

**Informe final\* del Proyecto B138**  
**Niveles y patrones de variación genética del género *Abies* en México**

**Responsable:** Dr. Luis E Eguiarte Fruns  
**Institución:** Universidad Nacional Autónoma de México  
Instituto de Ecología  
Departamento de Ecología Evolutiva  
Laboratorio de Evolución Molecular y Experimental  
**Dirección:** Av Universidad # 3000, Ciudad Universitaria, Coyoacán, México, DF, 04510 , México  
**Correo electrónico:** [fruns@servidor.unam.mx](mailto:fruns@servidor.unam.mx)  
**Teléfono/Fax:** Tel: 5622 9006 Fax: 5616 1976, 5622 8995  
**Fecha de inicio:** Noviembre 30, 1994 .  
**Fecha de término:** Abril 30, 1997  
**Principales resultados:** Base de datos, Informe final  
**Forma de citar\*\* el informe final y otros resultados:** Eguiarte Fruns, L. E. y G. R. Furnier. 1997. Niveles y patrones de variación genética del género *Abies* en México. Universidad Nacional Autónoma de México. Instituto de Ecología. **Informe final SNIB-CONABIO proyecto No. B138.** México, D.F.

**Resumen:**

Actualmente se reconoce entre 40 y 60 especies de *Abies* (Pinaceae), misma que sólo se encuentra en el hemisferio norte. Para México se considera que existen alrededor de ocho especies de *Abies*, siendo seis de estas endémicas. El objetivo principal del presente proyecto fue el de ser una primera aproximación al estudio de la evolución en todas las especies de *Abies* mexicanos, utilizando métodos de electroforesis de isoenzimas. Para alcanzar este objetivo llevamos a cabo estudios de genética de poblaciones, incluyendo análisis de los niveles de variación genética entre y dentro poblaciones (o se a la descripción de la estructura genética de las especies) y un análisis de las relaciones filogenéticas entre las especies. Colectamos *Abies* en 55 sitios en México, Guatemala y Estados Unidos, que presentan todas las especies descritas para México, analizando cuando menos 20 individuos adultos por sitio (aunque tratamos de coleccionar 40 individuos). En general se observa que los niveles de variación son bajos, de cerca de un tercio de lo que generalmente se encuentra en coníferas y plantas de vida larga. Para las poblaciones del norte de México (que incluyen a *A. concolor*, *A. durangensis*, *A. durangensis* var. *coahuilensis* y *A. hickeli* y *A. guatemalensis*), el poliformismo promedio fue un poco más bajo 27.18%, lo mismo que la  $He=0.094$ . Para todas las poblaciones encontramos excesos de homocigos, que sugiere altos niveles de endogamia (por autopolinización y/o cruza entre parientes). La diferenciación entre poblaciones es muy alta, de cerca de un orden de magnitud mayor de lo que se encuentra entre otras coníferas y plantas de vida alegre. Los niveles de diferenciación genética y los análisis fenéticos basados en datos isoenzimáticos no reflejan finamente la taxonomía aceptada del grupo, aunque algunos grupos de poblaciones tienen sentido basados en la taxonomía actual o en la geografía. Una prioridad debe de ser la de reevaluar sistemáticamente de todo el grupo de los *Abies* de México. Por otra parte, la diferenciación genética entre las poblaciones indica que se deben de tratar de conservar a la mayor parte de la poblaciones de los *Abies* mexicanos, ya que son muy diferentes entre sí.

- 
- \* El presente documento no necesariamente contiene los principales resultados del proyecto correspondiente o la descripción de los mismos. Los proyectos apoyados por la CONABIO así como información adicional sobre ellos, pueden consultarse en [www.conabio.gob.mx](http://www.conabio.gob.mx)
  - \*\* El usuario tiene la obligación, de conformidad con el artículo 57 de la LFDA, de citar a los autores de obras individuales, así como a los compiladores. De manera que deberán citarse todos los responsables de los proyectos, que proveyeron datos, así como a la CONABIO como depositaria, compiladora y proveedora de la información. En su caso, el usuario deberá obtener del proveedor la información complementaria sobre la autoría específica de los datos.

**NIVELES Y PATRONES DE VARIACION GENÉTICA EN EL GÉNERO *ABIES* EN  
MÉXICO**

**INFORME FINAL, segunda versión**

25 de febrero de 1997

CONABIO, Número de Referencia B138

Area de Conocimiento: Ecológico y Genético

Responsables: Glenn R. Furnier y Luis E. Eguiarte Fruns

Colaboradores: Erika Aguirre Planter y Andrés Keiman Freire.

**Instituto de Ecología, UNAM**

**Apartado Postal 70-275, México 04510, D.F.**

**teléfono 6 22 90 06**

**fax 6 22 89 95 y 6 16 19 76**

**correo electrónico: [gurnier@forestry.umn.edu](mailto:gurnier@forestry.umn.edu), [fruns@servidor.unam.mx](mailto:fruns@servidor.unam.mx)**

## INTRODUCCION Y ANTECEDENTES

Indudablemente el territorio ocupado actualmente por México tiene una gran biodiversidad, si se le compara con otros países (ver por ejemplo, Ramamoorthy et al., 1993). Si bien esta biodiversidad está ampliamente documentada, en términos generales sólo se han propuesto especulaciones sobre sus causas. Usualmente se considera que, cuando menos en parte, esta biodiversidad es consecuencia de la gran diversidad en fisiografía y clima que presenta México. Implícitamente se considera que esta variación ambiental podría causar diferenciación genética de las poblaciones, por adaptación a diferentes ambientes y a flujo génico limitado entre las poblaciones. Esta diferenciación genética sería el primer paso dentro de los procesos de especiación, mismos que eventualmente generarían la gran diversidad de especies que encontramos en el territorio nacional.

Sin embargo, a pesar de esta gran biodiversidad, existen muy pocos estudios sobre los patrones de variación genética o sobre filogenia de especies de plantas mexicanas (Eguiarte, 1990; Cordero, mans.). Estos estudios son muy importantes, ya que los programas de conservación de la biodiversidad cuentan con recursos limitados y tienen que decidir cómo deben emplear estos recursos. Por lo tanto, información sobre los niveles y patrones de variación genética y sobre la filogenia son una herramienta indispensable para entender las causas de la biodiversidad en México y para proponer el desarrollo de planes de conservación adecuados (Eguiarte, 1990; Ellstrand y Elam, 1993; Hamrick et al., 1991; Karron, 1991). El análisis de isoenzimas ha sido un método muy usado para examinar la estructura genética y la filogenia en plantas (Eguiarte, 1990; Hamrick et al., 1991; Karron, 1991; Nuñez-Farfán et al., 1996). Estos marcadores pueden revelar la diferenciación entre poblaciones (debida a la deriva genética y/o a flujo génico limitado), y tienen la ventaja de ser rápidos y de costo relativamente bajo, permitiendo el análisis de varios genes, y gran cantidad de individuos y poblaciones de manera simultánea (Eguiarte, 1990). Adicionalmente, tienen la ventaja de que se puede aplicar en su análisis la teoría clásica de la genética de poblaciones sin mayores modificaciones (Eguiarte, 1990).

### **El género *Abies***

El género *Abies* pertenece a la familia Pinaceae y fue establecido por Miller en el año de 1754 con *A. alba* como especie tipo (Schroeder, 1989a). Los árboles del género *Abies* son comúnmente conocidos en México como oyameles, abetos o pinabetes. La

taxonomía de género ha sido problemática, ya que la morfología es muy poco variable entre las supuestas especies, y existen datos de hibridación entre especies consideradas como muy distintas (Liu, 1971; St. Clair y Critchfield, 1988). Actualmente se reconocen aproximadamente entre 40 y 60 especies de *Abies*, y sólo se encuentran en el hemisferio norte (Liu, 1971; Farjon y Rushforth, 1989; McVaugh, 1992). La mayoría de estas especies se encuentran en latitudes y/o altitudes elevadas (Farjon y Rushforth, 1989). En la mayoría de los casos las poblaciones de abetos están asociadas a otras especies de Coníferas como son *Picea*, *Tsuga*, *Pseudotsuga*, *Larix*, *Juniperus* y *Pinus*. Las principales características de las especies de *Abies* son (Martínez, 1948; Liu, 1971): son árboles monoicos (esto es con, inflorescencias masculinas y femeninas separadas dentro de un mismo individuo), corpulentos, perennifolios, resinosos, de copa cónica, simétrica y aguda. Son plantas diploides cuyo número cromosómico es de  $2n = 24$ . El tronco es erguido y simple, llega a medir de 30 a 40 metros de altura (pero se han registrado individuos de mayor longitud), con un ancho de 40 a 150 cm de diámetro. En general las ramas comienzan a poca altura y pueden ser horizontales o algo levantadas.

### **Abies de México**

En México, los bosques de *Abies* se desarrollan a grandes altitudes que oscilan entre los 1,700 y 3,500 metros sobre el nivel del mar. Por esta razón es que su distribución en las sierras es dispersa y localizada, provocando un aislamiento geográfico entre las poblaciones. Muchas de estas poblaciones de *Abies* tienen gran importancia ecológica y económica, proveyendo madera, leña, árboles de ornato en las fiestas navideñas, protección de cuencas hidrográficas, hábitat para la vida silvestre y lugares de recreo. Por ejemplo, las mariposas monarcas pasan los inviernos en México en hibernación en bosques de *A. religiosa*. en los estados de México y Michoacán. También es considerado un hábitat importante para las poblaciones de venado cola blanca en los estados del Norte de la República (Hoth, 1995; Snook, 1995; Anderson y Brower, 1996).

Generalmente en México se considera que existen ocho especies de *Abies*, siendo seis de estas endémicas (Martínez 1948; Rzedowski 1978).

Según Martínez (1948) y Donahue et al. (1985), las especies de *Abies* mexicanos y sus rangos de distribución son:

- 1) *A. concolor* (Baja California Norte y Sonora, pero principalmente en los EUA).
- 2) *A. durangensis* (Chihuahua, Coahuila y Durango).

- 3) *A. guatemalensis* (Chiapas, Guerrero, Hidalgo, Jalisco, Oaxaca, Puebla y San Luis Potosí; también en El Salvador, Guatemala y Honduras).
- 4) *A. hickeli* (Chiapas, Oaxaca y Veracruz).
- 5) *A. mexicana* (Coahuila y Nuevo León).
- 6) *A. oaxacana* (Guerrero y Oaxaca)
- 7) *A. religiosa* (Distrito Federal, Guerrero, Hidalgo, Jalisco, México, Michoacán, Morelos, Puebla, Tlaxcala y Veracruz)
- 8) *A. vejari* (Coahuila, Nuevo León y Tamaulipas).

Adicionalmente, Martínez (1948) señala como taxa subespecíficos a:

- 1) *A. durangensis* var. *coahuilensis*.
- 2) *A. guatemalensis* var. *tacanensis*.
- 3) *A. guatemalensis* var. *jaliscana*.
- 4) *A. religiosa* var. *emarginata*.
- 5) *A. vejari* var. *macrocarpa*.

Recientemente, Rushforth (1989) ha propuesto dos nuevas especies en el oeste del país. Una de estas especies, *A. flinckii*, corresponde tanto a *A. guatemalensis* var. *jaliscana*, como a *A. religiosa* var. *emarginata* de Martínez (1948). La otra especie, *A. colimensis*, corresponde a *A. religiosa* del Nevado de Colima, debido a que Rushforth (1989) considera que ésta es diferente a las otras poblaciones de *A. religiosa*. Debreczy et al. (1994) propusieron otras dos nuevas especies, una en Oaxaca y la otra en Durango.

Los bosques mexicanos de *Abies* se encuentran bajo una gran y creciente presión debido a su uso como madera y leña (Donahue et al. 1985). La especie mexicana de *Abies* más amenazada es *A. guatemalensis*, que además es la especie de *Abies* que se encuentra más al sur en el mundo (Donahue et al. 1985; Dvorak y Donahue 1992). Existen poblaciones de *A. guatemalensis* desde Jalisco y San Luis Potosí hasta El Salvador, pero el tamaño de estas poblaciones sigue reduciéndose. *Abies guatemalensis* se encuentra en las listas de especies en peligro de extinción (Donahue et al. 1985). También hay otras especies con rangos de distribución muy pequeños (*A. hickeli*, *A. mexicana*, *A. oaxacana*, *A. vejari*). En el Valle de México la contaminación es otra amenaza a los bosques de *A. religiosa* (Alvarado et al. 1993).

A partir de estudios paleobotánicos se ha podido determinar que el origen de los *Abies* en Norteamérica ocurrió al principio o antes de la mitad del Eoceno en el período Terciario, aproximadamente hace 50 millones de años (Liu, 1971). Se ha propuesto que más recientemente, en los periodos glaciares, poblaciones de *Abies* invadieron las zonas bajas de los actuales desiertos del Norte de México (Critchfield, 1984). Sin

embargo, no existe un acuerdo sobre cómo y cuando se dió la separación y constitución de las poblaciones actuales de *Abies*. Este fenómeno se debe principalmente a que es difícil encontrar plantas fósiles bien conservadas para este grupo en México. A pesar de este inconveniente, algunos investigadores creen que el aislamiento entre las poblaciones podría haberse efectuado de forma relativamente reciente, por lo que sería otra causa explicativa del porqué es difícil diferenciarlos morfológicamente de una manera clara (Furnier, obs. pers.).

La presencia de Sierras separadas por tierras bajas más calientes en México causa aislamiento entre las diferentes poblaciones de *Abies*, y puede producir diferenciación genética. Si existe elevada diferenciación genética entre las poblaciones, para preservar la diversidad genética en estas especies tendríamos que considerar un gran número de áreas de conservación (Eguiarte 1990). Por otra parte, el flujo genético, ya sea por movimiento de polen y/o semillas, puede disminuir esta diferenciación, causando que las poblaciones sean más parecidas. Si éste es el caso, tendríamos que mantener menos áreas para la conservación genética (Eguiarte 1990; Eguiarte et al., 1992). Dado que los recursos para la conservación son limitados, nos interesa conservar primero las poblaciones que sean más diferentes. Claramente, este objetivo requiere de conocer el nivel de diferenciación entre las poblaciones. Por otra parte, si los niveles de variación genética dentro de cada población son bajos, es suficiente mantener o coleccionar unos cuantos individuos por población, ya que en ellos tendremos representada casi toda la variación genética, mientras que si los niveles de variación genética intrapoblacional son altos, se necesita tener tamaños de población o de colecta más grandes para tener representados a la mayor parte de los alelos, especialmente a los más raros (Eguiarte 1990; Eguiarte et al., 1992). Por lo tanto, para diseñar las estrategias óptimas para la conservación genética de los árboles de México se necesita conocer tanto los niveles como los patrones de variación genética.

