



**COLEGIO DE POSTGRADUADOS**

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

**CAMPUS MONTECILLO**

**POSTGRADO FORESTAL**

Estructura poblacional y genética de  
*Fagus grandifolia* subsp. *mexicana*

**DIEGO MONTIEL OSCURA**

**T E S I S**

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL  
PARA OBTENER EL GRADO DE:

**MAESTRO EN CIENCIAS**

MONTECILLO, TEXCOCO, ESTADO DE MÉXICO

2011

La presente tesis titulada "Estructura poblacional y genética de *Fagus grandifolia* subsp. *mexicana*", realizada por DIEGO MONTIEL OSCURA bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

**MAESTRO EN CIENCIAS  
FORESTAL**

**Consejo Particular**

CONSEJERO



Dr. Carlos Ramírez Herrera

ASESOR



Dr. Gregorio Angeles Pérez

ASESOR



Dr. Javier López Upton

ASESOR



Dr. Pedro Antonio López

El presente trabajo se llevo a cabo bajo el financiamiento del Fondo Sectorial de Investigación para la Educación SEP - CONACyT a través del proyecto **44872** “Dinámica y productividad del bosque mesófilo de montaña en la Sierra Hidalguense” y de la Dirección de Investigación del Colegio de Postgraduados a través del Fideicomiso Revocable de Administración e Inversión numero **167304**.

## AGRADECIMIENTOS

Quiero ofrecer mi más sincero agradecimiento a las siguientes personas e instituciones:

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el soporte financiero para la realización de mis estudios de postgrado.

Al Colegio de Postgraduados por brindarme la oportunidad y facilidades para mi formación como Maestro en Ciencias.

Al Fondo Sectorial de Investigación para la Educación SEP-CONACyT a través del proyecto 44872: “Dinámica y productividad del bosque mesófilo de montaña en la Sierra Hidalguense”, y al Fideicomiso Revocable de Administración e Inversión número 167304 de la Dirección de Investigación del Colegio de Postgraduados por el financiamiento para esta investigación.

Al Dr. Carlos Ramírez Herrera por su invaluable amistad, paciencia, confianza, compromiso y dedicación durante el desarrollo de mi formación académica y de esta investigación.

Al Dr. Gregorio Ángeles Pérez por su amistad, su paciencia, su apoyo en las salidas a campo, y sus importantes aportaciones al desarrollo del presente trabajo.

Al Dr. Javier López Upton por su valiosa amistad, su desinteresada gestión de recursos y materiales para las salidas a campo y el trabajo en laboratorio, y por las sugerencias hechas al presente escrito.

Al Dr. Pedro Antonio López por su amistad y disponibilidad para enriquecer este trabajo con sus importantes observaciones.

A los profesores del Postgrado Forestal que intervinieron en mi formación académica y humana. Así mismo, al personal administrativo y de apoyo del Postgrado Forestal quienes me brindaron su ayuda y amistad durante mis estudios y periodo de investigación, en especial a Maru y a Lupita.

A mis amigos y colegas: Carlos López, Iván Zamudio, Oscar Hernández, Luis Echegaray, Yovany Parra, Francisco López, Emmanuel Ibarra, Wenceslao Santiago y Liliana Muñoz. Por su ayuda en el trabajo de campo y por los buenos momentos compartidos; por estar conmigo siempre.

## DEDICATORIA

*Dedico este esfuerzo con todo mi amor a mis padres:*

*Ma. Asunción Oscura y Jorge Montiel,*

*quienes son el mejor ejemplo de trabajo y perseverancia que tengo.*

*Gracias por apoyarme siempre.*

## CONTENIDO

AGRADECIMIENTOS .....	i
DEDICATORIA.....	ii
CONTENIDO .....	iii
LISTA DE CUADROS .....	v
LISTA DE FIGURAS .....	vi
RESUMEN .....	1
ABSTRACT .....	2
<b>CAPITULO 1. INTRODUCCIÓN GENERAL .....</b>	<b>3</b>
<b>CAPITULO 2: ESTRUCTURA Y COMPOSICIÓN DE ESPECIES ARBÓREAS DE TRES BOSQUES DE</b> <b><i>Fagus grandifolia</i> subsp. <i>mexicana</i> .....</b>	<b>5</b>
RESUMEN .....	5
SUMMARY .....	6
INTRODUCCIÓN .....	7
MATERIALES Y MÉTODOS.....	9
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	12
Características edáficas .....	12
Estructura arbórea .....	13
Composición arbórea .....	15
CONCLUSIONES.....	18
<b>CAPITULO 3: VARIACIÓN ALOENZIMÁTICA DE <i>Fagus grandifolia</i> subsp. <i>mexicana</i> .....</b>	<b>19</b>
RESUMEN .....	19
SUMMARY .....	20
INTRODUCCIÓN .....	21
MATERIALES Y MÉTODOS.....	23
Material vegetativo.....	23
Diversidad aloenzimática .....	24
Tamaño y densidad de las poblaciones.....	25

Análisis estadístico .....	26
<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>28</b>
Diversidad aloenzimática .....	28
Tamaño y densidad de las poblaciones.....	34
<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>36</b>
<b>CAPITULO 4: DISCUSION GENERAL Y CONCLUSIONES .....</b>	<b>37</b>
LITERATURA CITADA .....	39

## LISTA DE CUADROS

Cuadro	Página
2.1. Coordenadas geográficas y superficie de tres poblaciones de <i>Fagus grandifolia</i> subsp. <i>mexicana</i> .....	9
2.2. Granulometría y composición química del suelo de tres poblaciones de <i>Fagus grandifolia</i> subsp. <i>mexicana</i> .....	12
2.3. Densidad, área basal y frecuencias absolutas y relativas de las especies arbóreas de tres bosques de <i>Fagus grandifolia</i> subsp. <i>mexicana</i> , ordenadas de acuerdo al Índice de Valor de Importancia Relativa (IVIR).....	16
3.1. Localización geográfica de siete poblaciones de <i>Fagus grandifolia</i> subsp. <i>mexicana</i> . ....	23
3.2. Clases de alelos encontrados en siete poblaciones de <i>Fagus grandifolia</i> subsp. <i>mexicana</i> .....	28
3.3. Parámetros de diversidad genética ( $\pm$ error estándar) de siete poblaciones de <i>Fagus grandifolia</i> subsp. <i>mexicana</i> .....	29
3.4. Estructura genética de nueve loci polimórficos de siete poblaciones de <i>Fagus grandifolia</i> subsp. <i>mexicana</i> . ....	31
3.5. Distancias genéticas de Nei entre siete poblaciones de <i>Fagus grandifolia</i> subsp. <i>mexicana</i> .....	33
3.6. Área, densidad y número estimado de individuos en siete poblaciones de <i>Fagus grandifolia</i> subsp. <i>mexicana</i> .....	34

## LISTA DE FIGURAS

Figura	Página
<b>2.1.</b> Distribución del arbolado de acuerdo a su categoría diamétrica en los bosques de Agua Fría (A), Tutotepec I (B) y Tutotepec II (C) (el área en negro representa a los individuos de <i>Fagus grandifolia</i> subsp. <i>mexicana</i> ). .....	14
<b>3.1.</b> Dendrograma basado en las distancias genéticas (Nei, 1978) de siete poblaciones de <i>Fagus grandifolia</i> subsp. <i>mexicana</i> .....	33

## ESTRUCTURA POBLACIONAL Y GENÉTICA DE *Fagus grandifolia* subsp. *mexicana*

### RESUMEN

*Fagus grandifolia* Ehrh. subsp. *mexicana* (Martínez) A. E. Murray, especie en estatus en la NOM059-SEMARNAT-2010, crece en poblaciones aisladas en la Sierra Madre Oriental. En el presente estudio se describió el tamaño, densidad, estructura y composición arbórea de tres bosques de *F. grandifolia* subsp. *mexicana* de reciente ubicación en los estados de Hidalgo y Nuevo León. También, se estimó la diversidad genética de siete poblaciones a través de electroforesis en geles de almidón. El número total de árboles en Tutotepec I y Tutotepec II en el Estado de Hidalgo, y Agua Fría en el Estado de Nuevo León fue 3,895, 6,758 y 4056, respectivamente. Árboles maduros con diámetro normal mayor a 20 cm dominaron en los tres bosques. El área basal varió entre 11.8 y 63.9 m<sup>2</sup> ha<sup>-1</sup>. En las siete poblaciones de esta especie se encontró el 52.8 % de loci polimórficos, y 1.9 alelos promedio por locus. La heterocigosidad esperada y heterocigosidad observada promedio fueron 0.209 y 0.250, respectivamente. La mayoría de la diversidad genética (95.5 %) se encontró dentro de poblaciones. El flujo génico (Nm) fue 5.26 individuos por generación. Con base en los resultados se sugiere una estrategia de conservación *in situ* de todas las poblaciones, combinada con conservación *ex situ*.

## POPULATION AND GENETIC STRUCTURE OF *Fagus grandifolia* subsp. *mexicana*

### ABSTRACT

*Fagus grandifolia* Ehrh. subsp. *mexicana* (Martínez) A. E. Murray, a threatened species included on the NOM059-SEMARNAT-2010, occurs in the Sierra Madre Oriental. The population size expressed as total number of trees, tree density, forest structure, and arboreal species composition of three *F. grandifolia* subsp. *mexicana* forests recently discovered in Hidalgo and Nuevo León states were estimated. Also, I estimated the genetic diversity of seven populations through electrophoresis in starch gels. The estimated number of trees in Tutotepec I, Tutotepec II, in Hidalgo State, and Agua Fría in Nuevo Leon State was 3,895, 6,758 and 4,056, respectively. Diameters at breast height in old trees were higher than 20 cm. The basal area ranged between 11.8 and 63.9 m<sup>2</sup> ha<sup>-1</sup>. In the seven populations the percentage of polymorphic loci was 52.8 %, and the number of alleles per locus was 1.9. The expected heterozygosity and observed heterozygosity were 0.209 and 0.250, respectively. Most genetic diversity (95.5%) was found within the populations. The gene flow rate (Nm) was 5.26 individuals by generation. All populations should be considered to be included in conservation programs for the species combining both *in situ* and *ex situ* conservation.

