

Informe final* del Proyecto WQ003
Análisis para la determinación de los centros de origen y diversidad genética de *Carica papaya* (Caricaceae)*

Responsable: Dr. Juan Núñez Farfán
Institución: Universidad Nacional Autónoma de México
Instituto de Ecología
Correo electrónico: farfan@unam.mx
Fecha de inicio: 30 de junio de 2015
Fecha de término: 31 de octubre de 2017
Principales resultados: Informe final, Base de datos, Cartografía, Fotografía
Forma de citar el informe final y otros resultados:** Núñez Farfán J., Chávez Pesqueira M., Wegier Briuolo A., Casas Fernández A., Álvarez Gómez V., Suárez Montes M. del P. y S. Rosas Plaza. 2017. Análisis para la determinación de los centros de origen y diversidad genética de *Carica papaya* (Caricaceae). Instituto de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México. **Informe final SNIB-CONABIO proyecto No. WQ003**, Ciudad de México. Dentro del Proyecto "Generación y recopilación de información de las especies de las que México es centro de origen y diversidad genética", financiado por la Dirección General del Sector Primario y Recursos Naturales Renovables (DGSPRNR), perteneciente a la SEMARNAT y coordinado por la CONABIO.

Resumen:

Este proyecto incluye la primera de dos fases de investigación con las que se pretende reunir evidencias para determinar los centros de origen y diversidad genética de la papaya (*Carica papaya*). Así mismo, el proyecto se propone complementar información que se requiere para generar adecuadas estrategias de manejo y conservación a largo plazo de la especie. Para ello se revisará la información existente sobre las relaciones filogenéticas, identificando grupos cercanos y modelando la distribución potencial de su nicho ecológico con base en datos de distribución registrados en ejemplares de herbario. La distribución del nicho ecológico de (*Carica papaya*) se validará en campo y se sistematizará la información sobre la diversidad de la especie cultivada en México. Finalmente, se analizará las posibles unidades de manejo. La segunda fase del proyecto se plasmará en las perspectivas de la primera fase y se centrará en el análisis de la diversidad genética domesticada, incluyendo la que se usa y maneja en México.

-
- * 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
 - ** 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.

Análisis para la determinación de los centros de origen y
diversidad genética de *Carica papaya* (Caricaceae)

Informe final

Responsable técnico: Dr. Juan Núñez Farfán

Co-responsable técnico: Dra. Mariana Chávez Pesqueira

Co-responsables: Dra. Ana Wegier Briuolo, Dr. Alejandro Casas Fernández,
Biól. Valeria Álvarez Gómez

Ayudantes: M. en C. María del Pilar Suárez Montes, Biól. Santiago Rosas Plaza

18 de abril de 2017

Índice

Resumen	2
Introducción general	4
<i>Relaciones filogenéticas de Carica papaya</i>	4
<i>Origen y domesticación de Carica papaya</i>	5
<i>Importancia económica de Carica papaya</i>	7
<i>Papaya silvestre</i>	8
<i>Amenazas a la diversidad genética</i>	10
<i>Justificación del proyecto</i>	11
Resultados	13
<i>Visitas a herbario</i>	13
<i>Validación de individuos silvestres en la base del SNIB</i>	13
<i>Incorporación de registros a la base del SNIB</i>	14
<i>Mapa de distribución potencial</i>	15
<i>Validación en campo de la distribución puntual y colectas</i>	16
<i>Mapa de distribución puntual</i>	21
<i>Diversidad y estructura genética</i>	22
Discusión general	35
Perspectivas	38
Conclusiones	40
Agradecimientos	41
Productos no comprometidos	42
Guía de documentos suplementarios	42
Literatura citada	43