Los *Abies* mexicanos son un grupo lo suficientemente pequeño para que podamos hacer una investigación de genética de poblaciones de todo el grupo. De esta manera, los *Abies* de México nos ofrecen una oportunidad para estudiar la historia evolutiva y biogeográfica de un grupo amenazado de importancia ecológica y económica. En particular, podemos medir los niveles de variación genética dentro de las poblaciones y evaluar los niveles de diferenciación genética entre las poblaciones dentro de las especies, entre los taxa subespecíficos y en relación a las nuevas especies recientemente propuestas.

## Antecedentes de genética de poblaciones en *Abies* y otras coníferas

En los estudios realizados con diferentes grupos de coníferas, incluyendo *Abies*, se ha encontrado que son de los grupos de especies más variables genéticamente (Hamrick et al., 1992; Fady y Conkle, 1993; Matusova, 1995; El-Kassaby y Ritland, 1996). Sin embargo, las coníferas también se han caracterizado por tener bajos niveles de diferenciación interpoblacional (Mitton, 1983; Eguiarte, 1990). Por ejemplo, para árboles en general, Hamrick y Godt (1989) reportan un polimorfismo de 67.7 % y una heterocigosis promedio de 0.207 (promedios de 20 especies de árboles, principalmente coníferas). Para 121 gimnospermas, Hamrick et al. (1992) señalan un promedio de 1.83 alelos por locus. En la Tabla 1 se mencionan algunos valores de variación genética para especies del género *Abies*.

Tabla 1.- Valores de variación genética estimados en otros estudios para especies del género *Abies*. *H* es la heterocigosis esperada en Hardy-Weinberg, y *P* es la proporción de loci polimórficos.

Especie	N. Loci	H.	P	Referencia
<i>Abies alba</i>	9	0.50	94%	Kormutak et al., 1982
<i>Abies balsamea</i>	14	---	57%	Neale y Adams, 1981
<i>Abies balsamea</i> / <i>A. fraseri</i> y pobl. intemerdias	20	0.13	55%	Jacobs et al., 1984
<i>A. bracteata</i>	30	0.52	23%	Ledig, 1986
<i>A. cephalonica</i>		0.175 a	52.9% a	Fady y Conkle, 1993
<i>A. alba</i>		0.290 0.136	87.5% ---	Matusova, 1995
<b>Promedio</b>		<b>0.30</b>	<b>57.3%</b>	

Por otra parte, en las coníferas se ha encontrado que la mayor parte de la variación genética de una especie (generalmente por lo menos el 90%) se encuentra en cada una de las poblaciones que forman a la especies (Mitton, 1983; Hamrick y Godt, 1989; Eguiarte, 1990).

Los niveles de heterocigosis y la baja diferenciación interpoblacional han sido atribuidos al sistema reproductivo que tienen las coníferas, que producen semillas predominantemente por entrecruzamiento (Mitton, 1983; Eguiarte, 1990). Las tasas de

polinización cruzada (o de entrecruzamiento, *outcrossing rates*,  $t$ ) encontradas en coníferas son cercanas a 1, indicando que la mayor parte de las semillas son producto de una fecundación cruzada (en contraste con semillas producto de autopolinización, Eguiarte, 1990). Para especies del género *Pinus* se han encontrado tasas de polinización cruzada que van desde 0.84 a 0.98, para *Pseudotsuga* de 0.90 a 0.93 (Schroeder, 1989b) y para *Abies alba* se encontró una tasa de entrecruzamiento promedio de 0.89 (Schroeder, 1989b).

## OBJETIVOS

En este informe presentamos los resultados más importantes obtenidos en el proyecto **"Niveles y patrones de variación genética en el género *Abies* en México"**, desde enero de 1995 a la fecha. El objetivo principal del presente proyecto era el de ser una primera aproximación al estudio de la evolución en todas las especies de *Abies* mexicanos, utilizando métodos de electroforesis de isoenzimas. Para alcanzar este objetivo, llevamos a cabo análisis clásicos de genética de poblaciones, incluyendo análisis de los niveles de variación genética entre y dentro poblaciones (o sea un análisis de la estructura genética de las especies) y un análisis de las relaciones filogenéticas entre las especies.



## MATERIALES Y METODOS

### Localidades muestreadas

Colectamos *Abies* en 55 sitios en México, Guatemala y Estados Unidos, que representan todas las especies descritas para México (Tabla 2 y 3). De cada localidad colectamos material de cuando menos 20 individuos adultos, aunque generalmente tratamos de colectar material de 40 individuos, ya que este número nos permite estimar las frecuencias alélicas con una precisión de 0.0125 (Baverstock y Moritz, 1990; Weir, 1990). Sólo se colectaron menos individuos cuando fue imposible llegar a 40, dadas las características de cada población. De cada individuo se cortó una rama de 20 centímetros de largo y se guardó en bolsas de plástico "ziploc". Las hojas no estuvieron más de una semana en el campo, ésto con el fin de que no se echaran a perder las muestras. En algunos casos con las mismas bolsas de plástico introducimos hielo para conservar una temperatura baja.

Tabla 2.- Total de poblaciones colectadas de especies pertenecientes al género *Abies*.

<b>Especie</b>	<b>Poblaciones</b>
<i>A. concolor</i>	5
<i>A. durangensis</i>	5
<i>A. durangensis</i> var. <i>coahuilensis</i>	3
<i>A. vejari</i>	5
<i>A. hickeli</i>	9
<i>A. guatemalensis</i>	9
<i>A. guatemalensis</i> var. <i>tacanensis</i>	1
<i>A. religiosa</i>	11
<i>A. religiosa</i> var. <i>emarginata</i>	6
<i>A. lasiocarpa</i> var. <i>arizonica</i>	1
<b>Total</b>	<b>55</b>

Para cada sitio muestreado se registró sus coordenadas y su altitud con un geoposicionador (Ensign GPS, Trimble Navigation), datos que fueron confirmados con las cartas de INEGI. En la Tabla 2 se muestran los totales de poblaciones colectadas. Los datos de ubicación geográfica y especies se encuentran en las bases de datos GEOGRA, CURATO y TAXONO y en la Tabla 3. *Abies concolor* fue propuesto en nuestro proyecto original como grupo externo para los análisis filogenéticos, pero análisis preliminares sugirieron que no era muy distinto de las otras especies del norte del país. Por eso colectamos más sitios de *A. concolor* para incluir una muestra mejor e incluimos una población de *A. lasiocarpa* var. *arizonica* como un nuevo grupo externo.

Tabla 3.- Localidades colectadas. Los números de sitio corresponden a los números utilizados en el resto del reporte, por ejemplo, H1 en el resto del texto y tablas se refiere a *A. hickeli*, sitio 1.

Estado	Sitio	Coordenadas	Altitud, en msnm	Especie
Oaxaca	1.Llano Grande/ Puerta Yabazia	17° 10' N 96° 22' O	2000	<i>Abies hickeli</i>
Oaxaca	2.San Juan Atepec	17° 30' N 96° 30' O	2800	<i>Abies guatemalensis</i>
Oaxaca	3.Ixtalán de Juárez	17° 22' N 96° 26' O	2904	<i>Abies hickeli</i>
Oaxaca	4.El Portillo	17° 27' N 96° 24' O	2530	<i>Abies hickeli</i> (= <i>A. zapoteca</i> )
Oaxaca	5.El Tlacuache	16° 44' N 97° 07' O	2600	<i>Abies hickeli</i>
Oaxaca	6.San Miguel Aloapan	15° 28' N 96° 44' O	2500	<i>Abies hickeli</i>
Oaxaca	7.Miahutlan	16° 11' N 96° 18' O	2500	<i>Abies guatemalensis</i>
Oaxaca	8.San Jerónimo Coatlán	16° 14' N 97° 00' O	2200	<i>Abies hickeli</i>
Oaxaca	9.Tlaxiaco	17° 03' N 97° 45' O	3000	<i>Abies hickeli</i>

Chiapas	10.Volcán Tacaná	15° 07'N 98° 07'O	3330	<i>Abies guatemalensis</i> , var. <i>tacanensis</i>
Chiapas	11.El Porvenir	15° 27'N 92° 16'O	2620	<i>Abies guatemalensis</i>
Chiapas	12.Coapilla	17° 09'N 93° 07'O	2000	<i>Abies guatemalensis</i>
Edo. de México	13.Estación Microondas La Cañada	19° 26'N 100° 12'O	2800	<i>Abies religiosa</i>
Michoacán	14.El Caracol	19° 36'N 100° 46'O	2300	<i>Abies religiosa</i> var. <i>emarginata</i>
Michoacán	15.San José de la Cumbre	19° 40'N 100° 49'O	2800	<i>Abies religiosa</i>
Michoacán	16.Los Sauces	19° 18'N 101° 17'O	2150m	<i>Abies religiosa</i> var. <i>emarginata</i>
Michoacán	17.Dos Aguas	18° 46'N 102° 57'O	2500	<i>Abies religiosa</i> var. <i>emarginata</i>
Jalisco	18.La Cumbre de Guadalupe	20° 12'N 104° 43'O	2160m	<i>Abies religiosa</i> var. <i>emarginata</i>
Jalisco	19.Cuale	20° 21'N 104° 59'O	2370	<i>Abies religiosa</i> var. <i>emarginata</i>
Jalisco	20.El Terreno I	19° 27'N 103° 56'O	2500	<i>Abies religiosa</i> var. <i>emarginata</i>
Jalisco	21.El Terreno II	19° 28'N 103° 57'O	2500	<i>Abies religiosa</i>
Colima	22.Nevado de Colima	19° 35'N 103° 35'O	3270m	<i>Abies religiosa</i> ( <i>A. colimensis</i> )
Baja california	23.San Pedro Martir	30° 00'N 115° 00'O	3069	<i>Abies concolor</i>

Coahuila	24.Sierra la Madera	27° 06' N 102° 30' O	2280	<i>Abies durangensis coahuilensis</i>
Coahuila	25.Rincón de María	28° 27' N 102° 02' O	1560	<i>Abies durangensis coahuilensis</i>
Coahuila	26.Sierra la Madera El Carmen	28° 52' N 102° 35' O	2430	<i>Abies durangensis coahuilensis</i>
Coahuila	27.Jame	25° 19' N 100° 33' O	2850	<i>Abies vejarii</i>
Coahuila	28.Mesa de las Tablas	25° 12' N 100° 23' O	2880	<i>Abies vejarii</i>
Coahuila	29.Los Lirios	25° 26' N 100° 32' O	2700	<i>Abies vejarii</i>
Nuevo León	30.Cerro Potosí	24° 55' N 100° 12' O	2100	<i>Abies vejarii</i>
Chihuahua	31.Pinos Altos	28° 15' N 108° 18' O	2190	<i>Abies durangensis</i>
Chihuahua	32.Pinos Altos	28° 15' N 108° 18' O	2400	<i>Abies durangensis</i>
Chihuahua	33.Río Las Garrochas	29° 18' N 108° 12' O	2610	<i>Abies durangensis</i>
Chihuahua	34.Creel	27° 42' N 107° 37' O	2430	<i>Abies durangensis</i>
Chihuahua	35.Cerro las Iglesias	26° 16' N 106° 36' O	3030	<i>Abies durangensis</i>
Arizona	36.Mount Graham	32° 38' N 109° 50' O	2970	<i>Abies concolor</i>
Arizona	37.Mount Lemmon	32° 27' N 110° 47' O	2970	<i>Abies concolor</i>
Arizona	38.Mount Lemmon	32° 27' N 110° 47' O	2910	<i>Abies lasiocarpa var. arizonica</i>
Durango	39.Paraje San Antonio	23° 41' N 105° 25	2500	<i>Abies durangensis</i>
Durango	40.Los Bancos	23° 40' N 105° 44	2970	<i>Abies durangensis</i>
Guatemala El Progreso	41.Cerro el Pinalón	15° 04' N 89° 55' O	2970	<i>Abies guatemalensis</i>
Guatemala Jalapa	42.Soledad Grande	14° 31' N 90° 08' O	2610	<i>Abies guatemalensis</i>
Guatemala Totonicapán	43.Rancho Tejas	14° 52' N 91° 17' O	2730	<i>Abies guatemalensis</i>
Guerrero	44.Carrizal del Bravo	17° 35' N 99° 51' O	2670	<i>Abies guatemalensis</i>

Puebla	45.Volcán Atlitzin	18° 58' N 97° 21' O	3060	<i>Abies religiosa</i>
Veracruz	46.Xometla	18° 58' N 97° 12' O	2910	<i>Abies hickeli</i>
Veracruz	47.Llano Actopan (Cofre de Perote)	19° 31' N 97° 06' O	3090	<i>Abies hickeli</i>
Veracruz	48.El Conejo (Cofre de Perote)	19° 31' N 97° 09' O	3510	<i>Abies religiosa</i>
Tlaxcala	49.Tlaxco	19° 41' N 98° 05' O	2760	<i>Abies religiosa</i>
Nuevo León	50.Zaragoza	25° 53' N 99° 48' O	2610	<i>Abies vejarii</i>
San Luis Potosí	51.Sierra El Pino	22° 27' N 99° 27' O	1770	<i>Abies guatemalensis</i>
Hidalgo	52.Agua Blanca	20° 21' N 98° 20' O	2310	<i>Abies guatemalensis</i>
Hidalgo	53.El Chico	20° 09' N 98° 42' O	2940	<i>Abies religiosa</i>
México	54.Volcán Popocatepetl	19° 05' N 98° 40' O	3330	<i>Abies religiosa</i>
Michoacán	55.Tancítaro	19° 23' N 102° 19' O	3030	<i>Abies religiosa</i>

Nuestras observaciones de campo y en el herbario Nacional (MEXU) sugieren que *A. hickeli* y *A. oaxacana* son indistinguibles entre sí, opinión compartida por la mayor parte de los especialistas contemporáneos (ver Liu, 1971, págs. 255 a 257), y el nombre aceptado es *A. hickeli*. Por esta razón tenemos un gran número de poblaciones colectadas de *A. hickeli* y ninguna de *A. oaxacana*. Por otra parte, *A. religiosa* var. *emarginata* y *A. guatemalensis* var. *jaliscana* tampoco parecen ser fáciles de separar en algunos casos, ni en el campo ni en el herbario. Adicionalmente, *Abies durangensis* y *A. durangensis* var. *coahuilensis* no presentan diferencias morfológicas claramente visibles. Por todo lo anterior, en nuestras tablas desaparecen estas taxa sinónimos, y por lo mismo se pueden detectar estas diferencias en relación a los taxa en nuestros análisis con respecto propuestas en el proyecto original y en la introducción.