## CAPITULO 1. INTRODUCCIÓN GENERAL

*Fagus grandifolia* Ehrh. subsp. *mexicana* (Martínez) A. E. Murray es una especie endémica de México incluida en la lista de especies en estatus en la NOM-059-SEMARNAT-2010 (SEMARNAT, 2010). Esta especie se distribuye en siete pequeñas poblaciones registradas, en altitudes entre los 1400 y 2000 m.s.n.m en la Sierra Madre Oriental, en los Estados de Hidalgo, Tamaulipas y Veracruz, con precipitaciones anuales superiores a los 1000 mm, pendientes mayores a 75%, en el Bosque Mesófilo de Montaña (Peters, 1991; Rzedowsky, 1996; Williams-Linera *et al.*, 2003). El cambio de uso de suelo ha sido la principal causa de la reducción y desaparición de las poblaciones de esta especie (Williams-Linera *et al.*, 2003). El hábitat donde crece *F. grandifolia* subsp. *mexicana* tienen una combinación única de atributos climáticos los cuales pueden ser afectados por el cambio climático, por lo cual urge implementar estrategias que permitan la conservación de la especie (Téllez-Valdéz *et al.* 2006).

El desarrollo de estrategias de conservación de cualquier especie requiere del conocimiento de la ubicación y estructura de sus poblaciones, así como de la variación genética (White *et al.*, 2007). El análisis de la estructura de poblaciones proporciona elementos para manipular los recursos a favor de promover o mantener el crecimiento poblacional (Busing, 1998). Los análisis genéticos en especies arbóreas de distribución restringida son importantes para determinar si la fragmentación se debe al decline genético o a procesos demográficos normales (Pautasso, 2009). Conocer la estructura genética de las poblaciones de árboles forestales es indispensable para implementar una conservación

efectiva y entender los mecanismos evolutivos que actúan (Slavov y Zhelev, 2004). La diversidad genética de una especie es fundamental para mantener el potencial evolutivo que permita a ésta adaptarse a cambios ambientales (Ledig *et al.*, 1998). Un manejo de las poblaciones de *F. grandifolia* subsp. *mexicana* permitirá la preservación de la especie en el Bosque Mesófilo de Montaña.

En base a lo anterior, en el presente estudio se plantearon los objetivos siguientes: 1) caracterizar la estructura y composición arbórea de tres bosques de *F. grandifolia* subsp. *mexicana* de reciente localización en la Sierra Madre Oriental; 2) determinar el nivel de diversidad aloenzimática dentro y entre poblaciones de *F. grandifolia* subsp. *mexicana*; 3) determinar la relación entre los parámetros de diversidad genética y el tamaño y la densidad de las poblaciones; y 4) proponer una estrategia de conservación genética de la especie.

## CAPITULO 2: ESTRUCTURA Y COMPOSICIÓN DE ESPECIES ARBÓREAS DE TRES BOSQUES DE *Fagus grandifolia* subsp. *mexicana*

### RESUMEN

*Fagus grandifolia* subsp. *mexicana*, especie arbórea endémica de México incluida en la NOM-059-SEMARNAT-2010, se distribuye en siete bosques aislados en la Sierra Madre Oriental. En el presente estudio se determinaron la ubicación, características ecológicas, estructura y composición de especies arbóreas en tres bosques de *Fagus grandifolia* subsp. *mexicana* de localización reciente, a través del muestreo de suelos y vegetación. Los bosques, identificados como Tutotepec I y Tutotepec II en el Estado de Hidalgo, y Agua Fría en el Estado de Nuevo León, tuvieron superficies de 19, 31 y 26 ha, y elevación promedio de 1840, 1825 y 1830 m, respectivamente. La exposición norte y pendientes mayores a 75 % predomina en los tres bosques; árboles con diámetros normales mayores a 20 cm dominan en los tres bosques de *F. grandifolia* subsp. *mexicana*. La densidad de los árboles de esta especie varió de 156 a 218 individuos ha<sup>-1</sup>, y representó entre el 38 y 68% del total de la densidad en cada bosque. El área basal de *F. grandifolia* subsp. *mexicana* varió entre 11.8 y 63.9 m<sup>2</sup> ha<sup>-1</sup>, y representó el 67% del área basal total en Agua Fría, el 88% en Tutotepec I y el 91% en Tutotepec II. El tamaño estimado de los tres bosques sumó 14,709 individuos. Los suelos fueron ácidos, de areno franco, a franco limosos. *F. grandifolia* subsp. *mexicana* fue la especie arbórea más importante en los tres bosques.

**Palabras clave:** *Fagus grandifolia* subsp. *mexicana*, estructura, composición arbórea.

## SUMMARY

*Fagus grandifolia* subsp. *mexicana*, an endemic tree species included on the list of the NOM-059-SEMARNAT-2011, grows in seven isolated woodlands in the Sierra Madre Oriental. In the present study, the number of trees, tree density, structure and composition of three woodlands recently located in Hidalgo and Nuevo León states were assessed. The estimated number of trees in Tutotepec I, Tutotepec II, both woodlands in Hidalgo State, and Agua Fria in Nuevo Leon State was 3,895, 6,758 and 4,056, respectively. Bole diameters, at 1.30 m above the ground in old trees, were higher than 20 cm. The basal area ranged between 11.8 and 63.9 m<sup>2</sup> ha<sup>-1</sup>. North exposition and slopes above 75 % were common in the three woodlands of *F. grandifolia* subsp. *mexicana*. The density ranged from 156 to 218 trees ha<sup>-1</sup>. *F. grandifolia* subsp. *mexicana* contributed with 67 % of the total density in the woodland in Agua Fria, 88% in Tutotepec I and 91% in Tutotepec II. Organic-sandy soils with low pH were present in the three woodlands. The total number of trees in the three woodlands was 14,709. *F. grandifolia* subsp. *mexicana* was the most important tree species in the three woodlands.

**Keywords:** *Fagus grandifolia* subsp. *mexicana*, structure, tree composition.

## INTRODUCCIÓN

*Fagus grandifolia* Ehrh. subsp. *mexicana* (Martínez) A. E. Murray fue clasificado por primera vez en México como *Fagus mexicana* (Martínez, 1940). A partir de la identificación de esta especie en México, se reportó en diferentes estudios la localización de diez bosques ubicados en altitudes entre 1400 y 2000 m.s.n.m. en los que *F. grandifolia* subsp. *mexicana* crecía en la Sierra Madre Oriental, en los estados de Hidalgo, Tamaulipas, Puebla, Veracruz y San Luis Potosí (Miranda y Sharp, 1950; Hernández *et al.*, 1951; Fox y Sharp, 1954; Little, 1965; Puig *et al.*, 1983; Williams-Linera *et al.*, 1996;). Tres de los diez bosques conocidos fueron reportados como extintos en 2003 como consecuencia del cambio de uso del suelo (Williams-Linera *et al.* 2003).

El conocimiento de los requerimientos ecológicos y dinámica poblacional de *F. grandifolia* subsp. *mexicana* es fundamental en el establecimiento de estrategias encaminadas a la conservación de esta especie, la cual se incluyó en la lista de especies en estatus en México (Williams-Linera *et al.* 2000; SEMARNAT, 2010). La localización de nuevas poblaciones de una especie que se encuentra en alguna categoría de riesgo, como es el caso de *F. grandifolia* subsp. *mexicana*, tiene implicaciones en la propuesta de estrategias de conservación considerando las características ambientales y asociaciones vegetales en los bosques donde la especie de interés crece (Meffe y Carrol, 1994); además, se pueden encontrar genes privados en esa población que contribuyen a un incremento en la diversidad genética de la especie, aumentando la posibilidad de adaptación a cambios ambientales (White, 2007).

El conocimiento de la estructura de una población, la abundancia relativa y distribución de los árboles en relación al tamaño y edad, proporciona elementos para promover o mantener el crecimiento poblacional (Busing, 1998; Veblen, 1992). Por lo antes expuesto, los objetivos del presente estudio fueron: 1) determinar características ecológicas de tres bosques de *F. grandifolia* subsp. *mexicana* de reciente localización; 2) analizar la composición arbórea de los bosques en donde crece *F. grandifolia* subsp. *mexicana*; 3) caracterizar la estructura de los tres bosques en base a diámetro normal, densidad y área basal; y 4) estimar el tamaño de poblaciones incluidas en el presente estudio.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Dos bosques donde crece *Fagus grandifolia* subsp. *mexicana*, identificados como Tutotepec I y Tutotepec II, se localizaron en el municipio de San Bartolo Tutotepec, Estado de Hidalgo, y el tercer bosque, identificado como Agua Fría, en el municipio de Aramberri, Estado de Nuevo León con exposición predominantemente Norte, y pendiente mayor a 75%. (Cuadro 2.1). La ubicación geográfica y la poligonal de cada bosque se determinaron con un Sistema de Posicionamiento Global (GPS). Posteriormente, se estimó el área del polígono con el programa ArcView 3.2. En cada bosque se ubicaron al azar ocho sitios circulares de un 0.1 ha. Se registró la exposición y midió la pendiente de cada sitio utilizando brújula y clinómetro, respectivamente.