Resumen

La conservación de las poblaciones silvestres de especies domesticadas resulta necesaria e importante ya que representan el reservorio genético de dichas especies. La papaya (*Carica papaya*) es una especie de origen mesoamericano de gran importancia económica y cultural para México. En la actualidad, se pueden encontrar poblaciones silvestres de papaya en las zonas tropicales y subtropicales del país. A pesar de su importancia, poco se sabe sobre su distribución, historia evolutiva y el estado de su diversidad genética. Durante el presente proyecto se investigaron estos temas sobre la papaya silvestre en México. En particular, se revisó y amplió la base de datos de la especie *C. papaya* del Sistema Nacional de Información sobre Biodiversidad (SNIB), mediante visitas a herbarios nacionales e internacionales. En total se validaron 69 ejemplares como silvestres y se introdujeron 406 nuevos registros a la base de datos. Además, con los datos de ubicación geográfica de los ejemplares silvestres validados, así como de colectas previas, se realizó un mapa de distribución potencial del nicho ecológico de *Carica papaya* silvestre. Se validó la distribución potencial del Occidente de México de donde no se tenían registros ni colectas, realizando salidas al campo y se colectó tejido vegetal de cinco nuevas poblaciones silvestres y cuatro cultivos, así como muestras silvestres para depositar en el Herbario XAL del INECOL, A. C. Con las nuevas validaciones de la distribución se generó el mapa de la distribución puntual de la especie en su forma silvestre, siendo México la principal región de la distribución de la especie. Finalmente, se extrajo el ADN del tejido vegetal colectado y se amplificaron marcadores nucleares (microsatélites de ADN) y de ADN de cloroplasto. Con los datos de microsatélites se encontraron niveles de diversidad genética de moderados a altos para las poblaciones silvestres, mientras que se encontró casi nula variación genética para los cultivos de papaya Maradol. También se encontró estructura genética, agrupando a las poblaciones en tres grandes grupos genéticos. Por otro lado, se encontró evidencia de flujo génico de los cultivos hacia las poblaciones silvestres, pero no en el sentido contrario, así como, tasas de migración con distancias de hasta 400 km. Con los datos de ADN de cloroplasto, también se encontró alta diversidad genética para las poblaciones silvestres y muy baja para los cultivos. Con este marcador se encontró poca evidencia de estructuración ancestral, sugiriendo que antiguamente el hábitat de la especie se encontraba continuo permitiendo contacto

genético entre poblaciones. Sin embargo, en la actualidad las actividades humanas amenazan la conservación del hábitat natural de la especie. Conservar los recursos genéticos de especies de importancia cultural y económica es vital para el potencial evolutivo y mejoramiento genético de las especies. La información derivada de este proyecto resulta de gran importancia para el conocimiento, conservación y manejo de la papaya en México.

Introducción general

La papaya (*Carica papaya*) es una planta tropical originaria del continente americano. Es probable que su centro de origen se localice en Mesoamérica (Vavilov 1926, Harlan 1971, Storey 1976). Es una especie de la familia Caricaceae y único representante del género *Carica* (Badillo 2000). Se ha propuesto que su distribución natural abarca desde Costa Rica hasta el límite tropical norteño de México (Carvalho y Renner, 2012; Aradhya *et al.* 1999). No obstante, existe poca información sobre la distribución actual y diversidad genética de poblaciones silvestres de papaya (Silva-Rosales y González de León 2005).

Relaciones filogenéticas de Carica papaya

Por mucho tiempo, se consideró que la familia Caricaceae consistía de cinco géneros y 34 especies (Badillo 1993). La familia presentaba 21 especies del género *Carica* L, incluyendo a la papaya, siete especies del género *Jacaratia* A. DC., tres especies del género *Jarilla* Rusby, dos especies del género *Cylicomorpha* Urban y una especie del género *Horovitizia* Badillo. Bajo esta clasificación, se consideraba que el género *Carica* se distribuía en su mayoría en América del Sur junto con el género *Jacaratia*, mientras que *Horovitizia* y *Jarilla* en América Central y *Cylicomorpha* en África ecuatorial. (Badillo 1971, 1993). Posteriormente, Badillo (1993) dividió el género *Carica* en dos secciones: *Carica* y *Vasconcellea* (Saint-Hil.) Hooker, basado en el número de lóculos en el ovario. La sección *Carica* se caracterizó por presentar un ovario unilocular, y sólo representó a una especie, *Carica papaya*. Por otro lado, la sección *Vasconcellea* se caracterizó por presentar un ovario pentalocular, y comprendió el resto de las especies. Unos años después, Badillo (2000) restableció a *Vasconcellea* como un género distinto a *Carica*. La decisión fue soportada por un estudio molecular que encontró que *Vasconcellea* y *Jacaratia* formaban un clado hermano de *C. papaya* (Van Droogenbroeck *et al.* 2002).