## Métodos isoenzimáticos

El tejido colectado se refrigeró hasta la separación en el laboratorio de las yemas de crecimiento de las ramas, que posteriormente fueron mantenidas a  $-20^{\circ}\text{C}$  hasta su preparación.

Utilizamos análisis de isoenzimas estándar (electroforésis horizontal en geles de almidón) para examinar los patrones de variación genética (Soltis et al., 1983; Eguiarte, 1990; Conkle, 1982; Cheliak y Pitel, 1984; Hillis y Mortiz, 1990).

Las yemas foliares fueron previamente molidas en un buffer de extracción. Una parte crucial es utilizar un buffer de extracción óptimo para las isoenzimas que se van a analizar. Después de varias pruebas, decidimos utilizar el siguiente: tres partes de buffer YO y una parte de buffer VegII. Buffer YO, para 100 ml: mezclar 10 ml de solución Tris-ácido cítrico (1.57 g trizma base, 0.83 g ácido cítrico), llevar 100 ml con agua destilada, ajustar pH a 7.0), 0.05 g NADP, 0.05 g NAD, 0.018 g ácido ascórbico, 0.034 g de EDTA, 0.10 g de albumina serosa de bovino, 0.33 ml de 2-mercaptoetanol llevar a 100 ml con agua. Buffer VegII: 0.31 g ácido bórico, 2 ml de Tergitol 15-S-9, 2 g de PEG 8000, 7 g de PVP 40, 1 g de PVP 360, 0.88 g de ácido ascórbico, 0.02 g NAD, 0.1 g de albúmina serosa de bovino, 0.005 g de piridoxal 5'-fosfato, 0.27 g de sacarosa, 0.19 g de cisteina-HCl, 0.66 ml, 2-mercaptoetanol, llevarlo a 100 ml con agua y ajustar el pH a 7.1 con NaOH.

Se emplearon dos sistemas de buffers y se analizó un total de 11 enzimas, obteniéndose la resolución de 16 loci, en geles con una concentración del 10% de almidón (Sigma). Los sistemas que se corrieron son los siguientes: el sistema H (Cheliak y Pitel, 1984), con las enzimas ácido fosfatasa (ACPH), fosfoglucomutasa (PGM), isocitrato deshidrogenasa (IDH), menadiona reductasa (MNR) y shikimato deshidrogenasa (SDH, dos loci), y el sistema R (Ridgeway et al., 1970; Weber, 1980) con las enzimas fosfoglucoisomerasa (PGI, dos loci), glutamato deshidrogenasa (GDH), leucina aminopeptidasa (LAP), peroxidasa anódica (APX, dos loci), peptidasa (PEP, tres loci) y rubisco (RUB). Los diferentes loci fueron numerados secuencialmente para cada enzima, asignando el número más bajo para el que migrara con mayor velocidad. Los alelos para cada locus también fueron definidos de manera similar.

Las tinciones se realizaron, con modificaciones, siguiendo las recetas de Soltis et al. (1983), Conkle et al. (1982), Cheliak y Pitel (1984) y Eguiarte (1990).

## Análisis estadístico

Variación genética. Los análisis básicos se realizaron fundamentalmente utilizando el programa BIOSYS-1 (Swofford y Selander, 1989).

Para medir el nivel de variación genética dentro las especies y las poblaciones usamos medidas estándares de variación genética, como el número promedio de alelos por loci ( $A$ ) :

$$A = a / l$$

donde  $a$  es el número de alelos en una población y  $l$  es el número de loci en la misma (Hedrick, 1983; mínimo =1, máximo = al tamaño de muestra x 2). Otra medida empleada fue la proporción de loci polimórficos ( $P$ ) , la cual se calculó a partir del número  $x$  de loci polimórficos en una muestra de  $m$  loci, en porcentajes (Hedrick, 1983):

$$P = (x / m) * 100$$

Un locus fue clasificado como polimórfico si tuvo más de un alelo (mínimo 0, máxima 100% si todos los loci son polimórficos).

La heterocigosidad esperada según el equilibrio de Hardy-Weinberg ,  $H_e$  , es una de las mejores medidas de variación genética (Eguiarte 1990):

$$H_e = 1 - \sum p_i^2$$

donde  $p_i$  son las frecuencias alélicas para dicho locus. También se obtuvo la heterocigosis promedio para cada población con las heterocigosis esperadas para todos los loci estudiados (Hedrick, 1983; mínimo = 0, si no hay variación genética, máximo = 1, cuando todos los genes son polimórficos y con un número muy grande de alelos en frecuencias alélicas iguales).

Índice de fijación y estimación de la  $t$  en equilibrio. Dentro de cada población, para investigar si hubo una desviación de las frecuencias genotípicas esperadas por el equilibrio de Hardy-Weinberg, se estimaron los índice de fijación  $F$  (Wright, 1969):

$$F = 1 - H_o / H_e$$

donde  $H_o$  es la proporción de heterócigos observados directamente en la población y  $H_e$  es la proporción de heterócigos esperados según Hardy-Weinberg. Si el valor de este índice es cercano a cero, consideramos que la población se encuentra cercana al equilibrio de Hardy-Weinberg (básicamente, que los proporciones de genotipos que se encuentran corresponden a lo que se esperaría si los apareamientos fueran al azar, entre otras condiciones, ver Eguiarte, 1986). Si la  $F$  es positiva, indica que la población presenta deficiencia de heterócigos (usualmente debido a apareamiento entre parientes, o sea a endogamia) y si es negativo un exceso de heterócigos (usualmente debido a selección a favor de los heterócigos, ver Eguiarte, 1990).

La tasa de polinización cruzada,  $t$  (o tasa de entrecruzamiento, *outcrossing rate*), es uno de los parámetros más importantes que determinan la estructura genética de las poblaciones (Eguiarte 1990). Este parámetro toma valores entre 0, si todas las semillas de una población son resultado de autopolinización, a 1, si todas son resultado exclusivamente de polinización cruzada. Existen varios métodos para estimar la  $t$ , pero, si toda la endogamia de una población se debe a la autopolinización, y ya se llegó al equilibrio, se puede estimar la  $t$  de la expresión  $t_{eq} = 1 - F / 1 + F$  (Haldane, 1924, ver también Eguiarte, 1990).

Estadísticos  $F$  de Wright. Los niveles de diferenciación entre y dentro de las poblaciones se evaluaron con los estadísticos  $F$  de Wright (Weir, 1990). Los estadísticos  $F$  dan una medida de la desviación de las frecuencias genotípicas con respecto a las esperadas según el equilibrio de Hardy-Weinberg a varios niveles y por lo tanto son una medida del nivel de endogamia y diferenciación genética dentro y entre poblaciones (Eguiarte 1990; Weir 1990). Usualmente se consideran tres estadísticos  $F$ :  $F_{st}$ ,  $F_{it}$  y  $F_{is}$ , los cuales consideran que la variación genética se puede estimar a diferentes niveles, ya sea a nivel de la variación total de las poblaciones ( $t$ ), de las subdivisiones ( $s$ , subpoblaciones o poblaciones) y de las poblaciones individuales ( $i$ ).

$F_{st}$  es una medida que nos indica la diferenciación genética entre las poblaciones y siempre da un valor positivo. Podemos calcularlo de la siguiente manera:

$$F_{st} = H_t - H_s / H_t$$

donde  $H_s$  es el promedio de la heterocigosis esperada de cada una de las poblaciones y  $H_t$  heterocigosis esperada del total de poblaciones (Hedrick, 1983). Una  $F_{st}$  de 0 indica que todas las poblaciones analizadas tiene las mismas frecuencias alélicas para todos los loci. Entre más grande sea la  $F_{st}$ , indica mayor diferenciación entre las poblaciones, para llegar a 1, cuando todas las poblaciones tienen frecuencias alélicas diferentes para cada loci. Otra forma de interpretar este estimador es, del total de variación genética, cuánta se encuentra dentro y entre cada población. Si es de 0, quiere decir que en cada población se encuentra el 100 % de la variación genética (y por lo tanto el componente entre poblaciones es de 0%), mientras que si  $F_{st}=1$ , indica que el 0% de la variación se encuentra dentro de cada población, o sea que dentro de cada población no hay variación genética y en cada una se encuentran alelos completamente diferentes, y por lo tanto el 100% de la variación se encuentra entre las poblaciones. Cuando se calcula la  $F_{st}$  para loci con más de dos alelos, Nei (1987) sugiere denominarlo  $G_{st}$ , ya que en las definiciones originales de Wright esto no se encontraba definido.



$F_{is}$  y  $F_{it}$  son medidas de la desviación de las frecuencias genotípicas observadas de las esperadas con equilibrio de Hardy-Weinberg dentro de las poblaciones y en el total de todas éstas, respectivamente. Al igual que en los índices de fijación  $F$ , los valores positivos indican una deficiencia de heterocigos y los negativos un exceso. Estas medidas se pueden obtener:

$$F_{is} = H_s - H_o / H_s$$

$$F_{it} = H_t - H_o / H_t$$

donde  $H_o$  es el promedio de la heterocigosis observada de cada locus dentro de las poblaciones,  $H_t$  es el promedio de la heterocigosis esperada de todos los loci de todas las poblaciones y  $H_s$  es el promedio de la heterocigosis esperada de todos los loci dentro de cada una de las poblaciones en estudio (Hedrick, 1983). Estos dos índices toman valores entre -1 a +1, y se interpretan igual que los índices de fijación. De hecho, la  $F_{is}$  es un promedio ponderado de los índices de fijación.

Estos tres valores, están relacionados entre sí (Hedrick, 1983):

$$F_{is} = F_{it} - F_{is} / 1 - F_{is}$$

Distancia genética y fenogramas. También obtuvimos las distancias genéticas de Nei para posteriormente estimar relaciones filogenéticas entre todas las poblaciones (Weir, 1990). La distancia genética de Nei (1978) es:

$$D = -\ln(J_{XY} / (J_X J_Y)^{1/2})$$

donde  $J_{XY}$  es la probabilidad de escoger un par de alelos idénticos, uno de la población  $x$  y otro de la  $y$ , y  $J_X$  y  $J_Y$  son las probabilidades de escoger un par idéntico dentro de cada población estudiada (Hartl y Clark, 1989). La distancia genética puede tener un valor de cero, si las frecuencias alélicas de las poblaciones son idénticas hasta infinito si las poblaciones no tienen ningún alelo en común (Hedrick, 1983).

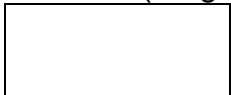
A partir de las distancias  $D$  se construyeron fenogramas usando el algoritmo UPGMA (Sokal y Michener, 1958).

Estimaciones de flujo génico. Por otra parte, el estadístico  $F_{st}$  permite estimar indirectamente el flujo génico (utilizando la expresión derivada por Wright (1951):

$$F_{st} \approx \frac{1}{4Nm + 1},$$

donde  $N$  es el

tamaño de la población,  $m$  es la fracción de inmigrantes a  $N$ . A partir de  $F_{st}$  se puede estimar indirectamente el flujo génico entre las subpoblaciones que integran la población como (Wright 1951):



Valores de  $Nm \ll 1$  producen un fuerte diferenciación entre las subpoblaciones (i.e., deriva génica actuando independientemente en cada subpoblación; Slatkin, 1994), mientras que si  $Nm > 1$ , las subpoblaciones se comportan como una sola población panmíctica y el flujo génico restringe el efecto de la deriva génica (Hartl y Clark, 1989; Slatkin, 1994).

No existe forma de estimar  $m$  indirectamente de manera independiente (Eguiarte et al., 1993; Slatkin, 1994), por lo que la aproximación es estimar  $Nm$  a partir de  $F_{st}$ . Los estimadores promedio de  $Nm$  requieren, para ser confiables, ser insensibles a la acción de otras fuerzas evolutivas como la mutación y la selección natural. Crow y Aoki (1984) demostraron que  $G_{st}$  (el estimador de  $F_{st}$  para loci multialélicos) no depende ni de la tasa de mutación, ni del número de alelos. La expresión de  $G_{st}$  incluye sin embargo un factor que toma en cuenta el número de subpoblaciones en la población:

$$G_{st} = \frac{1}{4\alpha Nm + 1},$$

donde  $\alpha = \left(\frac{n}{n-1}\right)^2$ , siendo  $n$  el número de subpoblaciones.

A partir de la  $Nm$ , Slatkin y Barton (1989) señalan que se puede aproximar un valor de tamaño efectivo ( $N_e$ ) si las poblaciones siguen un patrón de migración del tipo *stepping stone*, donde  $N_{eb} = Nm \times 2 \times \pi$  (ver también Eguiarte, 1993).

Slatkin (1985) desarrolló otros métodos para estimar el flujo génico indirectamente. Uno de ellos conocido como el de los alelos "privados" (*private alleles*), que son aquellos que se encuentran exclusivamente en una población. La estimación de  $Nm$  requiere conocer la frecuencia promedio de los alelos privados,  $\bar{p}(1)$ , y Slatkin (1985) encontró que existe una relación entre la frecuencia de los alelos privados y  $Nm$ :  $\ln \bar{p}(1) = \{(-0.505)(\ln Nm)\} - 2.44$  (ver Del Valle (1996) y Nuñez et al. (1996), para ejemplos de su uso).

## RESULTADOS

Hasta el momento hemos analizado la variación isoenzimática en 48 de las poblaciones, incluyendo todas las poblaciones del norte del país y poblaciones de cada especie del sur del país. En el proyecto inicial especificamos que planeábamos realizar el análisis de 48 poblaciones. Debido a la devaluación, no tuvimos suficiente presupuesto para analizar todas las poblaciones colectadas. En este informe reportamos los resultados de estas 48 poblaciones. Con dinero de otros presupuestos esperamos acabar con los análisis de todas las 55 poblaciones en 1997. Le mandaremos a la CONABIO las bases de datos GENOTIPO y FRECALEL de todas las poblaciones cuando las tengamos, si la CONABIO así lo desea. De cualquier forma, consideramos que las 48 poblaciones analizadas actualmente nos dan una muy buena idea de los niveles y patrones de variación isoenzimática en los *Abies* mexicanos.