**Cuadro 2.1.** Coordenadas geográficas y superficie de tres poblaciones de *Fagus grandifolia* subsp. *mexicana*

Estado	Población	Latitud N	Longitud O	Altitud (msnm)	Superficie (ha)
Nuevo León	Agua Fría	24° 02'	99° 42'	1830	26
Hidalgo	Tutotepec I	20° 25'	98° 15'	1840	19
	Tutotepec II	20° 25'	98° 14'	1825	31

Se colectó una muestra de suelo a los 15 a 30 cm de profundidad en cada uno de los sitios, y las ocho muestras correspondientes a cada bosque se mezclaron para así obtener tres muestras finales, las cuales se enviaron al Laboratorio Central Universitario del Departamento de Suelos de la Universidad Autónoma Chapingo para el análisis

granulométrico y de composición química (Chapman y Pratt, 1979). El pH del suelo se determinó por el método potenciométrico relación agua-suelo 1:2 (Chapman y Pratt, 1979); el contenido de materia orgánica (MO) mediante el método de Walkley y Black; la densidad aparente (Dap) por el método de la probeta, el contenido de nitrógeno (N) fue extraído con cloruro de potasio 2N y determinado por arrastre de vapor, el contenido de fósforo (P) por el método Bray P-1, el contenido de potasio (K) fue extraído en acetato de amonio 1.0N pH 7.0 relación 1:20 y determinado por espectrofotometría de emisión de flama. El contenido de calcio (Ca) y magnesio (Mg) fue extraído en acetato de amonio 1.0N pH 7.0 relación 1:20 y determinado por espectrofotometría de absorción atómica. El contenido de hierro (Fe), cobre (Cu), zinc (Zn) y manganeso (Mn), fue extraído con DTPA relación 1:4 y determinado por espectrofotometría de absorción atómica; el contenido de boro (B) fue extraído con  $\text{CaCl}_2$  1.0M y determinado por fotolorimetría de Azometina-H (Chapman y Pratt, 1979).

En cada sitio se midió el diámetro normal de todos los individuos de especies leñosas que tuvieron al menos 2.5 cm. La densidad (árboles  $\text{ha}^{-1}$ ) y el área basal ( $\text{m}^2 \text{ha}^{-1}$ ) de las especies de cada bosque se calcularon con los datos obtenidos en los sitios de muestreo. Se estimó el tamaño de cada población de *F. grandifolia* subsp. *mexicana* (número de individuos/población) multiplicando la densidad por la superficie. Las diferencias entre los valores de área basal y densidad de los bosques de *F. grandifolia* subsp. *mexicana* estudiadas se examinaron mediante un análisis de varianza (ANOVA), en el entendido de que éstas tienen una distribución normal; se usó el método de Tukey-Kramer para identificar diferencias significativas entre medias. Las relaciones entre área basal y densidad de individuos de *Fagus grandifolia* subsp. *mexicana* y otros árboles, se calcularon con el

coeficiente de correlación de Pearson. Todas las pruebas estadísticas se hicieron utilizando el software estadístico SAS 8.2 (SAS Institute Inc, 2001).

Las especies arbóreas encontradas en cada bosque se clasificaron de acuerdo a su Índice de Valor de Importancia Relativa (IVIR), el cual se obtuvo al dividir entre tres la suma de la densidad, área basal y frecuencia relativa (Curtis y McIntosh, 1951; Williams-Linera *et al.*, 2003). Se calificó la sanidad de la vegetación de cada sitio en escala de 1 – 3, en donde 1 = buena, 2 = intermedia y 3 = mala. La presencia de disturbio se calificó de 0 – 3 en donde: 0 = ausencia de disturbio, 1 = evidencias aisladas de cosecha de madera, 2 = evidencias de cosecha aislada y rastro de ganado, 3 = cosecha de madera, presencia de ganado y compactación del suelo; Las variables antes mencionadas se promediaron para cada uno de los sitios, y fueron la base para identificar los bosques en alguna de las categorías siguientes: buena calidad (1), calidad media (2) y baja calidad (3).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Características edáficas

El pH en los tres poblaciones fue bajo. El bosque en Agua Fría tuvo la acidez y el contenido de materia orgánica mayor, así como el menor contenido de fósforo, calcio, cobre, zinc y manganeso (Cuadro 2.2). A diferencia de los bosques en Tutotepec, el suelo en Agua Fría presentó mayor proporción de arena, y mayor concentración de boro, fierro y potasio (Cuadro 2.2).

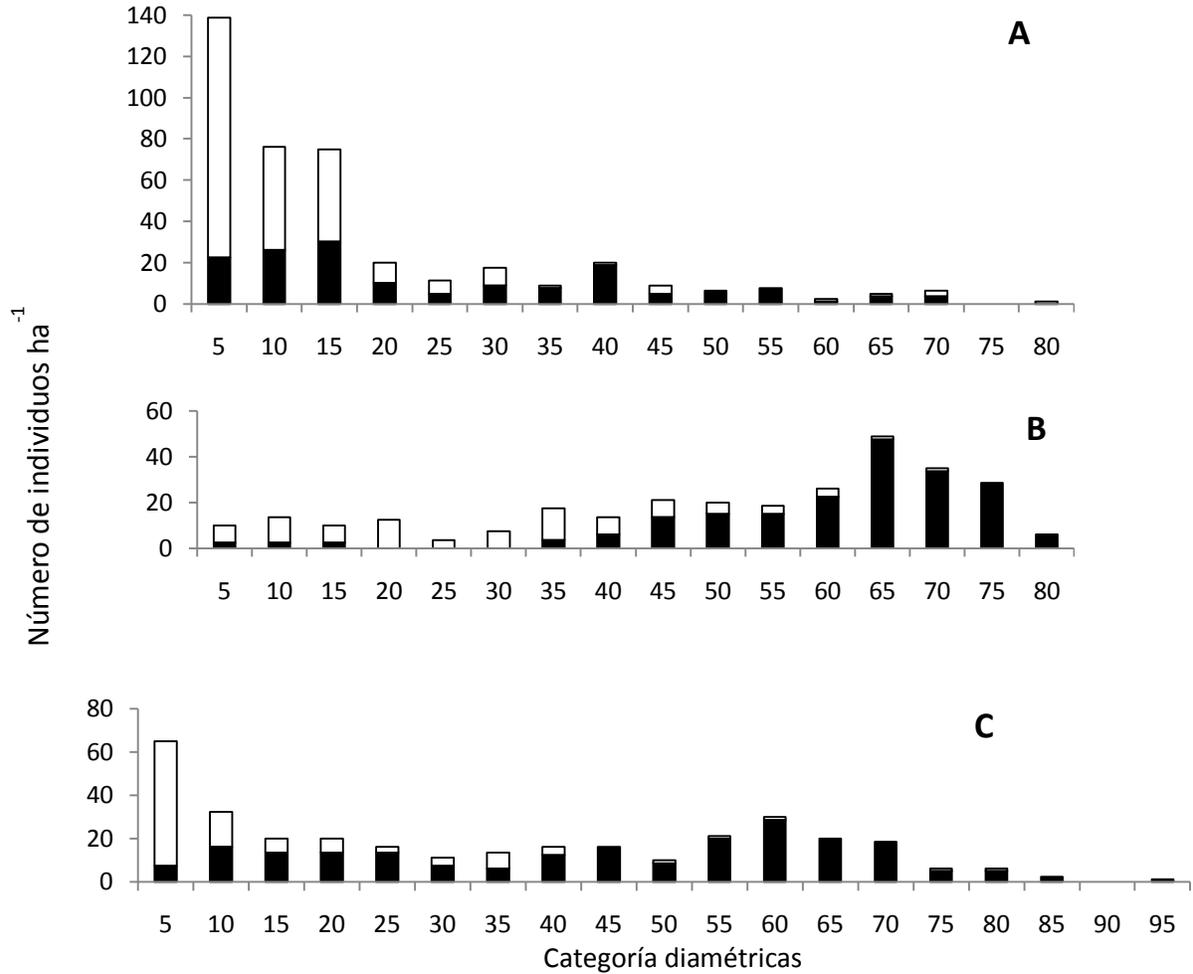
**Cuadro 2.2.** Granulometría y composición química del suelo de tres poblaciones de *Fagus grandifolia* subsp. *mexicana*

	Población		
	Agua Fría	Tutotepec I	Tutotepec II
pH	4.0	4.9	5.12
MO (%)	20.84	14.12	5.38
Arena (%)	79.8	51.8	29.8
Limo (%)	13.6	33.6	53.6
Arcilla (%)	6.7	14.7	16.7
Textura	Areno Francoso	Franco	Franco Limoso
N (mg Kg <sup>-1</sup> )	155.8	147.5	194.8
P (mg Kg <sup>-1</sup> )	8.06	28.78	23.39
K (mg Kg <sup>-1</sup> )	252	200	126
Ca (mg Kg <sup>-1</sup> )	147	2014	2560
Mg(mg Kg <sup>-1</sup> )	117	276	241
Fe (mg Kg <sup>-1</sup> )	320.94	227.25	181.24
Cu (mg Kg <sup>-1</sup> )	0.33	1.81	1.93
Zn (mg Kg <sup>-1</sup> )	1.83	12.22	7.94
Mn (mg Kg <sup>-1</sup> )	2.97	47	41.86
B (mg Kg <sup>-1</sup> )	5.21	0.74	1.72
Dap (Ton /m <sup>3</sup> )	0.71	0.89	0.85

## Estructura arbórea

El diámetro normal de los individuos de *F. grandifolia* subsp. *mexicana* en los tres bosques varió de 5 a 95 cm (Figura 2.1 A, B y C). En el bosque en Agua Fría, el diámetro normal del 50 % de los árboles de *F. grandifolia* subsp. *mexicana* fue mayor a 20 cm. En este bosque, *F. grandifolia* subsp. *mexicana* representó el 67.8 % del total del arbolado presente; el diámetro normal del 96.5% de los árboles de *F. grandifolia* subsp. *mexicana* en Tutotepec I fue mayor a 20 cm, lo que representó el 74.2 % del total del arbolado con diámetro normal mayor a 20 cm; y en Tutotepec II, el diámetro normal del 82.5 % de los individuos de *F. grandifolia* subsp. *mexicana* fue mayor a 20cm. Esto representó el 85.7 % del total de arbolado en esta categoría. Lo anterior indica que los tres bosques de *F. grandifolia* subsp. *mexicana* estuvieron conformadas principalmente por árboles de diámetros grandes, situación que se hace más evidente en la población de Tutotepec I, en donde la presencia de arbolado con diámetro normal menor a 20 cm fue de 3.5 %. Otros bosques de *F. grandifolia* subsp. *mexicana* presentaron características similares (Álvarez-Aquino y Williams-Linera, 2002; Williams-Linera *et al.*, 2003; Godínez-Ibarra *et al.*, 2007).