Recientemente, Carvalho y Renner (2012) estudiaron la evolución de la familia Caricaceae utilizando secuencias de ADN (4711 nucleótidos de ADN de cloroplasto y nuclear) de las 35 especies integrantes de la familia. Según su estudio, la familia Caricaceae tiene su origen en el continente africano y posteriormente se dispersó a Centroamérica

hace unos 35 millones de años (MA) durante el Eoceno tardío, probablemente por medio de una isla flotante por corrientes marinas. La especie *C. papaya* y sus especies hermanas *Jarilla chocola* y *Horovitzia cnidoscoloides* divergieron del resto de los géneros sudamericanos, relativamente temprano en la historia de la familia durante el Oligoceno (hace ca. 27 MA) coincidiendo con la formación del Istmo de Panamá, y evolucionaron probablemente en alguna región del sur de México o Centroamérica (Aradhya et al. 1999, Carvalho y Renner 2012), mientras que *C. papaya* divergió de sus parientes más cercanos hace aproximadamente 25 MA (Carvalho y Renner 2012). El género *Vasconcellea* actualmente contiene 21 especies y es el género más grande de la familia, seguido por *Jacaratia* con 7 especies. La diversificación del género *Vasconcellea* se ha relacionado con el levantamiento de la parte norte la cordillera de Los Andes, mientras que la diversificación del género *Jacaratia* parece relacionarse con la expansión de la vegetación adaptada a la sequía durante el Mioceno tardío (Carvalho y Renner 2012).

Actualmente se considera que la familia está integrada por seis géneros y 35 especies, siendo *C. papaya* el único representante del género *Carica*. La mayoría de las especies de la familia Caricaceae son árboles o arbustos. El género *Cylicomorpha* se distribuye en África. Los géneros *Vasconcellea* y *Jacaratia* se distribuyen principalmente en Sudamérica, mientras que los géneros *Carica*, *Jarilla* y *Horovitzia* están distribuidos en México y Centroamérica (Carvalho y Renner 2012). *Carica papaya* es la especie con mayor importancia económica de la familia Caricaceae.

Origen y domesticación de Carica papaya

La importancia de conocer los centros de origen de especies cultivadas radica en que poseen el capital de la diversidad genética necesaria para presentes y futuros planes de mejoramiento de los cultivos, emergentes de problemas del cultivo actual o con nuevas aspiraciones. Así mismo, el conocimiento de tales acervos genéticos es crucial para la conservación de la especie silvestre y variedades domesticadas. Mesoamérica ha sido considerado como uno de los principales centros de origen de especies en el mundo (Vavilov 1987) y el probable centro de origen de la papaya (Harlan 1971, Storey 1976). Existe evidencia que soporta la hipótesis de Mesoamérica como centro de origen de la papaya,

aunque no la región precisa. La presencia de poblaciones silvestres sin domesticar en muchas regiones tropicales y subtropicales de México y Centroamérica, así como su cultivo en México y Belice antes de la conquista española, soportan la hipótesis mesoamericana (Colunga-García Marín Y Zizumbo-Villareal 2004). Además, la filogenia de la familia Caricaceae (Carvalho y Renner 2012) establece que el género *Carica* está más cercanamente relacionado con los géneros *Horovitzia*, endémico de México, y *Jarilla*, endémico de México y Guatemala, que con los géneros sudamericanos.

Más evidencia deriva del origen del cromosoma Y^h en individuos hermafroditas de cultivos de papaya. En la especie *C. papaya*, sólo las poblaciones silvestres son estrictamente dioicas, mientras que las domesticadas muestran individuos hermafroditas, además de masculinos y femeninos. Recientemente, Van Buren et al. (2015), secuenciaron la región específica masculina del cromosoma Y y la compararon con la secuencia específica hermafrodita del cromosoma Y^h (Wang et al. 2012). Sus resultados muestran que el cromosoma Y^h tiene una diversidad genética menor que el cromosoma Y, consistente con un cuello de botella genético ocasionado por el proceso de domesticación. Estos resultados sugieren robustamente que el dioicismo es el estado ancestral en la especie *C. papaya* y ya que las poblaciones dioicas sólo se distribuyen en México y Centroamérica, esto es una evidencia más del posible centro de origen en dicha región.