Decidimos realizar análisis separados de las poblaciones del Norte y Sur del país, basados en su aislamiento geográfico y resultados preliminares. Por otra parte, algunas isoenzimas y alelos sólo las pudimos resolver en el Norte o el Sur.

### **Niveles de variación genética**

Los niveles de variación genética, por población y los promedios por taxa se muestran en la Tabla 4. En general se observa que los niveles de variación son muy bajos para todas las poblaciones.

Tabla 4. -Variación genética en las poblaciones de *Abies* de México. Valores obtenidos a partir 16 loci (en paréntesis están los errores estándar). Las poblaciones corresponden a las indicadas en la Tabla 2 (por ejemplo, C23 es las población número 23 de la Tabla 2, que es *A.concolor*).

A. *Abies* del Norte de México

Población	N	No. promedio de alelos por locus	Porcentaje de loci polimórficos*	Heterocigosis promedio	
				observados	esperados HdyWbg**
1. C23	41.3 ( .3)	1.3 ( .1)	25.0	.051 ( .024)	.075 ( .035)
2. DC24	37.3 ( .5)	1.3 ( .1)	25.0	.036 ( .017)	.079 ( .039)
3. DC25	19.2 ( 3.9)	1.1 ( .1)	12.5	.024 ( .017)	.043 ( .030)
4. DC26	27.8 ( 3.2)	1.3 ( .1)	18.8	.072 ( .040)	.060 ( .034)
5. V27	34.3 ( 4.0)	1.3 ( .1)	18.8	.064 ( .037)	.071 ( .040)
6. V28	33.7 ( 3.9)	1.3 ( .1)	25.0	.040 ( .020)	.082 ( .041)
7. V29	31.9 ( 3.7)	1.3 ( .1)	31.3	.039 ( .021)	.079 ( .042)
8. V30	33.5 ( 3.9)	1.3 ( .1)	25.0	.113 ( .052)	.109 ( .050)
9. D31	38.8 ( .2)	1.3 ( .1)	25.0	.054 ( .027)	.084 ( .042)
10. C32	38.8 ( .1)	1.2 ( .1)	18.8	.026 ( .018)	.043 ( .028)
11. C33	40.0 ( .0)	1.4 ( .2)	37.5	.078 ( .036)	.127 ( .050)
12. D34	25.6 ( 4.7)	1.2 ( .1)	18.8	.054 ( .030)	.050 ( .028)
13. D35	35.3 ( 3.2)	1.3 ( .1)	18.8	.041 ( .022)	.080 ( .043)
14. C36	39.7 ( .2)	1.4 ( .1)	37.5	.079 ( .037)	.111 ( .042)
15. C37	36.8 ( .3)	1.4 ( .2)	31.3	.076 ( .033)	.125 ( .049)
16. L38	36.4 ( 2.3)	1.1 ( .1)	12.5	.013 ( .011)	.033 ( .026)

17. D39	39.8 ( .3)	1.3 ( .1)	31.3	.056 ( .025)	.105 ( .044)
18. D40	20.6 ( .2)	1.4 ( .1)	37.5	.057 ( .021)	.146 ( .051)
19. V50	35.8 ( 2.3)	1.3 ( .1)	31.3	.078 ( .041)	.101 ( .046)
<b>Promedio norte</b>		<b>1.33</b>	<b>0.299</b>	<b>.063</b>	<b>.099</b>

B. *Abies* del Sur de México

Población	N	No. promedio de alelos por locus	Porcentaje de loci polimórficos*	Heterocigosis promedio	
				observados	esperados HdyWbg**
1. H1	30.8 ( 1.3)	1.6 ( .2)	31.3	.041 ( .017)	.090 ( .034)
2. G2	30.8 ( 3.6)	1.3 ( .1)	25.0	.047 ( .022)	.060 ( .027)
3. H3	31.4 ( 1.7)	1.4 ( .2)	18.8	.055 ( .023)	.087 ( .039)
4. G7	25.4 ( 1.9)	1.3 ( .1)	18.8	.033 ( .016)	.044 ( .023)
5. G10	28.8 ( .4)	1.4 ( .1)	25.0	.051 ( .028)	.072 ( .032)
6. G11	36.1 ( 1.5)	1.4 ( .2)	18.8	.072 ( .036)	.070 ( .033)
7. R12	31.1 ( 2.0)	1.8 ( .2)	43.8	.121 ( .039)	.155 ( .048)
8. R13	29.1 ( 2.9)	1.4 ( .2)	31.3	.070 ( .031)	.087 ( .039)
9. RE14	26.6 ( 3.0)	1.7 ( .2)	25.0	.055 ( .024)	.089 ( .035)
10. R15	35.9 ( 3.1)	1.4 ( .1)	31.3	.051 ( .031)	.080 ( .036)
11. RE16	24.4 ( 1.8)	1.6 ( .2)	37.5	.184 ( .059)	.158 ( .049)
12. RE17	13.8 ( 2.0)	1.2 ( .1)	12.5	.028 ( .020)	.051 ( .037)
13. RE18	41.3 ( .7)	1.8 ( .2)	43.8	.124 ( .041)	.133 ( .044)
14. GJ19	34.6 ( 1.6)	1.8 ( .2)	37.5	.119 ( .048)	.130 ( .044)

15. RE20	29.9 ( 2.0)	1.4 ( .2)	31.3	.097 ( .041)	.109 ( .047)
16. R21	36.3 ( 1.7)	1.1 ( .1)	0.0	.009 ( .006)	.008 ( .006)
17. R22	28.8 ( 4.0)	1.1 ( .1)	12.5	.037 ( .027)	.035 ( .026)
18. G41	35.8 ( .6)	1.3 ( .1)	18.8	.043 ( .020)	.058 ( .027)
19. G42	20.5 ( .3)	1.3 ( .1)	12.5	.046 ( .027)	.058 ( .036)
20. G43	25.7 ( 1.4)	1.3 ( .1)	12.5	.047 ( .025)	.063 ( .036)
21. G44	32.8 ( 3.1)	1.4 ( .1)	18.8	.044 ( .024)	.079 ( .041)
22. R45	36.5 ( .7)	1.8 ( .2)	37.5	.105 ( .038)	.128 ( .041)
23. R48	37.9 ( .7)	1.6 ( .2)	37.5	.116 ( .037)	.118 ( .039)
24. R49	34.7 ( 1.3)	1.6 ( .2)	25.0	.099 ( .044)	.116 ( .050)
25. G51	27.6 ( 2.1)	1.4 ( .2)	25.0	.075 ( .038)	.090 ( .043)
26. G52	33.3 ( 1.7)	1.7 ( .2)	25.0	.070 ( .031)	.094 ( .036)
27. R53	38.1 ( .9)	1.4 ( .2)	25.0	.065 ( .032)	.088 ( .042)
28. R54	26.6 ( 2.2)	2.2 ( .2)	68.8	.132 ( .033)	.235 ( .048)
29. R55	25.6 ( 2.0)	1.6 ( .1)	37.5	.099 ( .047)	.139 ( .049)
<b>Promedio Sur</b>		<b>1.46</b>	<b>27.18</b>	<b>.074</b>	<b>.094</b>

\* Un locus es considerado polimórfico si la frecuencia del alelo más común no excede 0.95

\*\* Estimador insesgado (Nei, 1987)

### Proporción de loci polimórficos, *P*.

Para todas las poblaciones, los niveles de variación genética (Tabla 4) son menores a los valores promedio encontrados en coníferas (Introducción y Tabla 1). En el Norte de México (Tabla 4. A), el promedio de  $P$  fue de 29.9%. Recordemos que la  $P$  va de 0 a 100%, donde 0 indica que no existe variación genética, y 100% es el máximo posible. *A. concolor* fue el taxón más rico en variación genética según la  $P$ , ya que su valor promedio fue de 35%, mientras que *A. durangensis* tuvo una  $P = 26.3\%$ , y *A. durangensis* var. *coahuilensis*  $P = 31.2\%$ . *A. vejari* fue la más pobre en variación genética, con una  $P = 23.8\%$ .

Mientras que en el Sur (Tabla 4. B) el polimorfismo promedio fue un poco más bajo, 27.18%, siendo los más altos para *A. religiosa* (31.84%), y para *A. religiosa* var. *emarginata* (30.02%), y los más bajos fueron para *A. hickeli* (25%), y para *A. guatemalensis* (21.61%).

Recordemos que la  $P$  promedio en coníferas es de 67.7 %, y en *Abies* en promedio tenemos reportada una  $P = 57.3\%$  (ver Tabla 1). Así, podemos señalar que en las especies de *Abies* de México, menos de 1/3 de los genes analizados son polimórficos, mientras que estudios similares en el resto del mundo indican alrededor de 2/3 de genes polimórficos. En otras palabras, los *Abies* de México, según este estimador, presentan la mitad de la variación genética que poblaciones de coníferas similares en otras partes del mundo.

## Heterocigosis promedio esperada y observada

La heterocigosis esperada,  $H_e$ , (según Hardy-Weinberg) es usualmente considerada como la mejor medida de variación genética, ya que no sólo toma en cuenta que un gene sea o no polimórfico, sino que considera la magnitud del polimorfismo (Hedrick, 1983). La comparación de las heterocigosis esperada  $H_e$  y observada  $H_o$  nos dice qué tan lejos se encuentran del equilibrio de Hardy-Weinberg, como veremos más adelante. Los índices  $H$  van de 0, si no hay variación genética, a un máximo teórico de 1. Para el Norte de México (Tabla 4.A), el promedio de la heterocigosis esperada ( $H_e$ ) para todas las poblaciones fue de 0.099, mientras que el promedio de las heterocigosis observadas ( $H_o$ ) para todas las poblaciones fue de 0.063. Como la  $H$  esperada es mayor que la observada, las poblaciones presentan cierto grado de exceso de homócigos, posiblemente provocado por endogamia.

Para las poblaciones del Sur de México (Tabla 4.A) las heterocigosis promedio observada y esperada para todo el grupo de poblaciones fue de 0.074 y 0.094 respectivamente, indicando nuevamente un exceso de homócigos. Las  $H_o$  y  $H_e$  fueron para *A. hickeli* de 0.048 y 0.088, respectivamente; para *A. guatemalensis* de 0.059 y 0.074; para *A. religiosa* de 0.082 y 0.108 y para *A. religiosa* var. *emarginata* de 0.098 y 0.108.

Estos niveles de variación genética son muy bajos. Para las coníferas, señalábamos en la introducción un valor promedio de  $H_e$  de 0.207 y para el género *Abies* de 0.30. Nuestros valores son entre la mitad y un tercio más bajos que los promedios.



## Promedio del número de alelos por locus

En el Norte (Tabla 4.A), el promedio del número de alelos por locus ( $A$ ) en todas las poblaciones fue de 1.33, y fue casi igual en todas las especies (1.35 en *A. concolor*, 1.32 en *A. durangensis*, 1.33 en *A. durangensis* var. *coahuilensis* y 1.28 en *A. vejari*).

En el Sur (Tabla 4.B) el promedio es 1.46, siendo para *A. hickeli* de 1.5, para *A. guatemalensis* de 1.43, para *A. religiosa* de 0.15 y para *A. religiosa* variedad *emarginata* 1.45.

Para gimnospermas, se ha calculado un valor promedio de 1.83 alelos por locus (Hamrick et al. 1992), indicando otra vez que tanto en las poblaciones del Norte como las del Sur tenemos bajos niveles de variación genética.

## Indices de fijación

Para el Norte de México, el promedio de los índices de fijación  $F$  por especies fue de 0.347 (Tabla 5.A), lo que indica un fuerte exceso de individuos homocigotos por población, como ya había sugerido la comparación entre las heterocigosis observadas y esperadas. Del total de índices de fijación  $F$  por locus, setenta fueron positivos y 16 negativos (datos no mostrados). De los  $F$  positivos, 54 fueron significativamente diferentes de cero y de los  $F$  negativos, ninguno fue significativamente diferente de cero. Por especie encontramos que *A. concolor* tiene 25 estimaciones de  $F$  positivos y tres negativos, en *A. durangensis* existen 21 estimaciones de  $F$  positivos y tres negativos, en *A. durangensis* var. *coahuilensis* las poblaciones presentaron seis estimaciones negativas y nueve positivos, y finalmente en *A. vejari* encontramos quince positivos y cuatro negativos. Dado el número de pruebas (86) y un  $\alpha$  de 0.05, esperaríamos un error de tipo I en el 5% de las pruebas (4). El hecho que 54 de las pruebas tienen  $p < 0.05$ , quiere decir que la mayoría de los loci polimórficos están fuera del equilibrio de Hardy-Weinberg.

En el Sur los patrones son similares y la  $F$  promedio fue de 0.156 (Tabla 5.B). Si bien el promedio no es tan alto como para el Norte, otra vez la mayoría de los índices de fijación  $F$  fueron positivos, indicando menos heterocigotos de los esperados por Hardy-Weinberg; esto sugiere que hay endogamia en la mayoría de las poblaciones (ver más adelante), aunque en 4 el promedio fue negativo, señalando exceso de heterocigotos.

Tabla 5.- Coeficientes de Endogamia ( $F$ ) y tasa de polinización cruzada ( $t$ ) en el equilibrio ( $= 1-F/1+F$ , ver Eguiarte, 1990) del las poblaciones de *Abies* en México.

