación	Latitud N	Longitud W	Altitud (m.s.n.m.)
Atasta	Pat	18°37'34.82"	91°56'20.37"	2
División del Norte	PDN	18°31'10.43"	90°47'49.75"	85
Constitución	PCn	18°08'42.00"	91°36'17.00"	7
Campeche	CCa	19°48'40.91"	90°30'22.55"	10
Calkiní	CCK	20°20'42.78"	90°02'44.71"	16
Xbacab	CXb	18°57'33.00"	90°46'35.00"	26

Aislamiento de DNA

La extracción del DNA se llevó a cabo a partir de 150 mg de tejido foliar, previamente pulverizando con nitrógeno líquido y utilizando el Kit comercial Miniprep Quick-DNA™ Plant/Seed (D6020, Zymo Research, CA, USA.), siguiendo las instrucciones del fabricante. La calidad y cantidad del DNA se determinó mediante el rendimiento, integridad, concentración y pureza. La integridad del DNA se evaluó a través de geles de agarosa al 0.8%, para visualizar las muestras se incorporó Bromuro de etidio en el gel a razón de 0.5 µg/ml y se registró la imagen del DNA mediante el fotodocumentador ChemiDoc XRS system™ (BioRad®, USA). La concentración y pureza de las muestras de DNA se determinó mediante el espectrofotómetro Thermo Fisher Scientific® modelo Multiskan GO FI-01620 (Vantaa, Finlandia), placa µDrop (Thermo Fisher Scientific®, Vantaa, Finlandia) y el software SkanIt versión 4.1 (Thermo Scientific®), con una relación de absorbancia A260nm/A280 nm.

Marcadores Moleculares

Secuencias Simples Repetidas o microsatélites (SSR)

La amplificación de las muestras de DNA se realizó utilizando los marcadores SSR TRB6, TRA101, TRC103, TRB104, TRC105, TRA109, TRB109, diseñados para *T. rosea* por López y colaboradores (2015). También se utilizaron Tau22 y Tau31 diseñados para *Tabebuia aurea* por Braga y colaboradores (2007), transferible para otras especies del género *Tabebuia*, previamente utilizados en estudios de *T. rosea* por López y colaboradores (2015). Las reacciones de PCR se realizaron en un volumen final de 15 μl , que incluyeron 9.6 μl de agua destilada estéril, 1.5 μl de Buffer 10X KCl (1X / 1.5 mM MgCl_2), 0.9 μl de MgCl_2 (1.5 mM), 0.3 μl de dNTPs (0.2 mM), 0.15 μl de Primers Forward y Reverse (0.20 μM de cada uno), 0.15 μl BSA (1%), 0.075 μl de enzima Taq DNA polimerasa a una concentración de 5 U/ μl , y 2.2 μl de DNA genómico a una concentración de 20 ng μl^{-1} . Las reacciones de PCR se realizaron en un termociclador punto final C1000 Touch Thermal Cycler (Bio-Rad, Hercules, CA, USA). Las condiciones de reacción fueron: un paso de desnaturalización inicial a 94 °C por 10 min, 30 ciclos con desnaturalización a 94 °C por 1 min, alineamiento a 56 °C por 1 min, y extensión a 72 °C por 1 min y finalmente un ciclo de extensión final a 72 °C por 5 min. Se confirmó la amplificación de los microsatélites, por medio de electroforesis en gel de agarosa al 2.5 %, y posteriormente se realizó la electroforesis capilar.

Inter Secuencias Simples Repetidas (ISSR)

Se seleccionaron de la base de datos de la Universidad de Columbia Británica cuatro cebadores de tipo ISSR en función de los patrones de bandas generados y su repetibilidad (UBC-835, UBC848, UBC856, UBC 891). Las reacciones de PCR para los cebadores se realizaron en un volumen final de 15 μl , en el que se incluyeron 9.15 μl de agua destilada y estéril, 1.5 μl de Buffer 10Xx KCl (1X / 1.5 mM MgCl_2), 0.9 μl de MgCl_2 (1.5 mM), 0.3 μl de dNTPs (10 mM), 0.75 μl de primer (1 μM), 0.15 μl BSA (1%), 0.075 μl de enzima Taq DNA polimerasa a una concentración

de 5 U/ μ l, y 2.2 μ l de DNA genómico a una concentración de 20 ng. Las condiciones de reacción fueron: un paso de desnaturalización inicial a 94 °C por 10 min, seguido de 40 ciclos con desnaturalización a 94 °C por 1 min, alineamiento a 58 °C por 1 min (UBC835 y UBC891) y 60 °C por 1 min (UBC848 y UBC856), extensión a 72 °C por 2 min y finalmente un ciclo de extensión final a 72 °C por 10 min. Se confirmó la amplificación de los cebadores, por electroforesis en gel de agarosa al 1.5 %, con bromuro de etidio en el gel a razón de 0.5 μ g/ml y se registró la imagen del DNA mediante el fotodocumentador ChemiDoc XRS system TM (BioRad®, USA).

Cálculo de peso molecular de los productos amplificados

El tamaño de los productos de SSRs amplificados se determinó mediante electroforesis capilar automatizada, utilizando el cartucho QIAxcel Advanced system mediante el software QIAxcel ScreenGel versión 1.6.0 marca QIAGEN, serie ZO11131396 (Dean et al. 2013). Para poder observar el patrón de cada fragmento se usó el marcador de referencia QX Size Marker 25 bp-500 bp. Se utilizó un volumen total de 10 μ l (5 μ l de producto de PCR y 5 μ l de buffer de carga). El tamaño de los fragmentos amplificados de ISSR fue determinado a partir de las imágenes de los geles de electroforesis, donde se calculó el valor de Rf para cada amplicón y para cada banda del marcador de peso molecular. Empleando los valores del marcador de peso molecular se obtuvieron las ecuaciones ajustadas en las que se interpolaron los valores de las bandas problema, calculando su valor en pares de bases.