La densidad de todos los árboles con diámetro normal mayor a 2.5 cm (densidad total) en los tres bosques incluidos en el presente estudio varió entre 299 y 405 individuos  $\text{ha}^{-1}$  (Cuadro 2.3); la densidad entre bosques no fue significativamente diferente ( $F=2.03$ ,  $P=0.1562$ ). Los individuos de *F. grandifolia* subsp. *mexicana* representaron entre el 39 y el 69% de la densidad total de cada bosque (Cuadro 2.3). La densidad total y la densidad de *F. grandifolia* subsp. *mexicana* mostraron una correlación baja ( $r^2=0.56$ ,  $P=0.004$ ).



**Figura 2.1.** Distribución del arbolado de acuerdo a su categoría diamétrica en los bosques de Agua Fría (A), Tutotepec I (B) y Tutotepec II (C) (el área en negro representa a los individuos de *Fagus grandifolia* subsp. *mexicana*).

El área basal de todos los árboles con diámetro normal mayor a 2.5 cm (área basal total) fue significativamente diferente ( $F=5.09$ ,  $P=0.0158$ ) en los tres bosques, y varió entre 17.77 y 72.42 m<sup>2</sup> ha<sup>-1</sup>. Los árboles de *F. grandifolia* subsp. *mexicana* representaron entre el 67 y el 91% del área basal total de cada bosque (Cuadro 3). Se ha reportado que *F. grandifolia*

subsp. *mexicana* representa entre el 68 y 83% de la densidad total, y entre el 22 y 96% del área basal de los bosques donde crece esta especie (Williams-Linera *et al.*, 2000; Williams-Linera *et al.*, 2003). El bosque de *F. grandifolia* subsp. *mexicana* de Agua Fría presentó la menor densidad, la menor cantidad de individuos con diámetros normales mayores a 20 cm, y el menor valor de área basal de los tres bosques incluidas en el presente estudio.

El tamaño estimado de los tres bosques de *F. grandifolia* subsp. *mexicana* considerados fue de 4,056 individuos en Agua Fría, 3,895 individuos en Tutotepec I y 6,758 individuos en Tutotepec II, sumando un total estimado de 14,709 individuos. Considerando la estimación de Williams-Linera *et al.* (2003) de 8,644 individuos de *F. grandifolia* subsp. *mexicana* en otros cinco bosques, se estimó un número total de individuos de esta especie igual a 23,353.

### **Composición arbórea**

La especie arbórea más importante en los tres bosques estudiados de acuerdo al Índice de Valor de Importancia Relativo (IVIR) calculado para cada una fue *F. grandifolia* subsp. *mexicana*, por lo cual se puede afirmar que son bosques dominados por esta especie. Las especies encontradas en cada bosque ordenadas de acuerdo a su IVIR se enlistaron en el Cuadro 2.3.

Los bosques de *F. grandifolia* subsp. *mexicana* en el presente estudio se asociaron con *Liquidambar styraciflua* L. y *Magnolia schiedeana* Schldl., especies características del bosque mesófilo de montaña (Puig *et al.*, 1983; Rzedowski, 1996; Williams-Linera *et al.*, 1996), Sin embargo, resalta la presencia de *Picea martinezii* T. F. Patterson y *Taxus globosa* Schldl. en el

bosque de Agua Fría, por lo que se le considero como un bosque de *F. grandifolia* subsp. *mexicana* con características excepcionales.

**Cuadro 2.3.** Densidad, área basal y frecuencias absolutas y relativas de las especies arbóreas de tres bosques de *Fagus grandifolia* subsp. *mexicana*, ordenadas de acuerdo al Índice de Valor de Importancia Relativa (IVIR).

Población / Especie	Densidad (individuos ha <sup>-1</sup> )		Área basal (m <sup>2</sup> ha <sup>-1</sup> )		Frecuencia		IVIR*
	A <sup>†</sup>	R <sup>‡</sup>	A <sup>†</sup>	R <sup>‡</sup>	A <sup>†</sup>	R <sup>‡</sup>	
<b>Agua Fría, N.L.</b>							
<i>Fagus grandifolia</i> subsp. <i>mexicana</i>	156	0.38	11.88	0.67	8	0.24	0.43
<i>Picea martinezii</i> T. F. Patterson	170	0.42	2.13	0.12	8	0.24	0.26
<i>Quercus</i> spp.	46	0.11	1.22	0.07	5	0.15	0.11
<i>Liquidambar styraciflua</i> L.	9	0.02	2.27	0.12	5	0.15	0.10
<i>Taxus globosa</i> Schldl.	24	0.06	0.27	0.02	7	0.22	0.10
Total	405		17.77				
<b>Tutotepec I, Hgo.</b>							
<i>Fagus grandifolia</i> subsp. <i>mexicana</i>	205	0.68	63.9	0.88	8	0.333	0.63
<i>Quercus</i> spp.	50	0.17	6.56	0.09	8	0.333	0.20
<i>Magnolia schiedeana</i> Schldl.	44	0.15	2.07	0.03	8	0.333	0.17
Total	299		72.2				
<b>Tutotepec II, Hgo.</b>							
<i>Fagus grandifolia</i> subsp. <i>mexicana</i>	218	0.66	42.26	0.91	8	0.27	0.61
<i>Quercus</i> spp.	76	0.23	2.56	0.06	8	0.27	0.18
<i>Magnolia schiedeana</i> Schldl.	24	0.07	0.92	0.02	8	0.27	0.12
<i>Clethra mexicana</i> DC.	9	0.03	0.10	0.00	5	0.16	0.07
<i>Liquidambar styraciflua</i> L.	1	0.01	0.63	0.01	1	0.03	0.02
Total	328		46.46				

<sup>†</sup> A= absoluta; <sup>‡</sup> R= relativa; <sup>\*</sup> IVIR= índice de valor de importancia relativa

Los tres bosques estudiados en el presente estudio se ubicaron en la calidad media a buena, de acuerdo al índice de calidad determinado para cada uno de éstos. En los tres bosques se observó disturbio por pastoreo. La recolección de leña para autoconsumo fue evidente en los tres bosques.

La localización de los tres bosques de *F. grandifolia* subsp. *mexicana* contribuye al conocimiento sobre la distribución geográfica de la especie. Esto tiene implicaciones importantes desde el punto de vista biológico por el considerable incremento en el tamaño estimado de las poblaciones de esta especie. También, debido al aislamiento de éstos bosques con respecto a los bosques que se conocen, representan una fuente potencial de diversidad genética que puede contribuir a la preservación de la especie en el futuro. Desde el punto de vista socioeconómico, la presencia de *F. grandifolia* subsp. *mexicana* en las regiones en donde se estudió tendrá impacto, porque deberán modificarse los métodos de aprovechamiento de recursos naturales que se emplean, así como promover y ejecutar medidas encaminadas a la protección de la especie. Se recomienda profundizar el estudio de la dinámica de regeneración y diversidad genética de las nuevas poblaciones para fundamentar acciones que permitan la conservación.

## CONCLUSIONES

Los bosques de *Fagus grandifolia* subsp. *mexicana*: Tutotepec I y Tutotepec II del Estado de Hidalgo, y Agua Fría del Estado de Nuevo León, tuvieron superficies entre 19 y 31 ha en donde crecen 14,709 árboles de esta especie, altitudes promedio de 1825 a 1840 m, exposición predominante N, y pendientes mayores al 75%; la población de Agua Fría fue el extremo norte de la distribución de la especie en México. *F. grandifolia* subsp. *mexicana* dominó la asociación de especies características del Bosque Mesófilo de Montaña, y fue la especie más importante de acuerdo al IVIR calculado en los tres bosques donde se localizó; la población de Agua Fría presentó una composición arbórea excepcional.

### CAPITULO 3: VARIACIÓN ALOENZIMÁTICA DE *Fagus grandifolia* subsp. *mexicana*

#### RESUMEN

*Fagus grandifolia* Ehrh. subsp. *mexicana* (Martínez) A. E. Murray crece en poblaciones aisladas en la Sierra Madre Oriental. Se muestreo siete poblaciones de esta especie para determinar la variación aloenzimática en yemas vegetativas de árboles. Se observaron 10 loci con 26 alelos en ocho sistemas enzimáticos. El promedio de loci polimórficos fue 52.8 %. El número promedio de alelos por locus fue 1.9. La heterocigosidad esperada y heterocigosidad observada promedio fueron 0.209 y 0.250, respectivamente. La mayoría de la diversidad genética (95.5 %) se encontró dentro de las poblaciones. El flujo génico ( $Nm$ ) fue 5.26 individuos por generación. Las distancias génicas de Nei variaron de 0.001 a 0.027 (promedio 0.012). La densidad en las poblaciones varió de 251 a 416 árboles  $ha^{-1}$  en Agua Fría y En la Cima del Volcán Acatlán, respectivamente. El número estimado de árboles adultos en las siete poblaciones muestreadas fue 45,533. En La Mojonera se encontró el mayor número de árboles, mientras en la Cima del Volcán Acatlán el menor. No se encontró correlación entre los parámetros de diversidad genética con el tamaño y densidad de las poblaciones. La diversidad aloenzimática encontrada en las poblaciones muestreadas de *F. grandifolia* subsp *mexicana* fue moderada.