## A. Norte

<b>Población</b>	<b>F</b>	<b>t en el equilibrio</b>
C23	0.358	0.47
DC24	0.406	0.42
DC25	0.222	0.54
DC26	-0.163	1.39
V27	0.114	0.79
V28	0.405	0.42
V29	0.518	0.32
V30	-0.084	1.18
D31	0.409	0.42
C32	0.601	0.25
C33	0.444	0.39
D34	0.1	0.82
D35	0.495	0.34
C36	0.475	0.36
C37	0.39	0.44
C39	0.511	0.32
D40	0.626	0.26
V50	0.418	0.41
<b>Promedio Norte (DS)</b>	<b>0.347 (0.211)</b>	<b>0.53 (0.27)</b>

B. Sur

Población	<i>F</i>	<i>t</i> en el equilibrio
H1	0.394	0.43
G2	0.124	0.77
H3	0.179	0.70
G7	0.138	0.76
G10	0.25	0.6
G11	0.107	0.81
R12	0.132	0.77
R13	0.104	0.81
RE14	0.284	0.56
R15	0.331	0.50
RE16	-0.120	1.27
RE17	0.275	0.57
RE18	0.129	0.77
GJ19	0.165	0.72
RE20	0.027	0.95
R21	-0.035	1.07
R22	-0.083	1.18
G41	0.173	0.70
G42	0.083	0.85
G43	0.079	0.85
G44	0.160	0.72
R45	0.136	0.76
R48	-0.032	1.01
R49	0.184	0.69
G51	0.209	0.65
G52	0.330	0.50
R53	0.143	0.75
R54	0.398	0.43
R55	0.282	0.56
<b>Promedio Sur</b>	<b>0.156 (0.13)</b>	<b>0.75 (0.20)</b>
<b>(DS)</b>		

### Tasa de polinización cruzada *t*.

La tasa de polinización cruzada en el equilibrio, estimada a partir de la *F* promedio por población, se muestra en la Tabla 5. Este indica va de 0, si todas las semillas de una población son resultado de autopolinización, a 1, si son resultado de polinización cruzada (aunque puede ser mayor de 1 si en la población existe exceso de heterócigos, ver Eguiarte, 1990). El valor promedio en el Norte (Tabla 5.A) fue de 0.533, un valor relativamente bajo para especies de árboles (Eguiarte 1990).

Para el Sur (Tabla 5. B), el valor promedio de la  $t$  es más alto, de 0.75, pero aún muy bajo para especies de árboles. Los árboles usualmente tienen  $t$  cercanas a 1, especialmente las coníferas. De cualquier forma, existe mucha variación en la  $t$  entre poblaciones, ya que hay poblaciones con  $t$  tan bajas como 0.25 (C32 en el Norte), mientras que varias tienen  $t$ 's superiores a 1, dado que presentan exceso de heterocigotos.

Es importante señalar que estas estimaciones de  $t$  tan bajas podrían ser resultado no sólo de autopolinizaciones, sino también de cruces entre parientes, tal vez debido a reducciones en el pasado en el tamaño poblacional (Eguiarte, 1990).

### **Estadísticos $F$ de Wright**

En la Tabla 6 mostramos los estadísticos  $F$  de Wright para cada loci polimórfico, separando las poblaciones del Norte (7.A) de las del Sur (7.B) de México.

En el Norte de México, el promedio de la  $F_{st}$  (0.205) indica una diferenciación bastante alta entre las poblaciones (Tabla 6.A). Un análisis de partición de la varianza genética, realizado con el programa Byosis (Swofford y Selander, 1989), indica que el 20.5% de la variación total es debido a diferencias entre todas las poblaciones: toda la variación, se debe a diferencias entre poblaciones dentro de especies y no hay diferenciación entre las especies. La  $F_{st}$  toma valores entre 0, si son idénticas las poblaciones, hasta 1 si son totalmente diferentes. En 25 especies de árboles, Eguiarte (1990) encontró una  $F_{st}$  promedio de 0.07, por lo que podemos decir que el valor encontrado de diferenciación entre las poblaciones es muy alto. Se podría pensar que este valor alto se podría deber a que estamos comparando diferentes especies, pero como vimos en la partición de la varianza con el método de Swofford y Selander (1989) el componente debido a las especies es despreciable.

En el Sur, la situación es similar, y la  $F_{st}$  promedio fue 0.288 de indicando que el 29% de la variación isoenzimática se debe a diferencias entre las poblaciones. El análisis de partición de la varianza de Swofford y Selander (1989) muestra que de este 29%, sólo el 4% se debe a diferencias entre especies y lo demás a diferencias entre poblaciones dentro de las especies.

La diferenciación genética estimada a partir de la  $F_{st}$  se debe a deriva génica elevada o limitado flujo génico (Eguiarte, 1990), como veremos más adelante.

Tabla 6.- Estadísticos  $F$  de Wright para los loci polimórficos de las poblaciones de *Abies* de México.

A. Norte: 18 poblaciones

<b>Locus</b>	<b>F (IS)</b>	<b>F (IT)</b>	<b>F (ST)</b>
ACP	0.322	0.471	0.219
APX-1	0.284	0.420	0.190
APX-2	0.241	0.349	0.143
IDH-1	0.643	0.661	0.05
LAP-1	0.133	0.791	0.759
LAP-2	0.365	0.429	0.101
PGI-1	0.657	0.721	0.185
PGI-2	0.718	0.757	0.140
PGM-2	0.767	0.831	0.274
PEP-1	0.628	0.695	0.180
PEP-2	0.497	0.668	0.339
PEP-3	0.767	0.831	0.274
MNR	0.628	0.734	0.284
DSH-1	0.303	0.402	0.142
<b>Promedio</b>	<b>0.360</b>	<b>0.491</b>	<b>0.205</b>

B. Sur: 29 poblaciones

<b>Locus</b>	<b>F (IS)</b>	<b>F (IT)</b>	<b>F (ST)</b>
SDH-1	0.163	0.414	0.300
SDH-2	0.203	0.640	0.548
IDH-2	-0.057	0.048	0.100
PGM-1	0.141	0.382	0.281
PGM-2	0.004	0.180	0.177
GOT-1	0.426	0.598	0.299
LAP-1	0.274	0.362	0.121
GDH-1	0.847	0.860	0.087
PEP-1	0.652	0.666	0.041
PEP-2	-0.014	-0.000	0.013
PEP-3	-0.026	-0.001	0.025
PGI-1	0.179	0.312	0.162
PGI-2	0.339	0.717	0.572
APX-3	0.012	0.192	0.182
<b>Promedio</b>	<b>0.199</b>	<b>0.430</b>	<b>0.288</b>

Analicemos con más cuidado los índices de fijación. En el Norte de México, los promedios de  $F_{is}$  y  $F_{it}$  fueron 0.360 y 0.491, respectivamente (Tabla 6.A). En el Sur de México (Tabla 6.B), los promedios de  $F_{is}$  y  $F_{it}$  fueron 0.199 y 0.430.  $F_{is}$  resume los datos de los índices de fijación, e indica que tanto en el Norte como en el Sur de México tenemos exceso de homócigos a nivel poblacional. Esto seguramente se debe a altos niveles de endogamia. Por otra parte, la  $F_{it}$  se puede interpretar como el total de la diferenciación, debida tanto a deriva /flujo génico ( $F_{st}$ ) como a endogamia ( $F_{is}$ ). Los valores de  $F_{it}$  son muy altos, ya que en una comparación para 12 árboles, Eguiarte (1990) reporta un valor promedio de  $F_{it}$  sólo 0.04.

Los estadísticos  $F$  de Wright también pueden ser reportados por especies, como lo hacemos para las especies del Sur de México en las Tablas 7. Este análisis no se realizó para el Norte, ya que la partición de la varianza sugería que el componente específico era mínimo.

En términos generales los patrones se repiten: altos valores de  $F_{is}$  y  $F_{st}$  que dan en consecuencia altos valores de  $F_{it}$ . Sin embargo, es interesante que el mayor valor de  $F_{is}$  se encuentra en las dos poblaciones analizadas de *A. hickelii* (Tabla 7.B), mientras que los más bajos corresponden a *A. religiosa* var. *emarginata*. (Tabla 7.B). En contraste, las dos poblaciones de *A. hickelii* presentan valores muy bajos de  $F_{st}$ , mientras que todas los otros taxa presentan valores similares, de entre 0.20 a 0.28.

Tabla 7.- Estadísticos F de Wright para especies del género *Abies* en el Sur de México.

A. *A. guatemalensis*, 11 poblaciones

Locus	F (IS)	F (IT)	F (ST)
SDH-1	.167	.333	.199
SDH-2	.519	.814	.613
IDH-2	-.158	-.032	.109
PGM-1	.018	.116	.099
PGM-2	-.197	.064	.218
GOT-1	.525	.629	.219
LAP-1	.707	.740	.112
GDH-1	1.000	1.000	.029
PGI-1	.441	.486	.079
PGI-2	.193	.264	.088
APX-3	.119	.196	.088
Promedio	.193	.361	.208

---

 B. *A. hickelii*, 2 poblaciones.

Locus	F(IS)	F(IT)	F(ST)
SDH-1	.543	.552	.020
IDH-2	-.034	-.031	.002
PGM-1	.860	.868	.056
GOT-1	.508	.512	.008
LAP-1	-.043	-.021	.021
GDH-1	1.000	1.000	.053
PGI-1	-.031	-.015	.015
PGI-2	-.034	-.017	.017
APX-3	.059	.082	.024
Promedio	.443	.456	.023

 C. *A. religiosa*, 11 poblaciones

Locus	F(IS)	F(IT)	F(ST)
SDH-1	.102	.279	.197
SDH-2	.226	.351	.161
IDH-2	.203	.254	.065
PGM-1	.260	.321	.083
PGM-2	.186	.315	.158
GOT-1	.458	.612	.284
LAP-1	.071	.170	.106
GDH-1	.780	.798	.085
PEP-1	.652	.665	.039
PEP-2	-.014	-.001	.012
PEP-3	-.026	-.002	.023
PGI-1	.190	.331	.174
PGI-2	.806	.967	.831
APX-3	-.033	.133	.161
Promedio	.224	.412	.243

 D. *A. religiosa* var. *emarginata*, 5 poblaciones.

Locus	F(IS)	F(IT)	F(ST)
SDH-1	-.191	-.033	.133
SDH-2	.052	.447	.416
IDH-2	-.236	-.113	.100
PGM-1	.100	.479	.422

PGM-2	-.023	.049	.070
GOT-1	.185	.376	.233
LAP-1	1.000	1.000	.064
GDH-1	1.000	1.000	.020
PGI-1	.031	.077	.048
PGI-2	.270	.548	.381
APX-3	-.024	.211	.230
Promedio	.073	.333	.280

### Distancias, identidades genéticas y análisis fenéticos (UPGMA).

Para las poblaciones del Norte de México el promedio de las distancias ( $D$ ) genéticas de Nei (1972), para todos los pares de poblaciones, fue de 0.028. El valor más alto corresponde a la distancia entre las poblaciones C36 y D40, que es de 0.134. Entre tanto el valor más pequeño correspondió a cero y lo presentaron todas las parejas de entre cinco poblaciones (DC26, V28, V29, D34, D35).

En el Sur el promedio de las distancias genéticas fue de 0.040. La distancia más alta corresponde a la distancia entre las poblaciones R21 y RE18 y es de 0.196, y la distancia más baja se presenta entre G41 y G7 y entre R53 y H3 y es de cero.

Según los datos revisados por Crawford (1983) la  $D$  promedio para poblaciones dentro de una especie es de 0.057 (DS 0.044), para comparaciones entre subespecies o variedades es de  $D$  0.095 (DS 0.103), mientras que para especies dentro de un género es de 0.25 (DS 0.177). Estos datos son principalmente para plantas de vida corta, pero nos sugieren que, en promedio, tanto el conjunto de poblaciones del Norte como las del Sur se comportan como poblaciones de una sola especie, y sólo las distancias más grandes podrían corresponder a especies diferentes.

Los análisis fenéticos basados en datos isoenzimáticos, tanto para las poblaciones del Norte como para las del Sur de México, son concordantes con los datos de diferenciación genética (Figs. 1 y 2). No encontramos grupos de poblaciones que representen de manera exclusiva una especie. Algunos grupos en los árboles fenéticos tienen sentido basados en la taxonomía actual o la geografía, pero hay muchos casos en los que no se detecta el patrón esperable.



Distancia genética de Nei

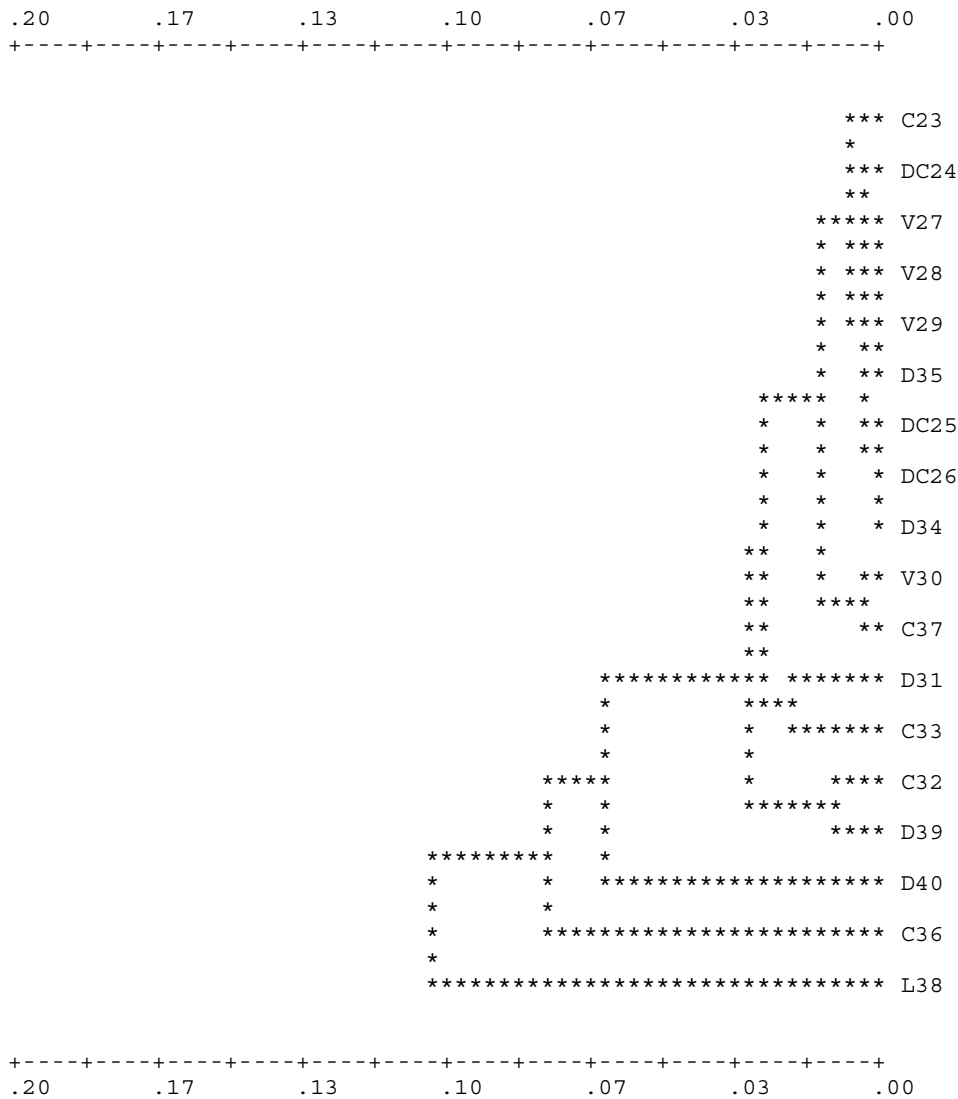


Figura 1.- Fenograma UPGMA basado en las distancias genéticas de Nei entre las poblaciones de los Abies del Norte de México y el Sur de Arizona. C = *A. concolor*, D = *A. durangensis*, DC = *A. durangensis* var. *coahuilensis*, L = *A. lasiocarpa* var. *arizonica*, V = *A. vejari*.