Análisis de datos

Se registraron en una matriz de datos (Tabla suplementaria S1) el tamaño en pb de cada uno de los alelos de acuerdo a cada marcador SSR; mientras que para los marcadores ISSR se registraron en una matriz binaria como presencia (1) y ausencia (0) (Tabla suplementaria S2). Para conocer a los microsatélites más informativos, se obtuvieron el número de alelos totales (AT), índice de Shannon (I), heterocigosidad observada (H_O), heterocigosidad esperada (H_E) y el índice de

endogamia (F_{IS}) por cada microsatélite (SSR). Para cada cebador (ISSR) se obtuvo el número de bandas y el porcentaje de información polimórfica (P). Empleando los datos obtenidos con los SSR e ISSR se estimó el promedio de índice de diversidad genética entre ambas condiciones (cultivo y de pastoreo) y entre poblaciones. Con los SSR, se estimó el promedio de alelos encontrados por locus (A), alelos efectivos (N_e), índice de diversidad de Shannon (I), heterocigosidad observada (H_o) y heterocigosidad esperada (H_E), coeficiente de endogamia (F_{IS}) y porcentaje de loci polimorfismo (P). Por su parte con los datos obtenidos de los ISSR se obtuvo el promedio de alelos por locus (A), alelos efectivos (N_e), índice de diversidad de Shannon (I), heterocigosidad esperada (H_E) y heterocigosidad no sesgada ($UHE = (2N/(2N-1))*H_E$) que permite ajustar el valor real de la heterocigosidad y porcentaje loci polimórficos (P). Todos los análisis de diversidad genética se estimaron mediante el programa GenAlEx 6 (Peakall y Smouse, 2006). Debido a que no había normalidad y homocedasticidad en los datos se realizó análisis no paramétrico de Kruskal-Wallis y posteriormente prueba de comparación de pares entre las medias del número de alelos, entre condiciones y entre poblaciones.

Se determinó la estructura genética mediante un análisis de varianza molecular (AMOVA) con SSR e ISSR para determinar la distribución de la variabilidad genética entre ambas condiciones, entre poblaciones y dentro de las poblaciones. Y con los marcadores SSR se obtuvieron los estadísticos F (Nei, 1973), que describen la variación genética entre poblaciones (F_{ST}), a nivel intrapoblacional (F_{IS}) y la total (F_{IT}), utilizando el software GenAlEx 6 (Peakall y Smouse 2006).

Para probar las similitudes genéticas entre individuos de poblaciones de pastoreo y poblaciones cultivadas, se calcularon los coeficientes de parentesco KINSHIP para marcadores codominantes (Loiselle et al. 1995) y para marcadores dominantes (Hardy 2003) utilizando PHYLIP v. 3.2 (Felsenstein 1989) los cuales se definen como la probabilidad de que dos alelos tomados al azar,

uno de cada individuo, sean iguales (Hardy 2003). A partir de ellos se construyó un dendrograma UPGMA, mismo que fue editado con MEGA-X (Kumar et al. 2018).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Evaluación de SSR e ISSR

Para los SSR, todos los *loci* analizados resultaron ser polimórficos. Se encontraron de 7 a 54 alelos por *locus*. Los *loci* con mayor número de alelos fueron TRB104, Tau22, Tau31 y TRB109. El 33 % de los alelos encontrados resultaron ser exclusivos de alguna de las poblaciones analizadas, mientras que el resto de los alelos pudo ser encontrado en al menos dos de las poblaciones. El *locus* TRB109 presentó un alto índice de heterocigosidad, por lo cual el índice de endogamia fue de cero. Para los cuatro ISSR, se obtuvo un total de 149 bandas inequívocas y reproducibles, en todos los casos fueron 100 % polimórficas. Del total de bandas encontradas, el 93 % se presentaron en más de una población y el 7 % resultaron ser bandas exclusivas para una sola población. Los pesos moleculares de los productos amplificados fluctuaron en un rango de 151 a 1499 pb. El número de bandas por ISSR varió desde un mínimo de 25 (UBC-856) hasta un máximo de 44 (UBC-835) bandas (Cuadro 2).

Cuadro 2. Caracterización de nueve loci de SSR y cuatro ISSR, basados en 180 individuos de *T. rosea*. AT, número total de alelos; I, índice de diversidad Shannon; Ho, heterocigosidad observada; HE, heterocigosidad esperada; FIS, coeficiente de endogamia; P, Porcentaje de loci polimórficos

SSR	Rango Pb	AT	I	Ho	HE	FIS
TAU22	141-209	32	1.87	0.55	0.754	0.258
TAU31	235-373	31	1.97	0.454	0.808	0.429
TRA101	204-290	29	1.82	0.552	0.781	0.281
TRA109	156-214	25	1.77	0.481	0.748	0.347
TRB6	183-235	19	1.3	0.378	0.556	0.31
TRB104	214-420	54	2.44	0.51	0.837	0.381
TRB109	182-284	31	1.92	0.728	0.734	-0.008
TRC103	331-445	29	1.53	0.3	0.635	0.52
TRC105	88-132	7	0.45	0.028	0.253	0.889
ISSR	Rango Pb	Bandas totales		P		
UBC835	166-1451	44		100%		
UBC848	151-1499	40		100%		
UBC856	292-1352	25		100%		
UBC891	248-1333	40		100%		

Diversidad genética

Se encontró un total de 257 alelos con los marcadores SSR en las poblaciones de *T. rosea* muestreadas, de éstos se encontraron 205 alelos en las poblaciones cultivadas, número ligeramente superior en comparación con las poblaciones de pastoreo que presentaron un total de 199 alelos. El número total de alelos encontrados mediante SSR fue superior a los reportados previamente por

diversos autores para el género *Tabebuia* (Feres et al. 2009; Moreira et al. 2009; Braga et al. 2007) y para la especie (López et al. 2015). Para los cuatro marcadores ISSR, se obtuvo un total de 149 *loci*, de éstos 133 estuvieron presentes en las poblaciones cultivadas y 137 en las poblaciones de pastoreo. A pesar de que no existen reportes de diversidad genética en el género *Tabebuia sp* empleando marcadores tipo ISSR, los resultados obtenidos muestran que el número de *loci* es superior a lo reportado para otras especies arbóreas tropicales de hábitos similares como *Guazuma crinita* (Malvaceae) y *Mimosa caesalpiniaefolia* (Fabaceae) (Coral et al. 2016; Dos Santos et al. 2016). Además, las diferencias observadas respecto a estos índices pudieran ser atribuibles a los diferentes números de individuos y de poblaciones utilizados en cada estudio, en estudios con poblaciones con mayor número de individuos existe una tendencia de presentar mayor número de alelos.