**Palabras clave:** *Fagus grandifolia* subsp. *mexicana*, Electroforesis, Variación aloenzimática

## SUMMARY

*Fagus grandifolia* Ehrh. subsp. *mexicana* (Martínez) A. E. Murray occurs in the Sierra Madre Oriental. A total of ten loci with 26 alleles observed on eight enzymatic systems was assayed to determine the allozyme variation in seven populations of *F. grandifolia* subsp. *mexicana*. The percentage of polymorphic loci was 52.8 % and the number of alleles per locus was 1.9. The expected heterozygosity and observed heterozygosity were 0.209 and 0.250, respectively. Most genetic diversity (95.5%) was found within populations. The gene flow rate ( $Nm$ ) was 5.26 individuals for generation. The Nei's genetic distances vary from 0.001 to 0.027. Population density varied from 251 to 416 trees  $ha^{-1}$  in Agua Fría and the Cima del Volcán Acatlán, respectively. The tree number from the seven sampled populations was 45,533. Genetic parameters were not significant correlated with population size and density. Allozyme variation of *F. grandifolia* subsp. *mexicana* was moderated.

**Keywords:** *Fagus grandifolia* subsp. *mexicana*, Electrophoresis, Allozyme variation

## INTRODUCCIÓN

*Fagus grandifolia* Ehrh. subsp. *mexicana* (Martínez) A. E. Murray, es una especie arbórea endémica de México. Esta especie crece en siete poblaciones pequeñas y aisladas en los Estados de Tamaulipas, Hidalgo y Veracruz (Williams-Linera *et al.*, 2003; Rowden *et al.*, 2004.), y recientemente se localizó una población en el Estado de Nuevo León, así como dos más en el Estado de Hidalgo. Esta especie crece en el bosque mesófilo de montaña en la Sierra Madre Oriental (Rzedowski, 1996), en altitudes que varían de 1400 a 2000 msnm, y con precipitaciones superiores a los 1000 mm al año (Peters, 1995). El cambio de uso del suelo, el aprovechamiento maderable, el pastoreo excesivo y la recolección de leña y de semillas para consumo son las posibles causas que han influido en la reducción del tamaño de las poblaciones, colocando a la especie en peligro de extinción (Williams-Linera *et al.*, 2003; SEMARNAT, 2010). El hábitat donde crece *Fagus grandifolia* subsp. *mexicana* tiene una combinación única de atributos climáticos, los cuales pueden ser afectados severamente por el cambio climático (Téllez-Valdéz *et al.* 2006).

Los análisis genéticos de bosques fragmentados son importantes en especies arbóreas de distribución restringida, endémicas, o amenazadas, para determinar si la disminución de éstos se debe a decline genético o a procesos demográficos (Pautasso, 2009). Las poblaciones aisladas difieren en la presencia y frecuencia de genes como consecuencia de la acción de las diferentes fuerzas evolutivas (Hamrick *et al.*, 1992). Por ejemplo, la deriva génica cambia la distribución de la variación genética en dos sentidos (Falconer, 1989): en uno reduce la variación dentro de una población, y en el otro incrementa la diferenciación

entre poblaciones (Falconer, 1989). La variación genética dentro de una especie determina la adaptabilidad de ésta a cambios ambientales (Sharma *et al.*, 2002). Conocer la estructura genética de las poblaciones de árboles forestales es indispensable para implementar una conservación efectiva y útil para entender los mecanismos evolutivos que actúan (Slavov y Zhelev, 2004).

Uno de los métodos más rápidos y baratos para cuantificar la variación genética dentro y entre poblaciones de especies, es el análisis de la variación de aloenzimática a través de electroforesis (Brown, 1978). Este método permite una evaluación de la condición de las poblaciones para la toma de decisiones sobre la manipulación y conservación de las mismas (Buth y Murphy, 1999).

En *F. grandifolia* var. *mexicana* se encontró una elevada diferenciación entre poblaciones utilizando RAPD (Rowden *et al.*, 2004); sin embargo, se incluyó un número reducido de poblaciones, por lo que es importante incluir un mayor número de poblaciones y así poder proponer una estrategia de conservación de las poblaciones naturales de esta especie con base en los resultados que se obtengan. Por estas razones, en el presente estudio se plantearon los objetivos siguientes: (1) determinar el nivel de variación aloenzimática dentro y entre poblaciones de *F. grandifolia* subsp. *mexicana*, (2) determinar la relación entre los parámetros de diversidad genética y el tamaño y la densidad de las poblaciones y (3) proponer una estrategia de conservación genética de la especie

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Material vegetativo

Se recolectaron yemas vegetativas de árboles adultos de *Fagus grandifolia* subsp. *mexicana* en cada una de las siete poblaciones incluidas en el presente estudio (Cuadro 3.1). Estas poblaciones cubrieron los extremos de la distribución latitudinal conocidos de la especie. Los árboles seleccionados se distribuyeron en toda la población, procurando una distancia mínima entre árboles adultos de 30 m para evitar en lo posible recolectar yemas de árboles emparentados. Considerando la restricción de distancia impuesta y el tamaño reducido de algunas poblaciones, se obtuvieron muestras de 17 a 30 individuos adultos en cada población.

**Cuadro 3.1.** Localización geográfica de siete poblaciones de *Fagus grandifolia* subsp. *mexicana*.

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

Las yemas se colocaron en bolsas de plástico, las cuales se identificaron con el nombre de la población y un número consecutivo dado a cada árbol en cada población. Las bolsas se transportaron del sitio de recolecta al laboratorio en una hielera. En el laboratorio las yemas se mantuvieron en refrigeración hasta que éstas se prepararon para electroforesis.

Se seleccionó una yema de cada bolsa, la cual se colocó en una cavidad de una caja de cultivo celular. Para moler cada yema se agregó 1.5 ml del amortiguador de extracción Melody/Neale (NFGEL, 2003). Después de moler las yemas, la caja de cultivo celular con las muestras se colocó en un ultracongelador a  $-60^{\circ}\text{C}$  hasta su utilización en el análisis electroforético.

### **Diversidad aloenzimática**

Una vez que las muestras se descongelaron, se introdujeron tiras de papel Whatman No. 5 de dimensiones  $12 \times 1$  mm (mechas) en cada una de las cavidades de las cajas de cultivo celular. Las mechas saturadas con el sustrato se colocaron en geles de almidón al 10%, los cuales se sometieron a electroforesis.

Se analizaron ocho sistemas enzimáticos con un total de 10 loci; cuatro sistemas enzimáticos: Diaforasa (DIA, E.C.1.6.99), Isocitrato deshidrogenasa (IDH, E.C.1.1.1.41), Malato deshidrogenasa (MDH, E.C.1.1.1.37), y 6-fosfoglutonato deshidrogenasa (6-PGDH, E.C.1.1.144) se analizaron utilizando amortiguador para gel y electrodo preparado con ácido cítrico 0.040 M y N-(3-Aminopropil)-morfolina 0.068 M, pH 6.1 (Wendel y Weeden, 1989). Los cuatro sistemas restantes: Fosfoglucoisomerasa (PGI, E.C.5.3.1.9), Enzima málica (ME,

E.C.1.1.1.40), Peroxidasa (PRX, E.C.1.11.1.7) y Leucina aminopeptidasa (LAP, E.C.3.4.11.1) se analizaron utilizando amortiguador para gel de L-Histidina 0.005 M, pH 7.0 y amortiguador para electrodo de ácido cítrico 0.410 M, pH 7.0 (Wendel y Weeden, 1989).

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

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

### **Tamaño y densidad de las poblaciones**

La densidad de individuos de *F. grandifolia* subsp. *mexicana* de cada población se estimó con el método de cuadrante centrado en un punto (Mitchel, 2007). Los puntos de muestreo en un transecto se establecieron cada 20 m en cada población. En cada punto se trazó una línea perpendicular al transecto formando cuatro cuadrantes. En cada cuadrante se midió la distancia del árbol de *Fagus* más cercano al punto central que tuviera un diámetro mínimo de

10 cm. La distancia entre el árbol y el punto central fue menor a 10 m para evitar que el mismo árbol se midiera dos veces. El tamaño del transecto y el número de puntos muestreados varió proporcionalmente de acuerdo al tamaño de la población. La densidad (D), expresada en número de árboles por hectárea, se obtuvo con la ecuación:  $D=1ha/\bar{d}^2$  (Mueller-Dombois y Ellenberg, 1974), en donde  $\bar{d}$  es la distancia media entre el punto de origen y cada árbol medido.

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

### **Análisis estadístico**

La variación genética dentro de poblaciones fue descrita por cuatro parámetros: 1) Porcentaje de loci polimórficos (P); 2) Número promedio de alelos por locus (A); 3) Heterocigosidad observada ( $H_o$ ) y 4) Heterocigosidad esperada ( $H_e$ ) (Nei, 1973). La estructura genética entre poblaciones se analizó mediante los estadísticos F ( $F_{IT}$ ,  $F_{IS}$ , y  $F_{ST}$ ) de Wright.  $F_{IT}$  mide la endogamia total,  $F_{IS}$  la endogamia dentro de poblaciones y  $F_{ST}$  la proporción de la diversidad genética total entre poblaciones (Wright, 1965). Las relaciones genéticas entre poblaciones se cuantificaron con las distancias genéticas de Nei ( $D_N$ ) (Nei,

1978), y con éstas se construyó un dendrograma. La información se analizó con el programa de computo POPGENE ver. 1.31 (Yeh *et al.*, 1997). El flujo genético ( $N_m$ ) entre poblaciones, medido como el número de migrantes por generación, se estimó a través de la ecuación propuesta por Slatkin (1987).