En cuanto a su domesticación, se estima que la papaya empezó a ser consumida por los habitantes antiguos de Mesoamérica alrededor del año 2000 A. C. (Miller 1989). En específico, existe evidencia de que los mayas pudieron utilizar a la papaya en sus sistemas de agricultura y comercio. Se sugiere que, en el momento de la conquista española, la papaya se cultivaba por los nativos desde Chiapas hasta Panamá, y se le conocía con el nombre *olocoton* (Storey et al. 1986). Posteriormente, la papaya fue distribuida de México y Centroamérica hacia América de Sur y otras partes del mundo por los españoles durante el siglo XVI (Fuentes y Santamaría 2013).

En el siglo XVI, los exploradores españoles probablemente iniciaron la dispersión de la especie fuera de su distribución mesoamericana. La papaya fue introducida a la isla Española (hoy conocida como Haití y Santo Domingo) en 1521. Ahí tomó el nombre Indocaribeño de *ababai*, que después se corrompió a *papaia*, *papia*, *papeya* y finalmente

papaya. De esta zona rápidamente se distribuyó a otras islas como Jamaica donde se le conoció como *pawpaw* y Cuba (*fruta bomba*), a partes de Sudamérica como Venezuela (*lechosa*), Brasil (*mamao*) y Argentina (*mamón*) (Storey et al. 1986). Posteriormente, en el año de 1525 la papaya fue llevada a Indonesia donde comenzó su importancia comercial por Asia tropical y África, donde se han producido numerosas razas locales (Manshardt 2013).

Con el tiempo, las papayas cultivadas se han modificado morfológica y fisiológicamente en comparación a su contraparte silvestre. Las principales diferencias entre las plantas silvestres y domesticadas, son que estas últimas sufrieron gigantismo del fruto, incrementando la cantidad de pulpa; reducción en la producción de frutos (Fuentes y Santamaría 2013); mantenimiento de individuos hermafroditas (Janick 2007); y cambios en la morfología y fisiología de las semillas, donde las domesticadas son de mayor tamaño y con menos requerimiento para germinar (Paz y Vázquez-Yanes 1998).

Algunos estudios han evaluado la diversidad genética en papaya domesticada (Stiles et al. 1993, Kim et al. 2002) y en general muestran valores bajos. Años de selección artificial por el tamaño, forma y sabor del fruto, combinado con endogamia y autocruzamientos, probablemente explican la baja diversidad en los cultivos dada por el cuello de botella del proceso de domesticación (Brown et al. 2012).

Importancia económica de Carica papaya

La papaya es una especie económicamente importante que actualmente se cultiva ampliamente en todas las regiones tropicales y sub-tropicales del mundo. Es la tercera fruta tropical más producida, siendo Brasil el principal país productor y México el principal país exportador (Silva-Rosales y González de León 2005). El cultivo de papaya es importante principalmente por sus frutos comestibles y por la extracción de la enzima papaína, que tiene diversos usos en la industria farmacéutica y alimenticia.

La papaya es considerada como una de las frutas más nutritivas basadas en la recomendación diaria de vitaminas de Estados Unidos por su alto contenido de vitaminas A y C, potasio, folato, naicina, tiamina, riboflavina, hierro, calcio y fibra (Ming et al. 2012).