Figura 2.- Fenograma UPGMA basado en las distancias genéticas de Nei entre las poblaciones de los Abies del Sur de México y de Guatemala. G = *A. guatemalensis*, H = *A. hickeli*, R = *A. religiosa*, RE = *A. religiosa* var. *emarginata*.

## Análisis de flujo génico

Como mencionamos en Métodos, a partir de las  $F_{st}$  se puede calcular la  $Nm$ , siguiendo las modificaciones a la fórmula de Wright (1951) utilizando la fórmula de Crow y Aoki (1984). Aplicando dicha fórmula, obtuvimos las estimaciones que presentamos en la Tabla 8. Para el Norte obtenemos un valor promedio de  $Nm$  de 1.15, mientras que para el Sur obtenemos un valores de 3.13, o sea más del doble. Recordemos que, en términos generales, valores de más de 1 indican que la diferenciación entre las poblaciones no es elevada, y el papel de la deriva génica sería mínimo, subrayando el posible papel del flujo génico entra poblaciones. Sin embargo, los valores son menores para el Norte, sugiriendo menor flujo génico en el Norte que en el Sur (o mayor tiempo de aislamiento genético).

A partir de la  $Nm$ , Slatkin y Barton (1989) señalan que se puede aproximar un valor de tamaño efectivo ( $N_e$ ) si las poblaciones siguen un patrón de migración del tipo *stepping stone*, donde  $N_{eb} = Nm \times 2 \times \pi$  (ver también Eguiarte et al., 1993). Los tamaños efectivos así estimados son muy bajos, si los comparamos con las poblaciones de miles de individuos que encontramos en el campo. El valor promedio es de  $N_{eb}$  7.3 en el Norte y de 19.7 en el Sur, indicando mayor flujo génico en el conjunto de poblaciones del Sur de México.

Tabla 8.- Estimaciones indirectas de flujo génico en *Abies* de México a partir de la  $F_{st}$ .  $Nm$  fue estimada a partir de la fórmula de Crow y Aoki (1984),  $N_{eb}$  con la fórmula de Slatkin y Barton, (1989), ver Métodos.

#### A. *Abies* Norte

	$F_{st}$	$Nm$	$N_{eb}$
ACP	0.219	0.795	4.99
APX1	0.19	0.950	5.97
APX2	0.143	1.336	8.39
IDH1	0.05	4.23	26.62
LAP1	0.759	0.07	0.44
LAP2	0.101	1.984	12.47
PGI1	0.185	0.982	6.17
PGI2	0.14	1.369	8.60
PGM2	0.274	0.59	3.71
PEP1	0.18	1.015	6.38
PEP2	0.339	0.434	2.73
PEP3	0.274	0.59	3.71
MNR	0.284	0.562	3.53
SDH1	0.142	1.347	8.46
<b>media</b>	<b>0.234</b>	<b>1.162</b>	<b>7.3</b>

#### B. *Abies* Sur

	$F_{st}$	$Nm$	$N_{eb}$
SDH1	0.3	0.543	3.41
SDH2	0.548	0.192	1.20
ADH2	0.1	2.097	13.17
PGM1	0.281	0.596	3.74
PGM2	0.177	1.083	6.80
GOT1	0.299	0.546	3.43
LAP1	0.121	1.693	10.63
GDH1	0.087	2.445	15.36
PEP1	0.041	5.451	34.25
PEP2	0.013	17.69	111.17
PEP3	0.025	9.089	57.11
PGI1	0.162	1.205	7.57
PFI2	0.572	0.174	1.09
APX3	0.182	1.047	6.58
<b>media</b>	<b>0.207</b>	<b>3.132</b>	<b>19.68</b>

Por otra parte, nuestro conjunto de datos nos permitió utilizar el método de los alelos privados de Slatkin (1985). En la Tabla 9.A mostramos los valores obtenidos para los 4 alelos privados encontrados en el Norte. La  $Nm$  estimada por este método es muy

baja, de sólo 0.068. Al utilizar la frecuencia promedio en los alelos que se encuentran en dos poblaciones, aunque supuestamente menos preciso, que el método para un alelo, nos da un valor de  $Nm$  de 0.34 (ver Slatkin, 1981). Recordemos que la estimación de  $Nm$  a partir de la  $F_{st}$  fue de 1.162. Todos estos valores subrayan que en el Norte el flujo génico entre poblaciones parece ser limitado.

Para el Sur también encontramos 4 alelos únicos (Tabla 9.B), y nos dan un valor de  $Nm=4.55$ , valor muy parecido al que da el análisis de  $F_{st}$  ( $Nm=3.13$ ).

Tabla 9.- Estimaciones indirectas de flujo génico, a partir del método de los alelos privados (presentes en una sola población) de Slatkin (1985) (ver Métodos).

A. Alelos privados <i>Abies</i> Norte		
	$p(1)$	$Nm$
	0.013	
	0.769	
	0.286	
	0.286	
<b>media</b>	<b>0.338</b>	<b>0.068</b>

B. Alelos privados <i>Abies</i> Sur		
	$p(1)$	$Nm$
	0.02	
	0.091	
	0.045	
	0.033	
<b>media</b>	<b>0.04725</b>	<b>4.551</b>

## DISCUSION

Los principales resultados de nuestros análisis indican varias características notables de las poblaciones de *Abies* de México:

- 1) Los niveles de variación genética a nivel poblacional son bajos, de cerca de un tercio de lo que generalmente se encuentra en coníferas y plantas de vida larga.
- 2) La mayor parte de los genes y los valores por población indican elevado exceso de homócigos, que sugiere altos niveles de endogamia (autopolinización y/o cruza entre parientes).
- 3) La diferenciación entre poblaciones es muy alta, de cerca de un orden de magnitud mayor de lo que se encuentra en otras coníferas y plantas de vida larga.
- 4) Los niveles de diferenciación genética y las reconstrucciones filogenéticas no se parecen a la taxonomía aceptada del grupo.

Es interesante notar que estos cuatro patrones se detectaron tanto para las poblaciones de *Abies* del Norte como las del Sur de México.

A continuación discutiremos con mas cuidado cada uno de estos puntos.

### Niveles de variación genética

Los patrones de variación genética en todas las poblaciones de los *Abies* de México son bajos, estimados con cualquiera de los tres índices de variación genética que empleamos ( $H_e$ ,  $P$  y  $A$ ). Vamos a concentrarnos en esta discusión en la  $H_e$ , que como ya mencionamos en la Introducción generalmente se le considera el mejor estimador de la variación genética (ver Eguiarte, 1990). Los patrones son especialmente notables si se le compara con los reportados para árboles, y en particular en coníferas, donde la  $H_e$  promedio es de alrededor de 0.17 (Eguiarte y Piñero, 1990). Algunas poblaciones, de *Abies* de México, como la R12 tienen niveles realmente muy bajos, con una  $H_e$  de 0.009, aunque en promedio es de 0.094 en el Sur y de 0.099 en el Norte. Por otra parte, aunque estos niveles son bajos, existen especies con niveles mucho menores (ver Eguiarte y Piñero, 1990). De hecho, en *Pinus torreyana*, Ledig y Conkle (1983) no encontraron variación genética en 53 loci. Ninguna de las poblaciones de *Abies* tiene tan bajos niveles de variación genética. En otras especies mexicanas, la mayor parte de los árboles y plantas de vida larga tienen altos valores de variación genética. Por ejemplo, en la región de los Tuxtlas, en *Astocaryum mexicanum*, Eguiarte (1990) encontró una  $H_e$  de 0.153, mientras que para *Psychotria faxlucens*, Pérez-Nasser et al. (1993) encontraron un valor de  $H_e$  de 0.23 y Garay

(1991) en *Cecropia obtusifolia* reporta una  $H_e = 0.0538$ . En trabajos no publicados, Martínez-Palacios et al. (mans.) encontró una  $H_e$  en *Agave victoria-reginae* de 0.335, y Nuñez et al. (1996) en *Rhizophora mangle* en el Atlántico de 0.146 y en el Pacífico de 0.181. Para otras coníferas en México no existen muchos estudios, pero Delgado (1997) reporta una  $H_e$  de 0.219 en la especie endémica en peligro de extinción *Pinus rzedowskii*. Así, podemos señalar que los *Abies* de México tiene niveles de variación más bajos que casi todas las especies Mexicanas de vida larga estudiadas, con la excepción de *Cecropia obtusifolia*. Sin embargo, algunas hierbas mexicanas tienen niveles muy bajos de variación genética, por ejemplo, en el frijol común, *P. vulgaris*, Escalante et al. (1994) encontraron una  $H_e = 0.041$  en 7 loci, mientras que para la hierba *Lacandonia schismatica* en 8 loci, Coello et al. (1993) no encontraron nada de variación genética ( $H_e = 0$ ). Nuñez-Farfán (1991), en 12 loci tampoco encontró variación genética en poblaciones mexicanas de *Datura stramonium*. Para otros ejemplos de plantas con niveles muy bajos de variación genética, ver Eguiarte y Piñero (1990).

Valores bajos de variación genética tienen que ser el resultado de pequeños tamaños poblacionales (Hartl y Clark, 1989; Eguiarte y Piñero, 1990). Cuando las poblaciones son pequeñas, se pierde variación por deriva génica (Eguiarte, 1990). El problema es que las reducciones en los tamaños poblacionales pudieron acontecer en el pasado relativamente lejano, fenómeno conocido como cuello de botella. En todas las poblaciones actuales de *Abies* de México, aunque los tamaños son relativamente pequeños, son de cientos o miles de individuos, demasiado grandes para que la deriva génica pudiera tener efectos relevantes (Eguiarte, 1990). Una posibilidad es que las poblaciones actuales de *Abies* en México se hayan recuperado de reducciones drásticas de sus tamaños poblacionales hace no mucho tiempo. Se requiere que haya ocurrido hace poco tiempo, ya que si pasa mucho tiempo, la mutación haría que las poblaciones recuperaran su variación genética y que divergieran fuertemente (Hartl y Clark, 1989). Es probable que estos cambios en los números poblacionales de *Abies* tuvieran un origen muy reciente durante los cambios de altitud de sus poblaciones que supuestamente sucedieron en las glaciaciones y sus periodos benignos recientes.

Un buen ejemplo de otro árbol con una variación genética baja es *Schinus molle* (el pirú) en México (Aguirre, 1994). En este caso es muy claro que la variación genética se redujo debido a efectos de cuello de botella recientes. *S. molle* es una especie originaria de Perú, que fue supuestamente introducida a México a principios de la época de la colonia y posteriormente a España. En Perú puede observarse una  $P = 38.9\%$  y una  $H_e = 0.146$ , mientras que esta variación se reduce a aproximadamente a la mitad en las poblaciones introducidas a México con una  $P = 16.67\%$  (el promedio en *Abies* del



Norte fue 29.9% y en el Sur de 27.18%) y una  $H_e$  de 0.066 (el promedio en *Abies* del Norte fue 0.099 y en el Sur de 0.094). Para España esta reducción es aún más drástica, siendo  $H_e = 0.013$ , lo que sugiere una segunda introducción y por lo tanto otro efecto de cuello de botella y menores tamaños poblacionales ( $N_e$ ). Así, los bajos niveles de variación genética en *Abies* podrían deberse a reducciones relativamente recientes en sus tamaños poblacionales similares a las experimentadas en *S. molle*.

### Indices de fijación y $F_{is}$

En la mayor parte de los casos, tanto para las poblaciones del Norte como para las del Sur, los índices de fijación para cada enzima en cada población son positivos. Esto indica que en casi todas las poblaciones encontramos más homocigos de los esperados si estuviéremos en equilibrio de Hardy-Weinberg.

En términos generales, índices de fijación positivos se deben a endogamia, y ésta es muy rara en árboles (Eguiarte, 1990). La  $F_{is}$  estimada para 28 especies de árboles fue de sólo 0.01 (Eguiarte, 1990). Por ejemplo, en la palma *Astrocaryum mexicanum*, que es monoica como los *Abies*, todo los índices de fijación estimados (27) fueron negativos, y la  $F_{is}$  promedio para los adultos fue de -0.45 y para las semillas de -0.19 (Eguiarte et al., 1992).

Sin embargo, algunos árboles pueden presentar índices de fijación y  $F_{is}$  altos (Eguiarte, 1990). Por ejemplo, en especies mexicanas, en el mangle rojo (*Rhizophora mangle*), Nuñez-Farfán et al. (1996), encontraron una  $F_{is}$  promedio de 0.459. Esto se debe, cuando menos en parte, a que en la especie la autopolinización es común. En el árbol dioico *Bursera cuneata*, Del Valle (1996) estimó una  $F_{is}$  promedio de 0.251, mientras que en *Pinus rzedowskii* Delgado (1997) presenta una  $F_{is}$  promedio de 0.41.

### Sistemas reproductivos

La estimación indirecta de la  $t$  en equilibrio a partir de la  $F$  resulta muy baja en los *Abies* de México (promedio  $t$  Norte = 0.533,  $t$  Sur = 0.75), especialmente si se le compara con la  $t$  promedio para coníferas (rango 0.89 a 0.98, ver Introducción y Eguiarte, 1990). Son pocas las especies con valores de  $t$  tan bajos (e.g., algunas poblaciones de *Eucalyptus regnans*, Eguiarte, 1990). Sin embargo, debemos recordar que estas son estimaciones indirectas de la  $t$ , por lo que consideramos fundamental que se realicen estudios para estimar si esta endogamia se debe a autopolinización o a

crucan entre parientes, lo mismo que la estructura genética especial fina de las poblaciones.