Cuando se compararon en conjunto los datos de las tres poblaciones condición de pastoreo en relación a las tres poblaciones cultivadas, el promedio de alelos por *locus* fue de 10.7 y 11.3 (SSR) y 1.105 y 1.045 (ISSR) respectivamente (Cuadro 3). El número de alelos encontrados en las poblaciones de pastoreo resultó ser 5% menor con SSR y 5% superior con ISSR en comparación con las poblaciones cultivadas. Sin embargo, estas diferencias no resultaron significativas usando el análisis comparativo de Kruskal Wallis para SSR (P= 0.96) e ISSR (P= 0.36). Esto parece corroborar lo reportado para *Tabebuia ochracea* por Moreira et al. (2009), quienes no encontraron diferencia en los parámetros analizados entre árboles juveniles y adultos en poblaciones continuas y fragmentadas. Resultados similares se encontraron en *Centrolobium tomentosum* (Fabaceae), *Myroxylon. peruiferum* (Fabaceae), especies que presentan el apareamiento cruzado por auto-incompatibilidad, y en las que se evaluó la diversidad genética en áreas restauradas y silvestres (Zucchi et al. 2018; Cordeiro et al. 2019). La presencia de números similares de alelos en ambos

tipos de poblaciones se considera un efecto positivo del mecanismo de reproducción de las especies auto-incompatibles (López et al. 2015).

Cuando se realizó este mismo análisis comparando las seis poblaciones analizadas, independientemente de si son de pastoreo o cultivadas, se observaron diferencias genéticas significativas ($P= 0.001$) de acuerdo al análisis comparativo de Kruskal Wallis, al comparar el promedio de alelos por locus (A), heterocigosidad esperada (H_E) con marcadores SSR y alelos por locus (A) con marcadores ISSR. Los resultados muestran que la población de División del Norte tiene el valor de A más alto con 17 con SSR y de 1.55 con ISSR. Respecto a las poblaciones cultivadas, Xbacab presentó los índices A más bajos con ambos marcadores, posiblemente causado por la selección sesgada de semillas de árboles parentales con rasgos fenotípicos deseables o de pocos individuos. Derivado de esto se espera una reducción en el número de alelos, como se observó en poblaciones cultivadas en el género *Tabebuia* (Sebbenn et al. 2000; Feres et al. 2009). Por otra parte, la población de Constitución, presentó el índice de diversidad genética más bajo entre las poblaciones de pastoreo (Cuadro 3), esta población se ubica en una región altamente degradada por actividades agropecuarias, hasta el 2014 presenta un incremento de 4790 hectáreas de pastizales cultivados, en los últimos 35 años presenta una pérdida de 855 hectáreas de selva mediana subperennifolia y sabana, de acuerdo a la carta de uso de suelo y vegetación de la serie I (1980) y serie VI (2014) (INEGI 2021). Esto es consistente con el grado de fragmentación del hábitat que aumenta el aislamiento entre las poblaciones remanentes y reduce el tamaño de la población (Young et al. 1996), disminuyendo la diversidad genética en poblaciones fragmentadas en comparación con poblaciones continuas (Hall et al. 1996; Jump y Peñuelas 2006). Los esfuerzos de conservación de la especie deben aumentar en esta región y se debe evaluar a las generaciones siguientes para determinar si se trata de un cuello de botella o si existe aislamiento genético, o caso contrario que la diversidad pudiera estar recuperándose en generaciones siguientes como ocurre en

Inga vera (Fabaceae), especie que presenta mecanismos de reproducción cruzada (Neto et al. 2014).

Cuadro 3. Caracterización de seis poblaciones de *T. rosea* muestreadas en un paisaje fragmentado del bosque Maya en México, a partir de nueve SSR y cuatro ISSR. N, número de individuos; A, alelos promedio por locus, Ne, promedio de alelos efectivos; I, índice de diversidad de Shannon, Ho, heterocigosidad observada; He, heterocigosidad esperada; Fis, coeficiente de endogamia; % P, porcentaje loci polimórfico y uHe, heterocigosidad esperada no sesgada

SSR								
Población	N	A	Ne	I	Ho	He	Fis	% P
Pastoreo								
Constitución	30	3.3	1.9	0.738	0.278	0.422	0.341	88.0%
Atasta	30	11.7	6.3	1.782	0.544	0.707	0.230	100%
D. Norte	30	17.0	10.1	2.398	0.570	0.859	0.336	100%
Media	30	10.7	6.2	1.6	0.464	0.663	0.302	96 %
Cultivada								
Xbacab	30	2.9	1.9	0.712	0.260	0.409	0.364	88%
Calkiní	30	14.7	7.5	2.063	0.548	0.762	0.280	100%
Campeche	30	16.4	9.5	2.350	0.452	0.846	0.465	100%
Media	30	11.3	6.3	1.708	0.420	0.672	0.369	96%
ISSR								
Población	N	A	Ne	I	He	uHe	%P	
Pastoreo								
Constitución	30	0.604	1.105	0.115	0.071	0.072	30.20%	
Atasta	30	1.161	1.226	0.223	0.141	0.144	55.03%	
D. Norte	30	1.550	1.223	0.255	0.152	0.155	76.51%	
Media	30	1.105	1.184	0.197	0.121	0.132	53.91%	
Cultivadas								
Xbacab	30	0.497	1.066	0.079	0.046	0.047	24.83%	
Calkiní	30	1.349	1.241	0.247	0.154	0.157	66.44%	
Campeche	30	1.289	1.196	0.209	0.127	0.129	63.09%	
Media	30	1.045	1.167	0.178	0.109	0.111	51.45%	

Estructura genética

Mediante la prueba de AMOVA, no se encontraron diferencias significativas en la variación genética entre las condiciones evaluadas ($p \leq 0.01$), mientras que entre poblaciones existe una variación genética de 28 % (SSR) y 12 % (ISSR), sin embargo, el mayor porcentaje de variación genética se encontró hacia el interior de las poblaciones. Los valores estadísticos de los coeficientes F en las poblaciones estudiadas fueron altos ($F_{IT} = 0.490$), el índice de fijación o reducción de heterocigosidad interpoblacional fue de $F_{ST} = 0.215$, mientras que el intrapoblacional fue de $F_{IS} = 0.350$. Los valores de F_{ST} obtenidos de los datos de SSR indican la presencia de diferenciación genética entre las poblaciones estudiadas. Resultados similares se encontraron en la especie *Tabebuia roseo-alba* Feres et al. (2009) y *Tabebuia ochracea* empleado marcadores SSR (Moreira et al. 2009), quienes atribuyen las diferencias encontradas a la distancia entre poblaciones. Para nuestras poblaciones además puede atribuirse a la alta fragmentación del hábitat, lo que puede aportar un efecto negativo en las interacciones planta-polinizador y afectar la dispersión de los granos de polen a larga distancia (Neto et al, 2014) y aunque la dispersión de semillas de *T. rosea* es por medio del viento y a larga distancia (Vozzo 2010), pudiera estar ocurriendo un efecto fundador con pocas plantas madres al ocurrir procesos regenerativos a partir de pocos árboles que se toleran como sombreadores en las áreas de pastoreo. Para el caso de las poblaciones cultivadas puede deberse a la selección de semillas de pocos individuos semilleros. Fenómeno que puede observarse en *Araucaria angustifolia* (Araucariaceae) donde la diversidad de alelos es alta entre las poblaciones silvestres y en las plantaciones comerciales, además de que los valores de endogamia son similares en ambas condiciones (Stefenon et al.2008).