En México la papaya es la séptima especie domesticada en Mesoamérica de mayor importancia económica en el país (Molina y Córdova 2006). La principal variedad de *C. papaya* que se cultiva en México es la variedad de papaya Maradol. En México se cultivaba principalmente la papaya amarilla (o mexicana), sin embargo, tras la introducción de la variedad Maradol, su producción bajó de drásticamente (SAGARPA 2009). La papaya Maradol se originó en Cuba por el fitomejorador Adolfo Rodríguez Rivera y su esposa María Luisa Nodals Ochoa, durante el período 1938–1956 (Rodríguez Rivera et al., 1966). Esta variedad es una planta de fácil cultivo, crecimiento acelerado y fructificación temprana. En términos económicos, la tasa interna de retorno es alta, lo que se traduce en que en un corto periodo de tiempo se recupera la inversión; además, tiende a adaptarse a una gran diversidad de climas, mientras exista humedad, con excepción de los que presentan heladas. En México, la variedad de papaya Maradol tiende a presentar una demanda creciente y altos precios, lo que se ha traducido en un importante dinamismo exportador, así como un atractivo margen de rentabilidad. Las perspectivas de mediano plazo en cuanto a producción de la papaya en México son promisorias, dado que el producto muestra una gran aceptación en Estados Unidos, el mayor mercado del mundo (Silva-Rosales y González de León 2005, Rodríguez Rivera et al., 1966).

Papaya silvestre

En su forma silvestre (Fig. 1), *C. papaya* muestra frutos con un tamaño comparativamente menor a las plantas cultivadas, conteniendo casi sólo semillas y un mesocarpo muy delgado (Manshardt y Zee 1994). En cuanto a la morfología floral, las poblaciones naturales de papaya son estrictamente dioicas, mientras que en papayas cultivadas se pueden encontrar individuos femeninos, masculinos y hermafroditas (Carvalho y Renner 2012, Chávez-Pesqueira et al. 2014). En estado natural, *C. papaya* es un árbol raro, de corta vida y rápido crecimiento, asociado a claros o sitios con algún grado de disturbio en selvas tropicales y subtropicales (Paz y Vázquez-Yanes 1998). Sus flores son polinizadas principalmente por esfíngidos (Sphingidae: Lepidoptera) (OGTR 2008). La floración y fructificación ocurren a lo largo de todo el año (Chávez-Pesqueira y Núñez-Farfán *obs. pers.*) y las plantas pueden reproducirse ocho meses después de su establecimiento (Martínez-Ramos 1985). Los frutos

son consumidos y dispersados por aves y pequeños mamíferos (Chávez-Pesqueira y Núñez-Farfán *obs. pers.*). Las semillas germinan entre dos y tres semanas después de caer al suelo con un porcentaje de aproximadamente 30% de éxito para el día 40 (Paz y Vázquez-Yanes 1998). Ya que las semillas pueden permanecer viables por hasta tres años, constituyen un reservorio genético en el banco de semillas de su hábitat natural.

La papaya silvestre es considerada una especie pionera, lo que significa que persiste por la continua dispersión y colonización de claros o zonas de disturbio recientes (Martínez-Ramos 1985, Núñez-Farfán y Dirzo 1988), representando un papel importante en la regeneración natural de selvas tropicales y sub-tropicales donde habita. Se ha considerado a *C. papaya* como una especie con potencial para reforestación en zonas degradadas de selva (OGTR 2003).