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

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Diversidad aloenzimática

En todas las poblaciones se observaron 26 alelos en 10 loci; el locus 6GPD-1 fue monomórfico. El número promedio de alelos fue 19 (Cuadro 3.2). El mayor número de alelos raros se encontró en El Reparó, mientras que el menor número de éstos se registró en La Cima del Volcán Acatlán.

**Cuadro 3.2.** Clases de alelos encontrados en siete poblaciones de *Fagus grandifolia* subsp. *mexicana*

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

Únicamente se encontraron alelos privados en la población localizada en Agua Fría; algunos alelos se encontraron en pocas poblaciones, por ejemplo: el alelo 1 del locus LAP-1 y

el alelo 1 del locus PGI-2 se determinaron sólo en las poblaciones de Tutotepec II y Agua Fría; el alelo 3 del locus ME-1 sólo se registró en Tutotepec II y en la población localizada en el cráter del Volcán Acatlán. Lo anterior probablemente es debido a que una fuerza de selección está actuando simultáneamente en esos loci, reduciendo o eliminando su frecuencia alélica en las poblaciones, o bien, a que los alelos son de reciente formación y no han tenido oportunidad de dispersarse e incrementar sus frecuencias (White *et al.*, 2007).

El mayor número de alelos por locus y la mayor heterocigosidad esperada promedio se encontraron en las poblaciones de Tutotepec II y Agua Fría, respectivamente; los menores valores de estos parámetros se encontraron en la población de La Mojonera (Cuadro 3.3).

**Cuadro 3.3.** Parámetros de diversidad genética ( $\pm$  error estándar) de siete poblaciones de *Fagus grandifolia* subsp. *mexicana*.

Población	A	P	H <sub>o</sub>	H <sub>e</sub>	F
Cráter del volcán Acatlán, Ver.	1.9 $\pm$ 0.88	60	0.265 $\pm$ 0.38	0.189 $\pm$ 0.22	-0.402
Cima del volcán Acatlán, Ver.	1.8 $\pm$ 0.79	60	0.310 $\pm$ 0.38	0.230 $\pm$ 0.23	-0.348
Tutotepec I, Hgo.	1.8 $\pm$ 0.79	60	0.226 $\pm$ 0.35	0.171 $\pm$ 0.22	-0.322
Tutotepec II, Hgo.	2.4 $\pm$ 1.17	70	0.252 $\pm$ 0.33	0.217 $\pm$ 0.20	-0.161
La Mojonera, Hgo.	1.7 $\pm$ 0.82	50	0.203 $\pm$ 0.35	0.168 $\pm$ 0.25	-0.208
El Reparó, Hgo.	2.1 $\pm$ 1.10	60	0.228 $\pm$ 0.34	0.200 $\pm$ 0.22	-0.140
Agua Fría, N.L.	2.0 $\pm$ 0.67	80	0.289 $\pm$ 0.34	0.237 $\pm$ 0.19	-0.059

El porcentaje de loci polimórficos (P) y el número promedio de alelos por locus (A) fueron 62.8 % y 1.9, respectivamente. Los valores de estos parámetros genéticos fueron moderadamente inferiores a los reportados para otras especies del género *Fagus*. Por ejemplo, el porcentaje de loci polimórficos para *F. sylvatica* L. y *F. grandifolia* Ehrh, especies con amplia distribución, varió de 67 a 86 %, respectivamente (Comps *et al.*, 1990; Kitamura y Kawano, 2001). El número promedio de alelos por locus reportado en la literatura variaron entre 2.17 para *F. sylvatica* y 2.93 para *F. grandifolia* (Gömöry *et al.*, 1999; Kitamura y Kawano, 2001).

El valor de heterocigosidad esperada promedio ( $H_e$ ) en el presente estudio fue de 0.202, el cual fue comparable con los valores encontrados para diferentes especies del género *Fagus* (0.186 – 0.230) (Kitamura y Kawano, 2001; Chung *et al.*, 1998), y fue mayor que el típicamente encontrado para Angiospermas de 0.143 (Hamrick *et al.*, 1992). Estos valores con una moderada diversidad genética dentro de las poblaciones de *F. grandifolia* subsp. *mexicana* estudiadas, en comparación con otras especies del mismo género, pudo deberse al tamaño reducido de la mayoría de las poblaciones en el presente estudio. Especies endémicas o de distribución restringida por lo general tienen menor diversidad genética evaluada a través de loci polimórficos, número de alelos por locus y herocigosidad, que aquellas que tienen una distribución amplia (Hamrick y Godt, 1990).

El valor promedio de  $F_{ST}$  indicó que únicamente el 4.5 % de la variación genética de *F. grandifolia* subsp. *mexicana* fue entre poblaciones (Cuadro 3.4); este valor fue menor al promedio encontrado en Angiospermas ( $G_{ST}=0.102$ ) (Hamrick *et al.*, 1992), y está dentro del intervalo (1.4 a 16.7 %) reportado para otras especies de distribución amplia del género

*Fagus* (Kitamura y Kawano, 2001; Gömöry *et al.*, 1999; Comps *et al.*, 1990). Estos resultados fueron consistentes con las observaciones hechas por Hamrick y Godt (1990), quienes encontraron que existen especies endémicas o de distribución restringida que tienen los mismos niveles de diferenciación genética entre poblaciones que aquellas que tienen una distribución amplia.

**Cuadro 3.4.** Estructura genética de nueve loci polimórficos de siete poblaciones de *Fagus grandifolia* subsp. *mexicana*.

Locus	$F_{IT}$	$F_{IS}$	$F_{ST}$
MDH-1	-0.447	-0.506	0.039
6-PGDH-2	-0.940	-0.943	0.002
DIA-1	-0.378	0.353	0.038
LAP-1	0.495	0.483	0.024
PRX-1	-0.002	-0.017	0.014
PGI-1	0.170	0.013	0.042
PGI-2	0.274	0.148	0.148
IDH-1	0.178	0.018	0.163
ME-1	0.405	0.377	0.045

Por otro lado, el valor de diferenciación genética entre las poblaciones de *F. grandifolia* subsp. *mexicana* encontrado en el presente estudio fue mucho menor al reportado (18 %) por Rowden *et al.* (2004) para la misma especie con el uso de RAPD. Sin embargo, Rowden *et al.* (2004) incluyeron un número reducido de poblaciones; además, esta diferencia se pudo deber a que las estimaciones de diversidad genética pueden variar dependiendo del tipo de

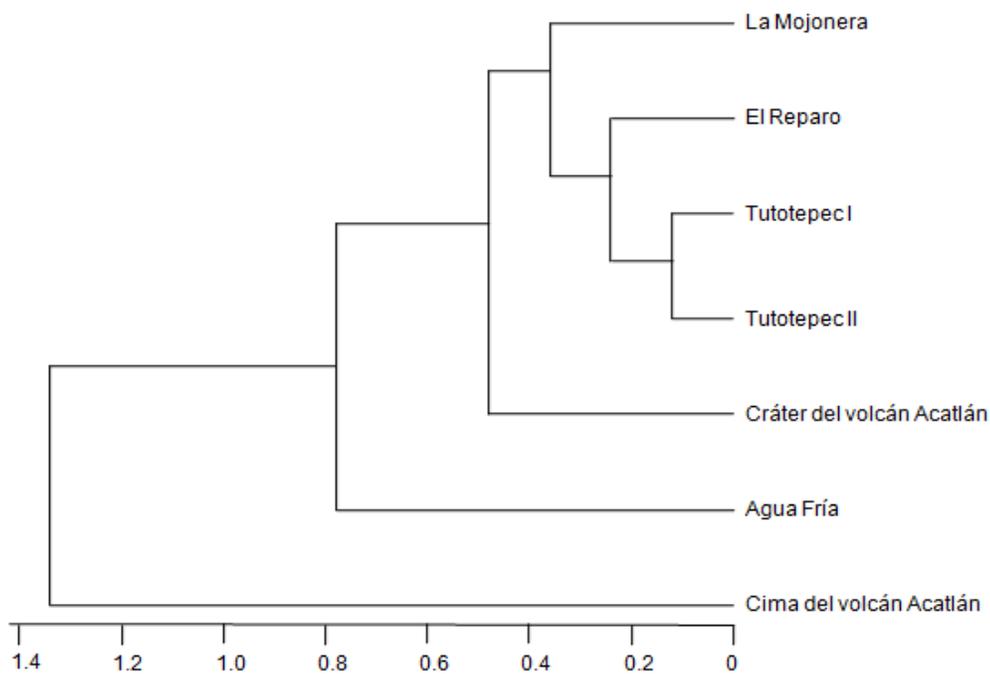
marcador con el que la diversidad genética sea estimada (Geburek, 1997). Los resultados encontrados en el presente estudio y los reportados por Rowden *et al.* (2004) en *F. grandifolia* subsp. *mexicana* siguen la misma tendencia que los reportados para *Picea abies* Karst utilizando RAPD's y aloenzimas en la estimación de diversidad genética (Bucci and Menozzi, 1995; Giannini *et al.*, 1991). Sin embargo, en *Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco la diversidad genética estimada con el uso de isoenzimas y marcadores genéticos de ADN fue similar (Aagaard *et al.*, 1998). El flujo genético estimado ( $Nm$ ) entre las poblaciones de *F. grandifolia* subsp. *mexicana* fue 5.26 migrantes por generación, por lo cual se encontró una baja diferenciación entre las poblaciones. Un inmigrante cada dos generaciones es suficiente para prevenir diferenciación entre poblaciones (Slatkin, 1987). A pesar de que las poblaciones crecen en localidades aisladas y la mayoría de estas tienen un tamaño reducido, la baja diferenciación intrapoblacional se puede deber a que la reducción de tamaño de las poblaciones es reciente, y no ha sido suficiente el tiempo para que la deriva genética actúe (White *et al.*, 2007). Las distancias genéticas de Nei ( $D_N$ ) (Cuadro 3.6) revelan un coeficiente de distancia genética promedio de 0.012 entre las siete poblaciones analizadas.