Cuadro 4. AMOVA, Variación estándar y porcentaje de variabilidad genética (SSR e ISSR) e índice de fijación (F-Statistics) con marcadores moleculares SSR

SSR						
	MS	Desv. Est.	%	Estadístico F	Valor	P
Entre condiciones	15.537	0.000	0%	Frt	-0.083	1.000
Entre poblaciones	74.303	1.169	28%	Fsr	0.275	0.001
Entre individuos	4.153	1.078	25%	Fst	0.215	0.001
Dentro de los individuos	1.998	1.998	47%	Fis	0.350	0.001
Total		4.245	100%	Fit	0.490	0.001
ISSR						
Entre condiciones	0.522	0.000	0%	-	-	-
Entre poblaciones	0.578	0.015	12%	-	-	-
Dentro de las poblaciones	0.116	0.116	88%	-	-	-
Total		0.131	100%	-	-	-

Relaciones genéticas

Los datos de SSR e ISSR empleados para la construcción de dendrogramas, demostraron que existe una inter-relación genética entre los individuos de poblaciones cultivadas y poblaciones de pastoreo, debido a que no existe un patrón de agrupamiento que separe las poblaciones analizadas ni por condiciones (pastoreo o cultivadas), ni por población analizada. Este análisis muestra que los individuos analizados se entremezclan (Figura 2). Sin embargo, esto podría estar también relacionado con aspectos evolutivos, históricos o de historia de vida de la especie, para lo cual sería recomendable realizar estudios de análisis de asignación bayesiana, para poder discernir si existe

alguna otra evidencia de agrupamiento, sin suponer la existencia de poblaciones predeterminadas (Garrido-Garduno y Vazquez- Dominguez, 2013).

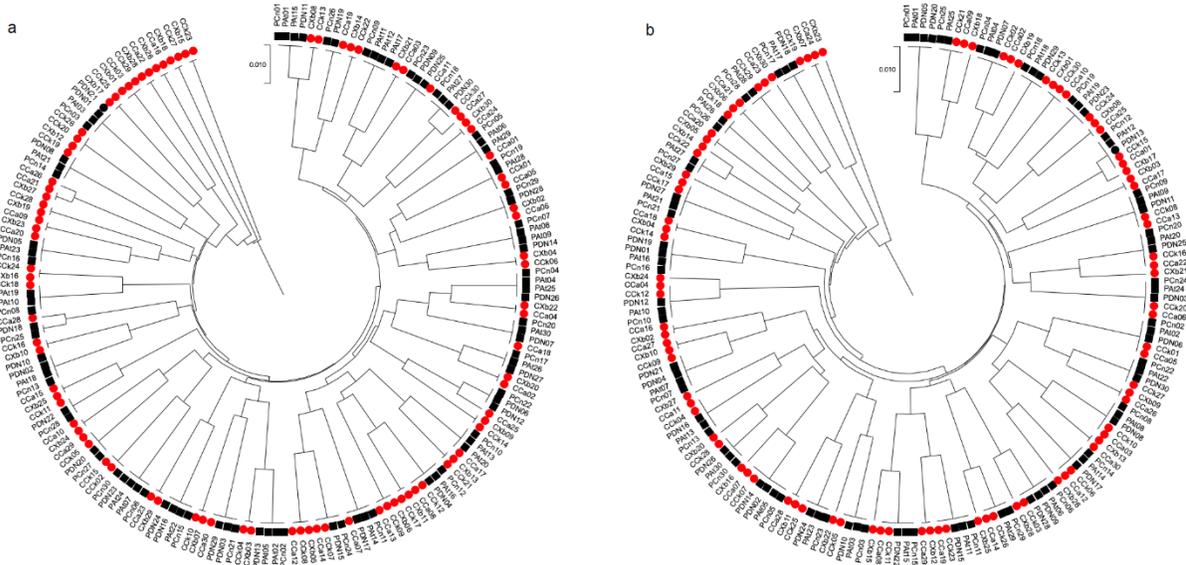


Fig. 2 Dendrograma de agrupamiento. SSR (a) - ISSR (b) similitud genética para todos los individuos muestreados en plantaciones de pastoreo (cuadros negros) y población de cultivada (círculo rojo). Las claves por individuo son de la siguiente manera, la primera letra (P o C) hace referencia a la forma de hábitat, las siguientes dos letras permiten distinguir a qué población pertenecen y por último el número del individuo.

CONCLUSIÓN

Los resultados de altos niveles de variabilidad alélica y genética en las poblaciones cultivadas y de pastoreo de *T. rosea*, puede estar relacionado con el mecanismo reproductivo de esta especie, la cual, por su auto-incompatibilidad, es capaz de capturar un acervo genético muy diverso en la progenie, el cual permite conservar la diversidad genética de la especie en cada región. Además, el mecanismo de dispersión de semillas y del polen y del poco tiempo de establecimiento de las poblaciones cultivadas. Estas propiedades de la especie pudieran contribuir a la resiliencia de la misma ante prácticas de colecta de semillas. A manera de propuesta para futuras poblaciones cultivadas es necesario considerar semillas de diferentes plantas madre, de diferentes poblaciones, que se encuentren en una misma región, que permitan mantener la diversidad genética y disminuir los niveles de endogamia. Además, es necesario realizar otros análisis genéticos para determinar si se encuentra evidencia de cuellos de botella, u otros que permitan estimar el tamaño efectivo poblacional, que permitan aportar mayor información sobre la estructura genética de la especie de estudio, además de realizar estudios con enfoque filogeográfico y de genética de la conservación, así como análisis de genética del paisaje.