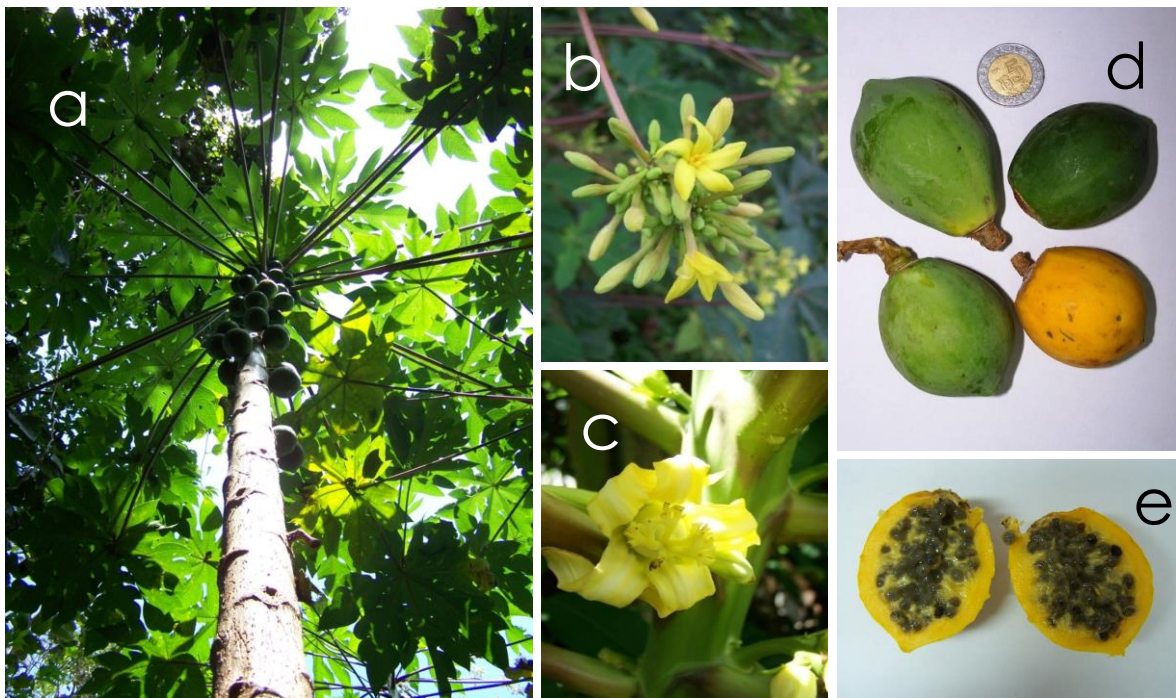


Figura 1. Caracteres morfológicos distintivos de *Carica papaya* silvestre. (a) Planta femenina con frutos. (b) Inflorescencia masculina. (c) Flor femenina. (d) Frutos pequeños y redondos. (e) Fruto abierto con mesocarpo delgado y semillas abundantes, ocupando la mayor parte del interior.

Finalmente, las poblaciones silvestres de papaya, representan el reservorio genético y potencial evolutivo de la especie y pueden ser de mucha utilidad para el mejoramiento genético de variedades cultivadas. A pesar de todo esto, poco se sabía de la distribución y

diversidad genética de las poblaciones silvestres de *C. papaya*. La mayoría de los estudios biológicos de la especie se han realizado con plantas domesticadas; sin embargo trabajos como los de Paz y Vázquez-Yanes (1998), Niklas y Marler (2007), Vega-Frutis y Guevara (2009), Brown *et al.* (2011), Chávez-Pesqueira *et al.* (2014) y Chávez-Pesqueira y Núñez-Farfán (2016), han aportado datos importantes sobre la biología de poblaciones silvestres de esta especie y servido como base para la presente investigación.

Amenazas a la diversidad genética de Carica papaya

La conservación de la diversidad genética de la papaya silvestre en México se encuentra amenazada por diversos procesos. Por un lado, el hábitat natural de la especie, las selvas tropicales y sub-tropicales del país, ha sido altamente fragmentado desde hace aproximadamente sesenta años, principalmente por actividades ganaderas (Challenger 1998, Chávez-Pesqueira *et al.* 2014). Los disturbios a su hábitat natural pueden provocar cambios en el ambiente que alteran los procesos biológicos que originan y mantienen la biodiversidad y la dinámica del ecosistema, y reducen la diversidad y abundancia de especies (Saunders *et al.* 1991, Didham *et al.* 1996). Además, al reducir la conectividad entre las poblaciones, éstas pueden perder diversidad genética por deriva génica y endogamia (Trakhtenbrot *et al.* 2005, Aguilar *et al.* 2008).

Por otro lado, el posible flujo génico y transgénico entre papayas domesticadas y sus parientes silvestres puede tener diversas consecuencias a mediano y largo plazo. El proceso de domesticación de las especies generalmente involucra el manejo de poblaciones con menor diversidad genética debido a la selección de características de interés agronómico, tales como mayor tamaño de los frutos, germinación sincrónica, reducción de la latencia, etcétera. En consecuencia, el flujo génico entre poblaciones cultivadas y silvestres podría modificar la funcionalidad ecológica y biológica de las plantas silvestres en el ecosistema (Ellstrand 2003). Desde 1999 se han liberado papayas genéticamente modificadas (PGM) para la resistencia virus de la mancha anular en Hawái (Silva-Rosales *et al.* 2010); sin embargo, su producción decayó después de esta liberación debido a su baja aceptación por los consumidores. En el caso de México, desde 1995 se han realizado experimentos transformando genéticamente a la papaya. Tres atributos nuevos se han introducido