De acuerdo al dendrograma (Figura 3.1), las poblaciones de Tutotepec I y Tutotepec II, que están geográficamente cercanas, fueron también las más similares genéticamente. La población de Agua Fría fue genéticamente diferente a las demás, y es la única población donde se encontraron alelos privados.

**Cuadro 3.5.** Distancias genéticas de Nei entre siete poblaciones de *Fagus grandifolia* subsp. *mexicana*

	1 <sup>†</sup>	2	3	4	5	6	7
1 <sup>†</sup>	*						
2	0.0216	*					
3	0.0044	0.0217	*				
4	0.0055	0.0179	0.0007	*			
5	0.0070	0.0246	0.0030	0.0046	*		
6	0.0122	0.0267	0.0030	0.0019	0.0080	*	
7	0.0093	0.0221	0.0123	0.0096	0.0155	0.0170	*

<sup>†</sup> 1- Cráter del volcán Acatlán; 2-Cima del volcán Acatlán; 3-Tutotepec I; 4-Tutotepec II; 5-La Mojonera; 6- El Reparó; 7-Agua Fria.



**Figura 3.1.** Dendrograma basado en las distancias genéticas (Nei, 1978) de siete poblaciones de *Fagus grandifolia* subsp. *mexicana*.

### Tamaño y densidad de las poblaciones

El número de árboles de *F. grandifolia* subsp. *mexicana* estimado en las siete poblaciones fue 45,533. El número de árboles estimados en el presente estudio fue mayor que el reportado por Williams-Linera *et al.* (2003) (7,986 individuos) quienes consideraron un menor número de poblaciones. La densidad de las poblaciones fue muy variable, con una diferencia entre densidades de alrededor del 50 % entre las poblaciones localizadas en Agua Fría y en la cima del Volcán Acatlán (Cuadro 3.6).

**Cuadro 3.6.** Área, densidad y número estimado de individuos en siete poblaciones de *Fagus grandifolia* subsp. *mexicana*

Población	Área (Ha)	Densidad (árboles/ha)	No. individuos
Cráter del Volcán Acatlán, Ver.	4.5	406	1,827
Cima del Volcán Acatlán, Ver.	0.6	416	250
Tutotepec I, Hgo.	19.0	290	5,508
Tutotepec II, Hgo.	31.0	327	10,130
La Mojonera, Hgo.	38.0	392	14,903
El Reparó, Hgo.	23.0	277	6,377
Agua Fría, N.L.	26.0	251	6,538

Las correlaciones de los parámetros de diversidad genética con la densidad y el tamaño de las poblaciones no fueron significativas; esto tal vez es debido a que algunos factores históricos son más importantes en determinar los patrones de la diversidad genética, que el tamaño actual de las poblaciones (Coates, 1988). Las siete poblaciones tuvieron un tamaño moderado con excepción de la Cima del Volcán Acatlán.

La diversidad genética estimada en el presente estudio puede ser suficiente para que la especie se adapte a los cambios ambientales ocasionados por el cambio climático, sin embargo, otros factores relacionados con las actividades económicas pueden conducir a esta especie a desaparecer en un mediano plazo.

Se recomienda que la conservación de las poblaciones de *F. grandifolia* subsp. *mexicana* se realice en el ambiente natural donde se han desarrollado evolutivamente (conservación *in situ*). Esto permitiría conservar sus procesos de evolución natural, así como sus interacciones con otros organismos y procesos ecológicos en que participa (Primack, 1995), además de que resulta menos gravoso conservar los genes en condiciones naturales. Se sugiere enfatizar los esfuerzos de conservación en las poblaciones de Agua Fría, El Reparó, la cima del Volcán Acatlán y Tutotepec II, poblaciones que contribuyen mayoritariamente a la diferenciación de la especie, sin dejar de considerar que todas las poblaciones tienen un papel importante en el ecosistema donde se encuentran. También, es conveniente considerar la conservación *ex situ* de germoplasma de cada una de las poblaciones para garantizar la repoblación de áreas naturales donde esta crece en caso de que alguna de éstas sufra los efectos de alguna catástrofe tales como incendios, ataque de plagas o huracanes.

## CONCLUSIONES

Se encontró una moderada variación genética en *Fagus grandifolia* subsp. *mexicana*.

*F. grandifolia* subsp. *mexicana* mostró una baja diferenciación entre poblaciones; la mayor diferencia se encuentra entre la población de la Cima del Volcán Acatlán y las demás poblaciones estudiadas. La población de Agua Fría tuvo el mayor número de alelos privados.

No se encontró correlación entre las medidas de diversidad genética con el tamaño y densidad de las poblaciones.

## CAPITULO 4: DISCUSION GENERAL Y CONCLUSIONES

En el presente estudio se encontró que los tres bosques de reciente localización de *Fagus grandifolia* subsp. *mexicana* tuvieron características ecológicas similares a las reportadas en otras poblaciones, en donde la presencia de esta misma especie fue dominante sobre el resto de las especies arbóreas con las que cohabita (Williams-Linera *et al.*, 2003; Álvarez-Aquino y Williams-Linera, 2002; Williams-Linera *et al.*, 2003; Godínez-Ibarra *et al.*, 2007). El bosque de Agua Fría, N. L. se ubica en el límite Norte de la distribución del género *Fagus* en México, y se asocia con *Picea martinezii* y *Taxus globosa*, especies en la NOM-059-SEMARNAT-2010 (SEMARNAT, 2010). También, el bosque de Agua Fría presentó la menor densidad y área basal de los tres bosques de reciente localización, así como de todas los bosques de la especie que han sido estudiadas (Williams-Linera *et al.*, 2003); El bosque de *F. grandifolia* subsp *mexicana* ubicado en Casa de Piedra, Tamps. es el bosque más cercano a el bosque de Agua Fría (Williams-Linera *et al.*, 2003). Genéticamente, la población de Agua Fría sobresale por los alelos privados encontrados, y la alta diversidad genética encontrada a pesar que no fue una de las poblaciones con el mayor número de árboles. Las distancias genéticas de Nei diferenciaron esta población de las demás poblaciones incluidas en el presente estudio. A pesar de que la población de La Mojonera tuvo la mayor superficie y número de individuos, fue la que presentó la menor diversidad genética intrapoblacional medida por el valor de heterocigosidad esperada.

La variación genética entre poblaciones fue baja (4.5%) como consecuencia del alto número de migrantes por generación (5.26), evitando la diferenciación de las poblaciones por efecto de deriva genética (Slatkin, 1987; Falconer, 1989).

Las poblaciones de Tutotepec I y Tutotepec II fueron las poblaciones más cercanas geográficamente, y fueron también las poblaciones con mayor similitud genética. El Reparo y Agua Fría fueron las poblaciones de mayor diferenciación genética a pesar de que no fueron las más lejanas geográficamente. En base a los resultados encontrados en el presente estudio, el esfuerzo para la conservación de las poblaciones de *F. grandifolia* subsp. *mexicana* sería bajo, sin embargo, estudios en características cuantitativas serían necesarios para establecer la estrategia de conservación más precisa para esta especie (Falconer, 1989). Se recomienda focalizar esfuerzos en las poblaciones de El Reparo, Tutotepec II, cráter del volcán Acatlán y Agua Fría. Estas poblaciones presentaron la mayor diversidad genética, y los mayores números de alelos raros y privados. Estas características confieren a las poblaciones mencionadas un valor especial para la conservación por el potencial adaptativo que representa una alta diversidad genética ante los cambios ambientales que se han pronosticado para el hábitat de la especie (Téllez-Valdéz *et al.* 2006).

## LITERATURA CITADA

- Aagaard, J. E., K. V. Krutovskii and S. H. Strauss. 1998. RAPDs and allozymes exhibit similar levels of diversity and differentiation among populations and races of Douglas-fir. *Heredity* 81: 69-78.
- Álvarez-Aquino, C. y G. Williams-Linera. 2002. Seedling bank dynamics of *Fagus grandifolia* var. *mexicana* before and after a mast year in a Mexican cloud forest. *Journal of Vegetation Science* 13:179-184.
- Brown, A. H. D. 1978. Isozymes, plant population genetic structure and genetic conservation. *Theoretical and Applied Genetics*. 52:145-157.
- Bucci, G. y P. Menozzi. 1995. Genetic variation of RAPD markers in a *Picea abies* Karst. population. *Heredity* 75: 188-197.
- Busing, R.T. 1998. Composition, structure and diversity of cove forest stands in the Great Smoky Mountains: a patch dynamics perspective. *Journal of Vegetation Science* 9: 881-890.
- Buth, D.G. and R.W. Murphy. 1999. The use of isozyme characters in systematic studies. *Biochemical Systematics and Ecology* 27:117-129.
- Chakraborty, R. 1981. The distribution of the number of heterozygous loci in an individual in natural populations. *Genetics* 98: 461-466.
- Chapman, H. D. y P. F. Pratt. 1979. Métodos de análisis para suelos, plantas y aguas. Trillas. México, D. F. 195 p.