LITERATURA CITADA

- Alía R, Agúndez D, Alba N, González-Martínez SC, Soto A (2003) Variabilidad genética y gestión forestal. *Ecosistemas*. Asociación Española de Ecología Terrestre, 12(3), 1-8 (hal-0268490)
- Braga AC, Reis AM, Leoi LT, Pereira RW, Collevatti RG (2007). Development and characterization of microsatellite markers for the tropical tree species *Tabebuia aurea* (Bignoniaceae). *Molecular Ecology Notes*, 7(1), 53-56. <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2006.01521.x>
- Coral LLT, Čepková PH, Lojka B, Weber JC, Alves-Milho SF (2016). Genetic diversity in *Guazuma crinita* from eleven provenances in the Peruvian Amazon revealed by ISSR markers. *Bosque*, 37(1), 63-70. <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-92002016000100007>
- Cordeiro EM, Macrini CM, Sujii PS, Schwarcz KD, Pinheiro JB, Rodrigues RR, Zucchi MI (2019) Diversity, genetic structure, and population genomics of the tropical tree *Centrolobium tomentosum* in remnant and restored Atlantic forests. *Conservation Genetics*, 20(5), 1073-1085. <https://doi.org/10.1007/s10592-019-01195-z>
- (CONAFOR) Comisión Nacional Forestal (2013) Superficies establecidas 2000-2013 de PFC con especies maderables (ha). [Consultado 2020 mayo 25], en: <http://www.conafor.gob.mx:8080/documentos/docs/5/4817Especies%20Maderables%20establecidas%20en%20PFC%20por%20a%20c3%20b1o%20.pdf>
- Dean DA, Wadl PA, Hadziabdic D, Wang X, Trigiano RN (2013) Analyzing Microsatellites Using the QIAxcel System. In: Kantartzi S. (eds) *Microsatellites. Methods in Molecular Biology (Methods and Protocols)*, vol 1006. Humana Press, Totowa, NJ. https://doi.org/10.1007/978-1-62703-389-3_16

- Dos Santos Araújo F, Pacheco MV, de Almeida Vieira F, Dos Santos Ferrari C, Félix FC, das Chagas KPT (2016). ISSR molecular markers for the study of the genetic diversity of *Mimosa caesalpiniaefolia* Benth. *Idesia*, 34(3), 47-52.
- Ellis EA, Hernández IU, Romero JA 2017. Los procesos y causas del cambio en la cobertura forestal de la Península Yucatán, México. *Ecosistemas* 26(1): 101-111. Doi.: 10.7818/ECOS.2017.26-1.16
- Ellis EA, Navarro Martínez A, García Ortega M, Hernández Gómez IU, Chacón Castillo D (2020) Forest cover dynamics in the Selva Maya of Central and Southern Quintana Roo, Mexico: deforestation or degradation? *Journal of Land Use Science*, 15(1), 25-51. <https://doi.org/10.1080/1747423X.2020.1732489>
- (FAO) Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (2014) Trends affecting forest genetic resources. In *The state of the world's forest genetic resources*. pp. 1-26
- Felsenstein J (1989) PHYLIP-Phylogeny Inference Package (Version 3.2). *Cladistics* 5:164-166. <https://doi.org/10.1111/j.1096-0031.1994.tb00179.x>
- Feres JM, Martínez ML, Martínez CA, Mestriner MA, Alzate-Marin AL (2009) Transferability and characterization of nine microsatellite markers for the tropical tree species *Tabebuia roseo-alba*. *Molecular Ecology Resources*, 9(1), 434-437. 434-437. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2008.02483.x>
- Garrido-Garduno T y Vazquez-Dominguez E (2013). Genetic, spatial and connectivity methods of analysis in landscape genetics. *Revista mexicana de biodiversidad*, 84(3), 1031-1054. DOI: 10.7550/rmb.32500

- Hall P, Walker S, Bawa K (1996). Effect of forest fragmentation on genetic diversity and mating system in a tropical tree, *Pithecellobium elegans*. *Conservation Biology*, 10(3), 757-768. <https://doi.org/10.1046/j.1523-1739.1996.10030757.x>
- Hardy OJ (2003). Estimation of pairwise relatedness between individuals and characterization of isolation-by-distance processes using dominant genetic markers. *Molecular Ecology*, 12(6), 1577-1588. <https://doi.org/10.1046/j.1365-294X.2003.01835.x>
- (INEGI) Instituto Nacional de Estadística y Geografía (México) (2017) Anuario estadístico y geográfico de Campeche 2017. Instituto Nacional de Estadística y Geografía. México: INEGI, c2017.
- (INEGI) Instituto Nacional de Estadística y Geografía (México) (2014). Uso de suelo y vegetación derivado de la serie I y VI. [Consultado 2021 mayo 17]. <https://www.inegi.org.mx/temas/usosuelo/>
- Jump AS, Peñuelas J (2006). Genetic effects of chronic habitat fragmentation in a wind-pollinated tree. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(21), 8096-8100. <https://doi.org/10.1073/pnas.0510127103>
- Kumar S, Stecher G, Li M, Knyaz C, Tamura K (2018). MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution*, 35(6), 1547-1549. <https://doi.org/10.1093/molbev/msy096>
- Loiselle, B. A., Sork, V. L., Nason, J., & Graham, C. (1995). Spatial genetic structure of a tropical understory shrub, *Psychotria officinalis* (Rubiaceae). *American journal of botany*, 82(11), 1420-1425. <https://doi.org/10.1002/j.1537-2197.1995.tb12679.x>
- López AM, Marulanda ML, Ospina CM (2015) Characterizing *Tabebuia rosea* (Bertol.) DC. Using Microsatellites in Provenance and Progeny Trials in Colombia. In: Caliskan M, Oz GC,

Kavakli IH, Ozcan B (eds) Molecular Approaches to Genetic Diversity. InTech, 1–18.
<http://dx.doi.org/10.5772/59289>

Martínez DM, Musálem CK, Pérez LH, Musálem MA (2006) Guía Silvicultural del Maculis (*Tabebuia rosea* Bertol D.C.), Árbol Tropical de Uso Múltiple en México. En: Musálem M.A. (Editor). Serie Guías Silviculturales de las Especies de Árboles de Usos Múltiples en México, sección 1 Árboles de la Región Tropical Húmeda. Especies Nativas. Programa Nacional de Investigación sobre Sistemas Agroforestales. Instituto Nacional de Investigación Forestal Agrícolas y Pecuarias. Centro de Investigación Regional del Centro. Campo Experimental Valle de México. El Horno Chapingo. 1-23