### Diferenciación genética y estimación indirecta de flujo génico

Los resultados de diferenciación interpoblacional (valores de  $F_{st}$  y valores de  $D$ ) son relativamente altos (Norte  $F_{st} = 0.205$ , Sur  $F_{st} = 0.288$ ) y sugieren que el flujo génico entre poblaciones es bastante bajo. Probablemente las distancias entre poblaciones son lo suficientemente grandes para que no exista flujo de polen entre ellas y ésto las ha mantenido separadas.

Estos resultados son notables en coníferas, ya que como mencionamos en la Introducción, generalmente las coníferas, y en particular *Abies*, presentan altas tasas de polinización cruzada (*outcrossing rates* cercanos a 1), que generan poca endogamia y elevado flujo génico, disminuyendo tanto la  $F_{is}$  como la  $F_{st}$ . Por ejemplo, Eguiarte (1990) reporta un promedio de  $F_{is}$  de -0.008 en 4 estudios dentro del género. De hecho, índices de fijación y  $F_{is}$  tan altos sólo se han encontrado para *Pinus rzedowskii* (Delgado, 1997), y no habían sido reportados en la literatura de coníferas (Eguiarte, 1990).

Con respecto a la  $F_{st}$ , esta es también muy alta si la comparamos con la mayoría de los estudios realizados en coníferas. Por ejemplo, para *Abies balsamea*, Guries y Ledig (1981) señalan valores de 0.012, y en 121 estudios de gimnospermas, Hamrick et al. (1992) encuentran un valor promedio de 0.073. O sea que los valores encontrados entre las poblaciones de *Abies* en México son un orden de magnitud mayores que los que generalmente se encuentran en especies similares. Este patrón podría deberse a que la mayor parte de las coníferas estudiadas tienen distribuciones más continuas que las de los *Abies* mexicanos, y a que muchas poblaciones de *Abies* en zonas boreales no han estado en sus lugares actuales por mucho tiempo, debido a la glaciación continental, por lo que no han llegado a su equilibrio deriva-flujo génico. Esta idea la apoya otra conífera mexicana, en la conífera endémica *Pinus rzedowskii*, Delgado (1997) encontró, a una escala mucho más local, una  $F_{st}$  alta (= 0.173). Valores relativamente altos también han sido encontrados en otras plantas de vida larga mexicanas, como *Bursera cuneata*, donde Del Valle (1996) encontró un  $F_{st}$  de 0.119, y en *Agave vicotria-reginae* en la que Martínez-Palacios et al. (mans.) estimaron una  $F_{st}$  de 0.240, mientras que en *Rhizophora mangle* Nuñez-Farfán et al. (1996) calcularon una  $F_{st}$  de 0.225 considerando ambas costas de México. Sin embargo, en otras especies, como en *Cecropia obtusifolia* Alvarez-Buylla y Garay (1994) encuentran una

$F_{st}$  de solamente 0.029, o en *Astrocaryum mexicanum*, donde Eguiarte et al. (1992) obtuvieron una  $F_{st}$  de 0.0425 en los adultos y de 0.0085 en las semillas, aunque debemos señalar que ambos trabajos se realizaron exclusivamente en la región de Los Tuxtlas, Veracruz (o sea a una escala relativamente local). En un trabajo no publicado, Eguiarte et al. (mans.) encontraron en la Agavaceae *Manfreda brachystachya* una  $F_{st}$  de 0.034 en sus poblaciones en el centro de México. Esto indica que de las plantas mexicana sólo especies en ciertos tipos de vegetación y/o con ciertas historias de vida, presentan patrones de estructura genética que indican altos niveles de diferenciación genética intraespecífica.

Los valores de  $F_{st}$  altos también sugieren la importancia de la deriva génica, lo que también explicaría los niveles relativamente bajos de variación genética (Eguiarte, 1990). Sin embargo, en la mayoría de las poblaciones muestreadas, los tamaños poblacionales no parecen tan pequeños como para que la deriva génica sea una fuerza importante, pero no podemos saber si anteriormente estas poblaciones fueron más pequeñas. Las estimaciones indirectas de flujo génico subrayan estas ideas. La estimación de la  $Nm$  a partir de la  $F_{st}$  nos dió para el Norte un valor de 1.162, y para el Sur de 3.132, indicando menor flujo génico en las poblaciones del Norte. Los valores son similares a los estimados en *Rhizophora mangle* (Nuñez-Farfán et al. 1996), que son, para la costa del Pacífico  $Nm = 3.14$ , y para el Atlántico de 0.55. Estos valores son relativamente bajos si se les compara con valores obtenidos para *A. mexicanum* de  $Nm = 24.16$  en sus semillas y 4.43 en los adultos (Eguiarte et al., 1993), o de  $Nm = 7.73$  en *Manfreda brachystachya* (Eguiarte et al., mans.).

Las estimaciones con de flujo génico a partir de la  $F_{st}$  y las estimación del mismo a partir del método de los alelos privados (únicos) de Slatkin (1985) son congruentes, indicando poco flujo génico entre las poblaciones de *Abies* en México en general, en contraste a lo estimado en la mayor parte de las coníferas estudiadas hasta la fecha (Eguiarte, 1990). Nuestro análisis también indica mayor flujo génico entre las poblaciones del Sur de México que entre las del Norte. Medidas congruentes entre estimaciones indirectas de flujo génico obtenidas a partir de la  $F_{st}$  y por el método de los alelos privados han sido recientemente obtenidas por Del Valle (1996) para *Bursera cuneata* y por Nuñez-Farfán et al. (1996) para *Rhizophora mangle*.

En un análisis paralelo en *Abies* utilizando terpenos, para las poblaciones del Norte de México, Nava (1996) encontró patrones análogos. Los resultados de su análisis de la variación química de las resinas en las hojas de los *Abies* del Norte del país muestran que el 41% de la variación ocurre entre poblaciones, de la cual sólo 2% se debe a diferencias entre especies. El resto de la divergencia se debe a diferencias

entre poblaciones. La diferencia entre los niveles de diferenciación isoenzimática y química podrían deberse a una mayor acción de selección sobre las resinas, ya que son compuestos importantes en la defensa de la planta contra depredadores.

### **Distancias genéticas, fenogramas y sistemática del grupo**

Las distancias genéticas máxima ( $D$  Norte = 0.134,  $D$  Sur= 0.196) y las  $D$  promedio entre pares de poblaciones ( $D$  Norte = 0.028,  $D$  Sur = 0.04), sugieren, a partir de la revisión de Crawford (1983) que mencionamos en los Resultados, que en términos generales, tanto en el Sur como en el Norte tenemos básicamente una especie, con unas cuantas poblaciones tal vez pertenecientes a otras especies. Estos umbrales han sido estimados principalmente para plantas herbáceas, y no sabemos qué tan bien podrían ser utilizados en coníferas, pero creemos que nos pueden dar elementos para iniciar una discusión del problema. También debemos recordar que este análisis es independientemente del grado de diferenciación morfológica y/o presencia de barreras al flujo génico e hibridación, parámetros que indudablemente se necesitarán estudiar para definir finalmente a las especies de *Abies* en México, y entender a sus proceso de divergencia y especiación.

Si funciona el mismo reloj molecular calibrado por Nei (1987) con otros estudios de isoenzimas, podemos estimar el tiempo promedio de divergencia entre las poblaciones con la fórmula  $t = 5 \times 10^6 D$ . Según ésta fórmula, para el Norte de México la divergencia promedio entre las poblaciones *Abies* fue hace unos 140 mil años, y la máxima fue hace 670 mil años, mientras que para el Sur la divergencia promedio fue hace 200 mil años, y la máxima fue hace unos 980 mil años. Estas estimaciones deben de ser tomadas con mucho cuidado, y en este momento entendidas simplemente como una comparación en tiempos relativos, ya que no sabemos la tasa de evolución de las isoenzimas en los *Abies* de México, y eventos de flujo génico, aunque fueran raros, harían que estas estimaciones fueran mucho menores del tiempo de divergencia real (Nei, 1987; Hartl y Clark, 1989).

En las figuras 1 y 2 se observa que los resultados obtenidos en nuestros análisis a partir de las frecuencias alélicas de las isoenzimas no están de acuerdo con la taxonomía que se propone actualmente. No se observan grupos que contengan totalmente a ninguna de las especies tradicionalmente reconocidas (ver Introducción). Esta falta de congruencia entre la taxonomía utilizada actualmente y nuestros datos isoenzimáticos puede explicarse de varias maneras. Una posible explicación para esta

falta de concordancia, es que la taxonomía fue hecha de muestras bastante pequeñas, a diferencia de las muestras grandes que tenemos en nuestro estudio.

También es posible que el flujo génico entre especies ha borrado estas diferencias hace relativamente poco tiempo. Aunque las distancias actuales entre las poblaciones son bastante grandes, y hace muy difícil que haya flujo de polen o semillas entre la mayoría de las poblaciones. Existe evidencia de que la vegetación del Norte de México estuvo de 1000 a 1300 metros por abajo de su posición actual durante la última glaciación, y por lo tanto los *Abies* han migrado con los cambios del clima. Es posible que en esa época hubo un mayor contacto entre las poblaciones de las diferentes especies y que no ha pasado suficiente tiempo para que las especies se separen genéticamente. El problema con esta explicación es que el nivel de diferenciación interpoblacional es bastante alto, como demuestran las estimación de  $F_{st}$ ,  $Nm$  y de  $D$ , sugiriendo que las poblaciones han estado separadas por mucho tiempo.

Otra posibilidad es que la deriva génica haya cambiado las frecuencias alélicas de las poblaciones en una manera aleatoria, borrando las diferencias entre las especies. Las poblaciones están muy diferenciadas entre sí en los loci isoenzimáticos, que generalmente son considerados casi neutrales con respecto a la selección natural, y los niveles de variación dentro de las poblaciones son relativamente bajos. Esperaríamos estos resultados si la deriva fuera una fuerza importante en la evolución de los *Abies* mexicanos. Los tamaños de casi todas las poblaciones actuales parecen suficientemente grandes para que la deriva no esté actuando fuertemente, pero no sabemos sus tamaños históricos, los cuales pudieron haber sido más pequeños en el pasado. Sin embargo, hay un problema con la hipótesis de deriva. Los datos químicos del norte del país demuestran el mismo patrón. La composición química de las resinas es un carácter que está considerado más influenciado por selección natural, una fuerza evolutiva que debe contrarrestar la acción de deriva.

De esta manera consideramos que un hallazgo importante es que nuestros resultados genéticos no concuerdan con la taxonomía aceptada actualmente. Los *Abies* del norte de México podrían representar una sola especie, que como incluye *A. concolor*, tendría una distribución desde Jalisco y Nuevo León hasta Oregon en EUA. Las poblaciones del Sur podrían representar una sola especie, con una distribución desde Guatemala hasta Jalisco y San Luis Potosí. Sin embargo, los niveles de diferenciación isoenzimática entre poblaciones son bastante altos en ambos grupos. Esto sugiere una alternativa. Esta diferenciación genética se puede deber a su aislamiento geográfico, de tal manera que casi cada población se comporta como una unidad evolutiva independiente y aislada de las demás, en otras palabras, como una

especie. No podemos distinguir entre las dos hipótesis (dos especies vs. muchas especies), con los datos genéticos y morfológicos que tenemos actualmente. Tendremos que hacer estudios de entrecruzamiento entre las poblaciones y de la fenología de reproducción para saber puede ocurrir flujo génico entre las poblaciones, lo mismo que estudios detallados con otros marcadores genéticos y de la divergencia morfológica con una perspectiva estadística y/o cladista.

Por otra parte, independientemente de las causas de los patrones de diferenciación a diferentes niveles y de su interpretación evolutiva y taxonómica, los niveles altos de diferenciación sugieren que debemos tratar de conservar todas o la mayor parte de las poblaciones de *Abies* actuales, porque casi cada una representa un recurso genético único en términos de su variación genética (frecuencias alélicas). A partir de nuestros datos se podrán proponer las poblaciones más interesantes o relevantes de conservar, desde un punto de vista genético, pero queremos realizar estudios más detallados sobre los datos que ya tenemos antes de atrevernos a proponer estas poblaciones.

### **Perspectivas y recomendaciones**

- 1) Indudablemente, una prioridad debe de ser la de reevaluar la sistemática y taxonomía de todo el grupo de los *Abies* de México. Para esto se necesita que especialistas en la taxonomía del grupo lleven a cabo estudios morfológicos y estadísticos con caracteres tanto macro, como microscópicos, químicos y genéticos.
- 2) La diferenciación genética entre la mayor parte de las poblaciones indica que se deben de tratar de conservar, independientemente de que se les llame poblaciones, variedades, subespecies o especies, a la mayor parte de la poblaciones de los *Abies* mexicanos, ya que son muy diferentes entre sí, en otras palabras, tiene diferentes alelos y/o frecuencias alélicas muy diferentes.
- 3) Se van a necesitar estudios con otros marcadores para definir mejor las filogenia de las especies, y sus patrones de flujo génico, tanto a partir de secuencias nucleares como con genes de cloroplasto y mitocondria.
- 4) Estudios genéticos detallados para las poblaciones son indispensables, tanto para estimar directamente la tasa de polinización cruzada,  $t$ , como para estimar en el espacio el grado de parentesco entre los individuos de las poblaciones, para poder definir si los altos grado de exceso de homócigos se deben a autopolinización y/o a cruza entre parientes.

5) Todos los datos deberán ser interpretados con buenos datos de cambios en los climas y orografía de México en el pasado, junto con cambios en la vegetación, para entender los procesos de diferenciación y flujo génico, así como de especiación.

## AGRADECIMIENTOS

Una cantidad muy grande de personas han colaborado y ayudado en las diferentes fases de este proyecto. Estas personas nos han ayudado tanto en el campo como en el laboratorio. Dado el gran número de poblaciones estudiadas a lo largo de todo México, el trabajo de localizar las poblaciones, conseguir permisos, coleccionar y transportar las muestras fue muy pesado e involucró a muchísimas gentes. Por otro lado, el trabajo de procesar, almacenar y analizar todas estas muestras en el laboratorio también ha involucrado a muchas personas. La lista es demasiado grande para incluirla aquí, pero queremos expresarles a todas estas personas nuestro profundo agradecimiento. Sin ellas no hubiera sido posible terminar este trabajo y los que esperamos posteriormente presentar. Por último, queremos agradecer a las personas que revisaron todo este reporte: los doctores Jordan Golubov, Valeria Souza y Juan Nuñez Farfán.