- Chung, H. G., J. M. Chung, y M. G. Chung. 1998. Allozyme variation in six flowering plant species characterizing Ullung Island, Korea. *Journal of Japanese Botany* 73: 241-247.
- Coates, D. J. 1988. Genetic diversity and population genetic structure in the rare chittering grass wattle, *Acacia anomala* Court. *Australian Journal of Botany* 36: 273-86.
- Comps, B., B. Thiébaud, L. Paule, D. Merzeau and J. Letouzey. 1990. Allozymic variability in beechwoods (*Fagus sylvatica* L.) over central Europe; spatial differentiation among and within populations. *Heredity* 65: 407-417.
- Curtis, J. T. y R. P. McIntosh. 1951. An upland forest continuum in the prairie-forest border region of Wisconsin. *Ecology* 32: 476-496.
- Ellstrand, N. C. and D. R. Elam. 1993. Population genetic consequences of small population size: Implications for plant conservation. *Annual Review of Ecology and Systematics* 24: 217-242.
- Falconer, D. S. 1989. *Introduction to Quantitative Genetics*. Wiley. New York. 438 p.
- Fowler, D. P. and Morris, R. W. 1977. Genetic diversity in red pine: evidence for low genetic heterozygosity. *Canadian Journal of Forest Research* 7: 343-347.
- Fox, W. B. y A. J. Sharp. 1954. La distribución de *Fagus* en México. *Boletín de la Sociedad Botánica de México* 17: 31-33.
- Geburek, T. 1997. Isozymes and DNA markers in gene conservation of forest trees. *Biodiversity and Conservation* 6: 1639-1654.

- Giannini, R., M. Morgante, M. and G.G. Vendramin. 1991. Allozyme variation in Italian populations of *Picea abies* (L.) Karst. *Silvae Genetica* 40: 160-166.
- Godínez-Ibarra, O., G. Ángeles-Pérez, L. López-Mata, E. García-Moya, J. I. Valdéz-Hernández, H. De los Santos-Posadas y A. Trinidad-Santos. 2007. Lluvia de semillas y emergencia de plántulas de *Fagus grandifolia* subsp. *mexicana* en La Mojonera, Hidalgo, México. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 78: 117-128.
- Gömöry, D., L. Paule, I. M. Shvadchak, F. Popescu, M. Sulkowska, V. Hynek and R. Longauer. 1999. Genetic differentiation and phylogeny of beech on the Balkan Peninsula. *Journal of Evolutionary Biology* 12:746-754.
- Hakoyama, H., Y. Iwasa., and J. Nakanishi. 2000. Comparing risk factors for population extinction. *J. Theor. Biology* 204: 327-336.
- Hamrick J. L., and J.W. Godt M. 1990. Allozyme diversity in plant species. *In*: Plant Population Genetics, Breeding and Genetic Resources (eds. A. H. D. Brown, M. T. Clegg, A. L. Kahler, and B. S. Weir). Sunderland, Mass. Sinauer. 449 p.
- Hamrick, J. L., J. W. M. Godt and S. L. Sherman-Broyles. 1992. Factors influencing levels of genetic diversity in woody plant species. *New Forests* 6: 95-124.
- Hazler, K., B. Comps, I. Sugar, L. Melovski, A. Tashev and J. Gracan. 1997. Genetic structure of *Fagus sylvatica* L. populations in southeastern Europe. *Silvae Genetica* 46: 229-236.
- Hernández X., E., H. Crum, W. B. Fox and A. J. Sharp. 1951. A unique vegetational area in Tamaulipas. *Bulletin of the Torrey Botanical Club* 78: 458-463.

- Kitamura, K. and S. Kawano. 2001. Regional differentiation in genetic components for the American Beech, *Fagus grandifolia* Ehrh., in relation to geological history and mode of reproduction. *Journal of Plant Research* 114: 353-368.
- Ledig, F.T., M. Mápula L., B. Bermejo V., J.V. Reyes H., C. Flores L. and M.A. Capó A. 2000. Locations of endangered spruce populations in Mexico and the demography of *Picea chihuahuana*. *Madroño* 47: 71-88.
- Little., E. L. 1965. Mexican beech, a variety of *Fagus grandifolia*. *Castanea* 30: 167–170.
- Marshall, D.R. and A.H.D. Brown. 1975. Optimum sampling strategies in genetic conservation. *In: Crop Genetic Resources for Today and Tomorrow* (eds. O.H. Frankel and J.G. Hawkes). Cambridge University Press. Cambridge, UK. pp: 53-80.
- Martínez, M. 1940. Una nueva especie forestal (*Fagus mexicana* sp. *nova*). *Anales del Instituto de Biología, México* 11: 85–89.
- Meffer, G. K. y C. R. Carroll. 1994. *Principles of conservation biology*. Sinauer Associates, Sunderland, MA. 313 p.
- Miranda, F. and A. J. Sharp. 1950. Characteristics of the vegetation in certain temperate regions of eastern Mexico. *Ecology* 31(3): 313-333.
- Mitchel, K. 2007. Quantitative analysis by the point-centered quarter method (en línea). Disponible en: <http://people.hws.edu/mitchell/PCQM.pdf>. Acceso en Mayo de 2011. Department of Mathematics and Computer Science, Hobart and Williams Smith Colleges. Geneva, N. Y.

- Mueller–Dombois, D. and H. Ellenberg. 1974. Aims and methods of vegetation ecology. John Wiley and Sons. USA. 547 p.
- Neel, J. V. 1973. “Private” genetic variants and the frequency of mutation among South American Indians. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 70: 3311-3315.
- Nei, M. 1973. Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 70 (12): 3321-3323.
- Nei, M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics* 89: 583-590.
- NFGEL (National Forest Genetic Electrophoresis Laboratory). 2003. Standard Operating Procedures for Starch Gel Electrophoresis. USDA - Forest Service. Placerville, CA. E.U. 90 p.
- Pautasso, M. 2009. Geographical genetics and the conservation of forest trees. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* 11: 157-189.
- Peters, R., 1995. Architecture and development of Mexican beech forest. *In*: E.O. Box, R.K. Peet, T. Masuzawa, I. Yamada, K. Fujiwara, P. F. Maycock, (Eds.), *Vegetation Science in Forestry*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht. pp: 325–343
- Primack, R. 1995. *A Primer of Conservation Biology*. Sinauer-Sunderland. USA. 277 p.
- Puig, H., R. Bracho y V. J. Sosa. 1983. Composición florística y estructura del bosque mesófilo en Gómez Farías, Tamaulipas, México. *Biotica* 8: 339–359.

- Rowden, A., A. Robertson, T. Allnutt, S. Heredia, G. Williams-Linera., and A. C. Newton. 2004. Conservation genetics of Mexican beech, *Fagus grandifolia* var. *mexicana*. Conservation Genetics 5: 475-484.
- Rzedowski, J., 1996. Análisis preliminar de la flora vascular de los bosques mesófilos de montaña de México. Acta Botánica Mexicana 35: 25-44
- SAS Institute Inc. 2001. SAS/PC system for Windows. Version 8.2. SAS Institute, Carry, NC, USA.
- SEMARNAT, 2010. Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010 (en línea). Disponible en: [http://dof.gob.mx/nota\\_detalle.php?codigo=5173091&fecha=30/12/2010](http://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5173091&fecha=30/12/2010). Acceso en Mayo de 2011. México, D.F.
- Sharma, K., B. Degen, G. Von Wuehlich and Singh, N.B. 2002. Allozyme variation in eight natural populations of *Pinus roxburghii* Sarg. in India. Silvae Genetica 51(5-6): 246-253.
- Sharp, A. J., E. Hernández X., H. Crum y W. B. Fox. 1950. Nota florística de una asociación importante del suroeste de Tamaulipas, México. Boletín de la Sociedad Botánica de México 11: 1-4.
- Slatkin, M. 1987. Gene flow and geographic structure of natural populations. Science 236: 787-792.
- Slavov, G.T. and P. Zhelev. 2004. Allozyme variation, differentiation, and inbreeding in populations of *Pinus mugo* in Bulgaria. Canadian Journal of Forest Research 34: 2611-2617.

- Téllez-Delgado, O., P. Dávila-Aranda y R. Lira-Saade. 2006. The effects of climate change on the long-term conservation of *Fagus grandifolia* var. *mexicana*, an important species of the Cloud Forest in Eastern Mexico. *Biodiversity and Conservation* 15: 1095-1107.
- Veblen, T.T. 1992. Regeneration dynamics. In: Glenn-Lewin D.C., Peet R.K. and Veblen T.T. (eds.), *Plant Succession: Theory and Prediction*. Chapman and Hall, London, pp. 152 – 187.
- Wendel, J. F. and N. F. Weeden. 1989. Visualization and interpretation of plant isozymes. *In: Isozymes in Plant Biology* (eds. D. E. Soltis and P. S. Soltis). Dioscorides Press, Portland, Oregon. 268 p.
- White, T. L., W. T. Adams y D. B. Neale. 2007. *Forest Genetics*. Cabi Publishing, 1<sup>st</sup>. edition. FL, USA. 500 p.
- Williams-Linera, G., I. Pérez, y J. Tolome. 1996. El bosque mesófilo de montaña y un gradiente altitudinal en el centro de Veracruz, México. *La Ciencia y el Hombre* 23: 149–161.
- Williams-Linera, G., M. Duvell and C. Alvarez-Aquino. 2000. A relict population of *Fagus grandifolia* var. *mexicana* at the Acatlán Volcano, Mexico: structure, phenology, litterfall and dendroecology. *Journal of Biogeography* 27: 1297–1309.
- Williams-Linera, G., A. Rowden, y A. C. Newton. 2003. Distribution and stand characteristics of relict populations of Mexican beech (*Fagus grandifolia* var. *mexicana*). *Biological Conservation* 109:27-36.

Wright, S. 1965. The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to systems of mating. *Evolution* 19: 395-420.

Yeh, F.C., R.C. Yang, T.B.J. Boyle, Z.H. Ye and J.X. Mao.1997. POPGENE, The User-Friendly Software for Population Genetic Analysis. Molecular Biology and Biotechnology Centre, University of Alberta, Canada.