Moreira PA, Fernandes GW, Collevatti RG (2009) Fragmentation and spatial genetic structure in *Tabebuia ochracea* (Bignoniaceae) a seasonally dry Neotropical tree. *Forest Ecology and Management* 258:2690–2695. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2009.09.037>

Nei, M. (1973). Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 70(12), 3321-3323. <https://doi.org/10.1073/pnas.70.12.3321>

Neto OC, Aguiar AV, Twyford AD, Neaves LE, Pennington RT, Lopes AV (2014) Genetic and ecological outcomes of *Inga vera* subsp. *affinis* (Leguminosae) tree plantations in a fragmented tropical landscape. *PLoS One*, 9(6), e99903. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0099903>

Pennington TD, Sarukhán J (2005) Árboles tropicales de México. Manual para la identificación de las principales especies. Col. Ediciones científicas universitarias. 3ª, Ed. UNAM.FCE. 523 p

Peakall ROD y Smouse PE (2006). GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular ecology notes*, 6(1), 288-295.

- (PRONAFOR) Programa Nacional Forestal (2018) Convocatoria en el estado de Campeche para la solicitud y asignación de apoyos del componente VI. Plantaciones forestales comerciales del programa apoyos para el desarrollo forestal sustentable. [Consultado 2019 abril 29]. <https://www.gob.mx/conafor/es/documentos/reglas-de-operacion-2018>
- (PRONARE) Programa Nacional de Reforestación (2001) Evaluación del Programa Nacional de Reforestación Estado de Campeche. Comisión Nacional Forestal. Unidad de Investigación, Capacitación y Evaluación para el Desarrollo Rural de la Universidad Autónoma Chapingo. 1-45
- Quédraogo A (1997) La conservación y utilización de los recursos genéticos forestales. En: Memoria especial presentada al XI Congreso Forestal Mundial. 13-22.
- Rautner M, Leggett M, Davis F (2013) El Pequeño Libro de las Grandes Causas de la Deforestación. Programa Global Canopy: Oxford. 1-20
- Rodriguez RR, Lima RA, Gandolfi S, Nave AG (2009) On the restoration of high diversity forests: 30 years of experience in the Brazilian Atlantic Forest. *Biological conservation*, 142(6), 1242-1251. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2008.12.008>
- Sebbenn AM, Seoane CES, Kageyama PY, Vencovsky R (2000). Effects of the management on the genetic structure of caixeta (*Tabebuia cassinoides*) populations. *Scientia Forestalis*, (58), 127-143. <http://repositorio.unicamp.br/jspui/handle/REPOSIP/107248>
- Solís-Guillén I, Chaires-Pacheco M, Juárez-Gómez J, O'Connor-Sánchez A, Peña-Ramírez YJ (2017) Development of an Ideotype-based selection tool for native tropical tree breeding by smallholder planters in Mexico's Maya Forest. *Small-Scale Forestry*, 16(4), 521-534. <https://doi.org/10.1007/s11842-017-9368-z>

- Spielman D, Brook B, Frankham R (2004) Most species are not driven to extinction before genetic factors impact them. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101(42), 15261-15264. <https://doi.org/10.1073/pnas.0403809101>
- Stefenon VM, Gailing O, Finkeldey R (2008) Genetic structure of plantations and the conservation of genetic resources of Brazilian pine (*Araucaria angustifolia*). *Forest Ecology Management* 255:2718–2725. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2008.01.036>
- Vargas JJ, Bermejo B, Ledig FT (2004) Manejo de Recursos Genéticos Forestales, Segunda Edición. Colegio de Postgraduados, Montecillo, Edo. de México, y Comisión Nacional Forestal, Zapopan, Jalisco. 1-110.
- Vit P (2004) *Tabebuia rosea* (Bertol.) DC. Ficha botánica de interés apícola en Venezuela, No. 7 Apamate. *Revista de la Facultad de Farmacia*, 46, 1.
- Young A, Boyle T, Brown T (1996). The population genetic consequences of habitat fragmentation for plants. *Trends in Ecology & Evolution*, 11(10), 413-418. [https://doi.org/10.1016/0169-5347\(96\)10045-8](https://doi.org/10.1016/0169-5347(96)10045-8)
- Zucchi MI, Sujii PS, Mori GM, Viana JP, Grando C, Silvestre EDA, Brancalion PH (2018) Genetic diversity of reintroduced tree populations in restoration plantations of the Brazilian Atlantic Forest. *Restoration Ecology*, 26(4), 694-701. <https://doi.org/10.1111/rec.12620>

Capítulo 3

Conclusiones

Los resultados obtenidos nos sugieren que la diversidad genética de *T. rosea* es similar tanto en poblaciones cultivadas y poblaciones de zonas de pastoreo, independientemente de las subprovincias fisiográficas en las que se desarrolla cada una de las poblaciones estudiadas. Se observó cierta diferenciación genética entre las poblaciones. Las ubicadas en Constitución y Xbacab presentaron los valores más bajos. El índice de endogamia para todas las poblaciones fue alto.

Desde el punto de vista ecológico, se recomienda analizar un mayor número de poblaciones a una escala geográfica más amplia para tener una visión más general del estado de la conservación genética en poblaciones silvestres y cultivadas de *T. rosea* en México, así como análisis de filogeografía para identificar cuáles son los patrones más relacionados con la historia evolutiva y demografía de la especie. Para la población de la zona de pastoreo de Constitución es necesario evaluar las siguientes generaciones para determinar si es necesario hacer una introgresión de individuos con mayor riqueza genética de otras poblaciones silvestres o bien realizar estudios ecológicos como de dispersión de polinizadores y de parentesco para identificar patrones de flujo genético, para determinar si se está recuperando la diversidad presente en la región.

Desde una perspectiva económica, a pesar de no existir algún tipo de trabajo de selección de semillas que permita ofrecer a los productores semillas con un valor elevado de diversidad genética, nuestros datos recomiendan que se puede hacer uso de las semillas de las poblaciones de las diferentes subprovincias fisiográficas, debido al alto índice de diversidad genética, pero es necesario considerar un alto número de plantas madre que permita reducir la endogamia en las poblaciones cultivadas. En este sentido, para que las plantaciones de *T. rosea* puedan emplearse como fuente de germoplasma para la reforestación, restauración o restablecimiento de las poblaciones silvestres, se deberá cuidar la observación de la NMX-169 (Economía 2016) adoptando criterios de captura de diversidad fenotípica o incluso genética para su establecimiento, mismas que no necesariamente son distintas de aquellas que la Norma recomienda para la selección con

finés maderables o de otro uso. Un paso deseable sería que la NMX-169 se adecuara a las especies tropicales y pasará a ser una Norma de tipo NOM, la cual, por su observancia obligatoria, promovería un cambio en las prácticas de manejo para que las poblaciones forestales pudieran funcionar adecuadamente con ambos fines: aprovechamiento y conservación.