experimentalmente a la planta de papaya: el primero fue resistencia a herbicidas (Cabrera-Ponce et al. 1995), el segundo fue la sobreexpresión en la raíces de citrato-sintetasa de la bacteria *Pseudomonas aeruginosa*, como medio para desarrollar el sistema modelo para el estudio de la tolerancia al aluminio (de la Fuente et al. 1997), y el tercero fue la resistencia al virus de la mancha anular (papaya ringspot virus *PRSV*) utilizando el gen *CP* de plantas enfermas de Veracruz (datos no publicados). Estos experimentos se llevaron a cabo en el Cinvestav-Unidad Irapuato. Sin embargo, para 1999 el interés decayó, y no se continuó la investigación. Más recientemente, la Fundación Produce Colima, impulsó un proyecto piloto de 2 años para el desarrollo de papaya Maradol transgénica, dirigido por el INIFAP, cuyo principal interés fue el establecimiento de protocolos de transformación (Guzmán-González et al. 2006); el proyecto no pasó a segunda fase, por intereses negativos de los productores locales (Silva-Rosales et al. 2010). Actualmente, existe una colaboración entre la Universidad de Colima y el Cinvestav-Unidad Irapuato (Silva-Rosales, et al. 2010). En el caso de que se aceptara el cultivo de plantas transgénica de papaya en su posible centro de origen y domesticación, se podría provocar pérdida de diversidad genética de las poblaciones silvestres si existe flujo génico con plantas transgénicas (Gepts y Papa 2003).

Justificación del presente estudio

Por todo lo anterior, resulta relevante conocer y conservar la distribución puntual de la especie en México, su posible centro de origen, así como, el estado de las poblaciones silvestres como reservorios de variación genética. La creación y validación del mapa de distribución potencial de *C. papaya* silvestre es fundamental para conocer su distribución real y ayudará al estudio de la diversidad genética de poblaciones silvestres y variedades cultivadas, así como para obtener evidencias moleculares sobre su origen y proceso de domesticación. Finalmente, entender los efectos de la posible introducción de papaya transgénica en México es de vital importancia para asegurar la conservación a largo plazo de la diversidad genética de esta importante especie.

Por todo esto, el objetivo de este proyecto fue recabar evidencias y analizar la información existente para la determinación de los centros de origen y diversidad genética de la especie *Carica papaya*, así como validar la distribución potencial de poblaciones

silvestres de papaya, obtener estimaciones de diversidad genética de su distribución natural con marcadores nucleares y de ADN de cloroplasto. Asimismo, se compararon los niveles de diversidad genética entre la variedad silvestre y la variedad Maradol.

Resultados

Visitas a herbarios

Se revisaron todos los ejemplares herborizados de *C. papaya* en las colecciones de siete herbarios nacionales en los estados de Yucatán, Veracruz y en el Distrito Federal, y dos herbarios internacionales (New York Botanical Garden y Herbario de la Universidad de Puerto Rico) (Tabla 1). En dichos herbarios se fotografiaron todos los ejemplares de la especie, teniendo un acervo total de 818 ejemplares de papaya fotografiados (documento suplementario 1).

Validación de individuos silvestres en la base del SNIB

Se revisaron los ejemplares registrados en la base del Sistema Nacional de Información sobre Biodiversidad (SNIB) para validar a los individuos silvestres. Para ésto, se buscó el número de catálogo proporcionado en la base en los ejemplares fotografiados en los herbarios visitados. Cabe aclarar que muchos ejemplares de herbario no muestran número de catálogo o información suficiente, por lo que fue imposible determinar a qué registro corresponden en la base del SNIB. Además, muchos registros que se encuentran en la base del SNIB no corresponden a ejemplares fotografiados.

Para la validación se descartaron los ejemplares clasificados como cultivados o que no tuvieran la información suficiente para validarse como silvestre, de manera que sólo se validaron aquellos ejemplares que mostraran las características específicas de plantas silvestres. Cabe señalar que sólo los individuos femeninos que mostraran frutos pequeños y con poca pulpa pudieron determinarse como silvestres, ya que las plantas masculinas son similares entre las formas silvestres y cultivadas, por lo que no se pueden diferenciar.