## LITERATURA CITADA

- Alvarado, D., L.I. de Bauer, J. Galindo. 1993. Decline of sacred fir (*Abies religiosa*) in a forest park south of Mexico City. *Environ. Pollut.* 80:115-121.
- Alvarez-Buylla, E., y A. A. Garay. 1994. Population-genetic structure of *Cecropia obtusifolia*, a tropical pioneer tree species. *Evolution* 48: 437-453.
- Aguirre, E. 1994. *Análisis comparativo de la estructura genética de poblaciones nativas de Perú e introducidas a México y Españas de Schinus molle L. (Anacardiaceae)*. Tesis de Licenciatura. Fac. de Ciencias, UNAM. México, D.F..
- Anderson, J.B. y L.P. Brower. 1996. Freeze-protection of overwintering monarch butterflies in Mexico: critical role of the forest as a blanket and an umbrella. *Ecological Entomology*. 21: en prensa.
- Baverstock P.R. y C. Moritz. 1990. Sampling design, en D.M. Hillis y C. Moritz, eds., *Molecular systematics*. Sinauer Assoc, Sunderland, Mass. Pp. 13-24.
- Cheliak, W.M. y J.A. Pitel 1984. *Techniques for starch gel electrophoresis of enzymes from forest tree species*. Petawawa National Forestry Institute, Canadian Forestry Service, Agriculture Canada.
- Coello, G., A. Escalante y J. Soberón. 1993. Lack of genetic variation in *Lacandonia schismatica* (Lacandoniaceae: Triuridales) in its only known locality. *Ann. Missouri Bot. Gard.* 80:898-901.

- Conkle, M.T. 1992. Genetic diversity: Seeing the through the trees, en W.T., Adams, S.H., Strauss, D.L., Copes y A.R., Griffin, eds. *Population Genetics of Forest Trees*. Kluwer Academic Press. P.p 5-22
- Cordero, C. mans. *La biología de la conservación en México: Teoría y patrones*.
- Crawford, D.J. Phylogenetic and systematic inferences from electrophoretic studies, en S.D. Tanksley y T.J. Orton, eds. *Isozyme in plant genetics and breeding, Part A*. Elsevier, Amsterdam, Pp. 237-287.
- Critchfield, W.B. 1984. Impact of the Pleistocene on the structure of North American Conifers, en R.M. Lanner, ed. *Proceedings of the Eighth North American Forest Biology Workshop*. Utah State University, Utah, EUA. Pp. 70-118
- Crow, J.F. y K. Aoki. 1987. Group selection for a polygenic behavioral trait: estimating the degree of population subdivision. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 81: 6073-6077.
- Debreczy, Z., et al. 1994. Conifer taxa discovered in Mexico in 1991/92 and 1994. *IDRI-NewsBrief*. No. 6 September:3-4
- Delgado V., P. 1997. *Estructura demográfica y genética de una especie del género Pinus (Pinus rzedowskii Madrigal et Caballero), endémica del Estado de Michoacan, México*. Tesis de Maestría, Facultad de Ciencias, UNAM.
- Del Valle, M. 1996. *Estructura genética de poblaciones de Bursera cuneata (Burseraceae)*. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias, UNAM, México, D.F.
- Donahue J.K., W.S. Dvorak, E.A. Gutiérrez y M.B. Kane 1985. *Abies guatemalensis*: a two year status report. *CAMCORE Bull. Tropical Forestry No. 3*. School of Forest Resources, North Carolina State University, Raleigh, EUA.
- Dvorak W.S. y J.K. Donahue. 1992. *CAMCORE research review 1980 - 1992*. CAMCORE, School of Forest Resources, North Carolina State University, Raleigh.
- Eguiarte, L.E. 1986. Una guía para principiantes a la genética de poblaciones. En Olea Franco, A., ed. *Polémicas contemporáneas en evolución*. A.G.T. Editores, México, D.F. Pp. 41-56
- Eguiarte, L.E. 1990. *Genética de poblaciones de Astrocaryum mexicanum Liebm. en Los Tuxtlas, Veracruz*. Tesis de Doctorado. Centro de Ecología, UNAM, D.F. México.
- Eguiarte, L.E., N. Pérez-Nasser y D. Piñero. 1992. Genetic structure, outcrossing rate and heterosis in *Astrocaryum mexicanum* (tropical palm); implications for evolution and conservation. *Heredity* 68: 217-228.
- Eguiarte, L.E. y D. Piñero. 1990. Genética de la conservación: leones vemos, genes no sabemos. *Ciencias. Número especial 4. Ecología y conservación en México*: 34 - 47.
- Eguiarte, L. E., A. Búrquez, J. Rodríguez, M. Martínez-Ramos, J. Sarukhán y D. Piñero. 1993. Direct and indirect estimates of neighborhood and effective population size in a tropical palm, *Astrocaryum mexicanum*. *Evolution* 47: 75-87.
- Eguiarte, L.E., J. Golubov, M.C. Mandujano y A. Silva (mans.) Population genetics of *Manfreda brachystachya* (Agavaceae). Para ser enviado a *Am. J. of Botany*.
- El-Kassaby, Y.A. y K. Ritland. 1996. Genetic variation in low elevation Douglas-fir of British Columbia and its relevance to gene conservation. *Biodiversity and Conservation* 5:779-794.
- Ellstrand, N.C. y Elam D.R. 1993. Population genetic consequences of small population size: implications for plant conservation. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 24:217-242.



- Escalante, A. M., G. Coello, L. E. Eguiarte y D. Piñero. 1994. Genetic structure and mating systems in wild and cultivated populations of beans *Phaseolus coccineus* and *P. vulgaris* (Fabaceae) *American Journal of Botany* 81:1096-1103
- Fady, B. y M.T. Conkle. 1993. Allozyme variation and possible phylogenetic implications in *Abies cephalonica* Loudon and some related eastern mediterranean firs. *Silvae Genetica* 42:351-359.
- Farjon, A. y K.D. Rusforth 1989. A classification of *Abies* Miller (Pinaceae). *Notes RBG Edinb.* 46(1):59-79.
- Garay A., A. 1991. *Montaje de un sistema de loci polimórficos para una especie arbolea neotropical, Cecropia obtusifolia*. Tesis de Licenciatura, Facultad de Ciencias, UNAM.
- Guries, R.P. y F.T. Ledig. 1981. Genetic structure of populations and differentiation in forest trees, en M.T. Conkle, ed. *Isozymes of North America forest trees* U.S. Department of Agriculture, Berkeley, CA. Pp. 42-47.
- Haldane, J. B. S. 1924. A mathematical theory of natural and artificial selection. Part II. *Trans. Camb. Phil. Soc.* 23: 158-163.
- Hamrick, J.L. y Godt, M.J.W. 1989. Allozyme diversity in plant species, en A.H.D. Brown, M.T. Clegg, A.L. Kahler y B.S. Weir, eds. *Plant Population Genetics, Breeding and Genetic Resources*. Sinauer Associates Inc. Publishers, Sunderland Massachusetts. Pp. 43-63.
- Hamrick, J.L., Godt M.J.W., Murawski D.A. y Loveless M.D. 1991. Correlations between species traits and allozyme diversity: implications for conservation biology, en D. A. Falk y K.E. Holsinger KE, eds. *Genetics and conservation of rare plants*. Oxford Univ Press, New York. Pp. 75-86.
- Hamrick, J.L.; M.J.W. Godt y S.L. Sherman-Broyles. 1992. Factors influencing levels of genetic diversity in woody plant species, en W.T., Adams, S.H., Strauss, D.L., Copes y A.R., Griffin, eds. *Population Genetics of Forest Trees*. Kluwer Academic Press. Pp. 95-124.
- Hartl, D.L. y A.G. Clark. *Principles of population genetics*. 2nd ed., Sinauer Ass., Inc., Sunderland, MA.
- Hedrick, P.W. 1983. *Genetics of Populations*. Science Books International, Boston, MA
- Hillis, D. M. y Moritz, C. (eds.). 1990. *Molecular systematics*. Sinauer Associates, Inc. , Sunderland, Mass.
- Hoth, J. 1995. Mariposa monarca, mitos y otras realidades aladas. *Ciencias* 37:19-28
- Jacobs, B.F., C.R. Werth y S.I. Gutman. 1984. Genetic relationships in *Abies* (fir) of eastern United States: an electrophoretic study. *Canadian Journal of Botany* 62: 609-616..
- Karron, J.D. 1991. Patterns of genetic variation and breeding systems in rare plant species. En D.A. Falk y K.E. Holsinger, eds. *Genetics and conservation of rare plants*. Oxford Univ Press, New York. Pp. 87-98.
- Kormutak, A., F. Bencat, D. Rudin y R. Seyedyazdani. 1982. Isoenzyme variation in the four Slovakian populations of *Abies alba* Mill. *Biologia* 37: 433-440.
- Ledig, F.T. 1986. Heterozygosity, heterosis, and fitness in outbreeding plants. En M.E. Solué, ed. *Conservation biology. The science of scarcity and diversity*. Sinauer, Sunderland, Mass. Pp. 77-104.
- Ledig, F.T. y M.T. Conkle 1983. Gene diversity and genetic structure in a narrow endemic, Torrey Pine (*Pinus torreyana* Parry ex Carr.). *Evolution* 37:79-85

- Liu, T.S. 1971. *A Monograph of the Genus Abies*. Department of Forestry, College of Agriculture, National, Taiwan University. Taipei, Taiwan.
- Matusova, R. 1995. Genetic variation in 5 populations of silver fir (*Abies alba* Mill.). *Biologia* 50:53-59.
- Martínez, M. 1948. Los *Abies* Mexicanos. An. Inst. Biol. Méx. 19(1):11-104
- Martínez-Palacios, A., L. Eguiarte y G. Furnier. mans. Conservation Biology of *Agave victoriae-reginae* (Agavaceae) in the Chihuahuan desert, Mexico. I. Genetic diversity, structure and differentiation between populations. Para ser enviado a *Conservation Biology*.
- McVaugh, R. 1992. *Flora Novo-Galiciana. A descriptive account of the vascular plant of Western Mexico. Gymnosperms and Pteridophytes. Volumen 17*. Univ. of Michigan Herbarium and Arbor.
- Mitton, J.B. 1983. Conifers, en S.D., Tansley y T.J., Orton, eds. *Isozymes in Plant Genetics and Breeding, Part B*. Elsevier Science Publishers. P.p 443-473.
- Nava C. ,Y.G. 1996. *Niveles y patrones de variación química en resinas de las hojas del género Abies del Norte de México*. Tesis de licenciatura, Facultad de Ciencias, UNAM.
- Neale, D.B. y W.T.Adams. 1981. Inheritance of isoenzyme variants in seed tissues of balsam fir (*Abies balsamea*). *Canadian Journal of Botany* 59: 1285-1291.
- Nei, M. 1972. Genetic distance between populations. *American Naturalist* 106: 283-292.
- Nei, M. 1987. *Molecular evolutionary genetics*. Columbia University Press. New York.
- Núñez-Farfán, J. 1991. *Biología evolutiva de Datura stramonium L. en el Centro de México: selección natural de la resistencia a los herbívoros, sistema de cruzamiento y variación genética intra e interespecífica*. Tesis de Doctorado. Centro de Ecología, UACPYP del CCH, UNAM.
- Núñez-Farfán, J., C.A. Domínguez, R. Dirzo, L.E. Eguiarte, M. Quijano y A. Cornejo. 1996. *Estudio genético de las poblaciones de Rhizophora mangle en México*. Reporte del proyecto B214, CONABIO, México, D.F.
- Pérez-Nasser N., L. E. Eguiarte y D. Piñero.1993. Mating systems and genetic structure of the distylous tropical tree *Psychotria faxlucens* Lorence & Dwyer (Rubiaceae). *American Journal of Botany* 80: 45-52.
- Ramamoorthy T.P., Bye R., Lot A. y Fa J. 1993. *Biological diversity of Mexico: origins and distribution*. Oxford Univ Press, New York.
- Ridgeway, G.J., S.V. Sherburne y R.D. Lewis 1970. Polymorphism in the esterase of Atlantic herring. *Trans. Amer. Fish. Soc.* 99:147-151
- Rushforth, K.D. 1989. Two new species of *Abies* (Pinaceae) from western Mexico. *Notes Royal Bot Gard Edinburgh* 46:101-109.
- Schroeder, S. 1989a. Isozyme polymorphisms in Silver fir (*Abies alba* Mill.). *Silvae genetica* 38: 130-133
- Schroeder, S. 1989b Outcrossing rates and seed characteristics in damaged natural populations of *Abies alba* Mill. *Silvae genetica*38:185-189.
- Snook, L.K. 1995. La conservación del bosque. *Ciencias* 40: 50-51
- Soltis, D.E., C. H. Haufler, D.C. Darrow y G.J. Gastony. 1983. Starch gel eletrophoresis of ferns: a compilation of grinding buffers, gel and electrode buffers, and staining schedules. *American Fern Journal* 73: 9-27.
- Slatkin, M. 1981. Estimating levels of gene flow in natural populations. *Genetics* 99: 323-335.

- Slatkin, M. 1985. Rare alleles as indicators of gene flow. *Evolution* 39: 53-65.
- Slatkin, M. 1994. Gene flow and population structure, en Real, L. ed. *Ecological Genetics*. Princeton University Press, Princeton, N.J. Pp. 3-17
- Slatkin, M. y N.H. Barton. 1989. A comparison of three indirect methods for estimating average levels of gene flow. *Evolution* 43: 1349-1368.
- Sokal, R.R. y C.D. Michener. 1958. A statistical method for evaluating systematic relationships. *Univ. Kansas Sci. Bull.* 28: 1409-1438.
- St. Clair, J.B. y W.B. Critchfield 1988. Hybridization of a Rocky Mountain fir (*Abies concolor*) and a Mexican fir (*Abies religiosa*). *Can. J. For. Res.* 18:640-643.
- Swofford, D.L. y S.H. Selander. 1989. *Biosys-1: a computer program for the analysis of allelic variation in population genetics and systematics*. Release 1.7. Illinois Natural History Survey, Champaign, Ill.
- Weber, J.C. 1980. *Isoenzyme variation among ten populations of Populus trichocarpa (Torr. et Gray) in the Pacific northwest*. M.S. thesis University of Washington
- Weir, B.S. 1990. *Genetic data analysis*. Sinauer Assoc, Sunderland, Massachusetts, EUA.
- Wright, S. 1951. The genetical structure of populations. *Ann. Eugenics* 15: 97-159.