Es necesario que los tomadores de decisiones promuevan acciones o proyectos dirigidos a la conservación de la biodiversidad y reconozcan la importancia de los estudios de diversidad genética en especies nativas e incorporarlos en los programas nacionales de reforestación y arborización urbana, para la conservación de las especies y su aprovechamiento sostenible.

Literatura citada

- Aguirre AI, Alonso AS, Iglesias AA, Izagirre AN, Smith ZI, Zaldibar AB. 2012. Iniciación a la experimentación en el ámbito de la Biología Celular, Molecular, Genética y Evolutiva. *Phys Ther*, 7(5), 512-517.
- Badanol EI, Schlumpberger BO. 2001. Breeding System and Estimation of the Pollination Efficiency *Ontrichocereus Pasacana* (Cactaceae) in two Populations from Northwest Argentina. *Gayana*, 58(2), 115-122. <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-66432001000200002>
- Bawa SK, Webb CJ. 1984. Flower, fruit and seed abortion in tropical forest trees: implications for the evolution of paternal and maternal reproductive patterns. *American Journal of Botany*, 71(5), 736-751. <https://doi.org/10.1002/j.1537-2197.1984.tb14181.x>
- Barrett SC. 2003. Mating strategies in flowering plants: the outcrossing–selfing paradigm and beyond. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 358(1434), 991-1004. <https://doi.org/10.1098/rstb.2003.1301>
- CONAFOR] Comisión Nacional Forestal. 2013. Superficies establecidas 2000-2013 de PFC con especies maderables (ha). [Consultado 2020 mayo 25], en: <http://www.conafor.gob.mx:8080/documentos/docs/5/4817Especies%20Maderables%20establecidas%20en%20PFC%20por%20a%20c3%b1o%20.pdf>
- Ellegren H. 2009. Is genetic diversity really higher in large populations? Department of Evolutionary Biology, Uppsala University, Norbyvägen. *Journal of Biology* 8:41. Pp. 1-3. <https://doi.org/10.1186/jbiol135>
- [FAO] Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. 2002. *Revista Internacional de Silvicultura e Industrias Forestales* 209. Vol. 53. Pp1-76
- [FAO] Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. 2014. Trends affecting forest genetic resources. In *The state of the world's forest genetic resources*. pp. 1–26.

- [FAO] Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. 2015. World reference base for soil resources 2014, update 2015: International soil classification system for naming soils and creating legends for soil maps. World Soil Resources Reports No. 106, 192
- Feres JM, Martínez ML, Martínez CA, Mestriner MA, Alzate-Marin AL. 2009. Transferability and characterization of nine microsatellite markers for the tropical tree species *Tabebuia roseo-alba*. Molecular Ecology Resources. 9:434–7.. pp 434-437. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2008.02483.x>
- Gentry AH. 1992. Bignoniaceae: Part II (Tribe Tecomeae). Flora Neotropica, 1-370.
- González EA. 2011. Análisis de la Diversidad Genética en Poblaciones Naturales de Especies Vegetales Amenazadas: *Ilex perado* ssp. *Lopezlilloi* (Aquifoliaceae) *Silene nocteolens* (Caryophyllaceae) y *Sorbus aria* (Rosaceae). [Tesis de Doctorado]. Universidad de las Palmas de Gran Canaria. Departamento de Biología. 12 p. <http://hdl.handle.net/10553/6709>
- Hamrick JL. 2004. Response of forest trees to global environmental changes. Forest ecology and management, 197(1-3), 323-335. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2004.05.023>
- Hamrick J, y Godt M.1990. Allozyme diversity in plant species. Plant Population Genetics, Breeding and Germplasm Resources. Eds. AHD Brown, MT Clegg, AL Kahler, BS Weir. p 43-63.
- Hartl D, Clark A. 1997. Principles of population genetics (Vol. 116). Sunderland, MA: Sinauer associates.
- [INEGI] Instituto Nacional de Estadística y Geografía (México). 2017. Anuario estadístico y geográfico de Campeche 2017 / Instituto Nacional de Estadística y Geografía. México: INEGI, c2017.

- Jump AS, Peñuelas J. 2006. Genetic effects of chronic habitat fragmentation in a wind-pollinated tree. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(21), 8096-8100. <https://doi.org/10.1073/pnas.0510127103>
- Kalia R, Rai M, Kalia S, Singh R, Dhawan A. 2011. Microsatellite markers: an overview of the recent progress in plants. *Euphytica*, 177(3), 309-334. <https://doi.org/10.1007/s10681-010-0286-9>
- Leshner-Gordillo JM, Martínez-Sánchez JL, Orduna-Rodas P, Hernández-Carreta AI (2018). Genetic diversity of the red cedar (*Cedrela odorata*) in the state of Tabasco, Mexico. *BOSQUE*, 39(3), 411-417. <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-92002018000300411>
- López AM, Marulanda ML, Ospina CM. 2015. Characterizing *Tabebuia rosea* (Bertol.) DC. Using Microsatellites in Provenance and Progeny Trials in Colombia. In: Caliskan M, Oz GC, Kavakli IH, Ozcan B (eds) *Molecular Approaches to Genetic Diversity*. InTech, pp 1–18. <http://dx.doi.org/10.5772/59289>
- Martínez DM, Musálem CK, Pérez LH, Musálem MA. 2006. Guía Silvicultural del Maculis (*Tabebuia rosea* Bertol D.C.), Árbol Tropical de Uso Múltiple en México. En: Musálem M.A. (Editor). *Serie Guías Silviculturales de las Especies de Árboles de Usos Múltiples en México, sección 1 Árboles de la Región Tropical Húmeda. Especies Nativas. Programa Nacional de Investigación sobre Sistemas Agroforestales. Instituto Nacional de Investigación Forestal Agrícolas y Pecuarias. Centro de Investigación Regional del Centro. Campo Experimental Valle de México. El Horno Chapingo. 1-23*
- Meza SB. 2014. Identificación y Selección de Árboles Plus de las especies *Tabebuia donnell-smithii* Rose y *Tabebuia rosea* Bertol en el Soconusco, Chiapas, Mexico.[Tesis de Maestría] El Colegio de la Frontera Sur. P.12
- Moreira PA, Fernandes GW, Collevatti RG. 2009. Fragmentation and spatial genetic structure in *Tabebuia ochracea* (Bignoniaceae) a seasonally dry Neotropical tree.

- Neto OC, Aguiar AV, Twyford AD, Neaves LE, Pennington RT, Lopes AV. 2014. Genetic and ecological outcomes of *Inga vera* subsp. *affinis* (Leguminosae) tree plantations in a fragmented tropical landscape. *PLoS One*, 9(6), e99903. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0099903>
- Nora S, Albaladejo RG, González-Martínez SC, Robledo-Arnuncio JJ, Aparicio A. 2011. Movimiento de genes (polen y semillas) en poblaciones fragmentadas de plantas. *Ecosistemas* 20(2-3):35-45.
- Nuez F, y Carillo J. 2000. Los Marcadores Genéticos en la Mejora Vegetal. Universidad Politécnica de Valencia. Sociedad Española de Genética. Valencia, España.
- Pennington TD, Sarukhán J. 2005. Árboles tropicales de México. Manual para la identificación de las principales especies. Col. Ediciones Científicas Universitarias. 3ª, Ed. UNAM.FCE. 523p
- (PRONAFOR) Programa Nacional Forestal. 2018. Convocatoria en el estado de Campeche para la solicitud y asignación de apoyos del componente VI. Plantaciones forestales comerciales del programa apoyos para el desarrollo forestal sustentable. [Consultado 2019 abril 29]. <https://www.gob.mx/conafor/es/documentos/reglas-de-operacion-2018>
- (PRONARE) Programa Nacional de Reforestación. 2001. Evaluación del Programa Nacional de Reforestación Estado de Campeche. Comisión Nacional Forestal. Unidad de Investigación, Capacitación y Evaluación para el Desarrollo Rural de la Universidad Autónoma Chapingo. 1-45
- Raggio M. 2016. Evaluación de la Diversidad Genética en Dos Tipos de Poblaciones de *Tabebuia rosea* (Bertol) D.C. en el Estado de Campeche. [Tesis de Maestría] El Colegio de la Frontera Sur. 1-36 pp

- Randall A, Inouye B, Johnson M, Underwood N, Vellend M. 2008. Ecological consequences of genetic diversity. *Ecology Letters*. pp.609-623
<https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2008.01174.x>
- Rentería-Alcántara, M. 2007. Breve revisión de los marcadores moleculares. En: Eguiarte L, Sousa V y Aguirre X. (Compiladores). *Ecología Molecular*. Primera edición. Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales, Instituto Nacional de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México, Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, p. 541-566.
- Rocha M, Gasca J. 2007. *Ecología molecular de la conservación*. En: Eguiarte L, Sousa V y Aguirre X. (Copiladores). *Ecología Molecular*. Primera edición. Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales, Instituto Nacional de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México, Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. Pp. 251
- Rosas F, Quesada M, Lobo JA, Sork VL (2011) Effects of habitat fragmentation on pollen flow and genetic diversity of the endangered tropical tree *Swietenia humilis* (Meliaceae). *Biological Conservation*, 144(12), 3082-3088.
<https://doi.org/10.1016/j.biocon.2011.10.003>
- Rzedowski J. 2006. *Vegetación de México, Algunas observaciones sobre los factores que determinan la distribución de la vegetación*. Primera edición. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. p 154-159
- (SEMARNAT y CONAFOR) Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales y Comisión Nacional Forestal. 2014. *Inventario Estatal Forestal y de Suelos – Campeche 2013*. Colección de Inventarios Estatales Forestales y de Suelos 2013-2014. Pp 41-55
- Solís-Guillén I, Chaires-Pacheco M, Juárez-Gómez J, O'Connor-Sánchez A, y Peña-Ramírez YJ. 2017. Development of an Ideotype-based selection tool for native tropical tree breeding by smallholder planters in Mexico's Maya Forest. *Small-Scale Forestry*, 16(4), 521-534. <https://doi.org/10.1007/s11842-017-9368-z>

- Spielman D, Brook B, y Frankham R. 2004. Most species are not driven to extinction before genetic factors impact them. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101(42), 15261-15264. <https://doi.org/10.1073/pnas.0403809101>
- Tautz D. 1989. Hipervariabilidad de secuencias simples como fuente general de marcadores de ADN polimórficos. *Investigación de Ácidos Nucleicos*, 17 (16), 6463-6471.
- Templeton AR. 2006 *Population Genetics and Microevolutionary Theory*. John Wiley & Sons. Hoboken, New Jersey, USA.
- Uribe Botero, E. (2015). El cambio climático y sus efectos en la biodiversidad en América Latina. [Consultado 2021 julio 09] https://repositorio.cepal.org/bitstream/handle/11362/39855/S1501295_en.pdf;jsessionid=AF9418A272BD5F733E7D1CE37DA58E66?sequence=1
- Vargas H, Basilio BJ, Ledig FT. 2004. Manejo de Recursos Genéticos Forestales. Segunda edición. Colegio de Postgraduados, Montecillo, México y Comisión Nacional Forestal, Zapopan, Jalisco. 1-110
- Vicario AL. 2002. Estudio comparativo de la diversidad genética de germoplasma comercial de soja (*Glycine max* (L.) Merr.) y variedades tradicionales. [Tesis de Doctorado] Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales) 15-18 p.
- Vinson CC, Margarative E, Sebben AM, Lander TA. 2018. Using molecular markers to investigate genetic diversity, mating system and gene flow of Neotropical trees. *Brazilian Journal of Botany*, 41(2), 481-496. <https://doi.org/10.1007/s40415-018-0472-x>
- Vit P. 2004. PATRICIA, V. (2004). *Tabebuia rosea* (Bertol.) DC. Ficha botánica de interés apícola en Venezuela, No. 7 Apamate. *Revista de la Facultad de Farmacia*, 46, 1.

Vozzo JA. 2010. Vozzo, J. A. (2010). Manual de semillas de árboles tropicales. Departamento de Agricultura de Estados Unidos, Servicio Forestal. P 726.

Zhang L, Bernard M, Leroy P, Feuillet C, Sourdille P. 2005. High transferability of bread wheat EST-derived SSRs to other cereals. *Theoretical and Applied Genetics*, 111(4), 677-687. <https://doi-org.ezproxy.ecosur.mx/10.1007/s00122-005-2041-5>