En la base proporcionada del SNIB se agregaron 3 columnas al final donde se validó o no que los ejemplares fueran silvestres, se da la razón de dicha validación y se especifica si los individuos eran de sexo femenino o masculino (documento suplementario 2). En muchos

casos existieron más ejemplares de papaya en los herbarios que los registrados en la base del SNIB.

De los nueve herbarios visitados (nacionales e internacionales) sólo 69 ejemplares fotografiados (65 de herbarios nacionales y cuatro de herbarios internacionales) pudieron ser validados como silvestres, y de éstos, sólo 37 (36 de herbarios nacionales y uno de herbario internacional) pudieron usarse como referencias del mapa de distribución, ya que contaban con ubicaciones geográficas precisas.

De los individuos que se validaron como silvestres (documento suplementario 3), se observó que la mayoría se distribuyen en México, mientras que sólo el 7.4% se encuentran en otros países (Belice, Nicaragua, Honduras).

Incorporación de registros a la base del SNIB

De los 682 ejemplares de papaya observados y fotografiados en los herbarios nacionales, sólo 276 contaron con registro en la base del SNIB, mientras que 406 no concordaron con ningún número de catálogo o característica de la base (Tabla 1), por lo que fueron integrados a dicha base (documento suplementario 2). Cabe mencionar que sólo se introdujeron los ejemplares de herbarios nacionales, ya que los internacionales no fueron comprometidos. Todo el registro fotográfico se proporciona en el documento suplementario 1 y está dividido en carpetas por herbario, y dentro de cada herbario en ejemplares con y sin registro en el SNIB.

De los 406 nuevos registros incorporados a la base del SNIB, 301 pertenecen al herbario MEXU, 18 al herbario XAL, 10 al herbario de la UADY, 4 al herbario de la estación biológica de Los Tuxtlas, 56 a la ENCB del Politécnico Nacional y 8 al INIFAP Coyoacán (Tabla 1). Los nuevos registros fueron marcados con fondo verde en el documento suplementario 2 para su fácil ubicación.

Tabla 1. Número de ejemplares fotografiados de los herbarios visitados con y sin registro en el SNIB y número de ejemplares validados como silvestres por herbario.

Herbario	Ejemplares fotografiados	Con registro en el SNIB	Sin registro en el SNIB	Ejemplares validados como silvestres	Ejemplares silvestres con coordenadas
Herbarios Nacional (MEXU) IB	335	34	301	35	18
Herbarios XAL, Instituto de Ecología A. C.	132	114	18	13	10
Herbario Centro de Investigación Científica de Yucatán, A. C. (CICY)	66	66	0	6	5
Herbario Universidad Autónoma de Yucatán (UADY)	21	2	19	0	0
Herbario Estación Biológica de Los Tuxtlas	13	9	4	3	0
Herbario Escuela Nacional de Ciencias Biológicas (ENCB), IPN	76	20	56	8	3
INIFAP Coyoacán	39	31	8	1	0
New York Botanical Garden Herbarium	110	-	-	4	1
Herbario Universidad de Puerto Rico	26	-	-	0	0
Total	816	276	406	69	37

Mapa de distribución potencial

Para la elaboración de un mapa de distribución potencial que nos permitiera ubicar las zonas sin colectas o ejemplares de papaya silvestre en México, se utilizó la ubicación geográfica de los ejemplares de herbario validados como silvestres que tuvieran una referencia geográfica

precisa. Si la información referente a su ubicación geográfica no era clara o precisa, dichos ejemplares no fueron tomados en cuenta para el mapa de distribución potencial, a pesar de ser validados como individuos silvestres. Además, se utilizaron los datos de ubicación geográfica de las colectas previas de papaya silvestre en México (Chávez-Pesqueira et al. 2014, Chávez-Pesqueira y Núñez-Farfán 2016).

Para la elaboración del mapa, se emplearon 19 variables bioclimáticas (Bioclim) de WorldClim (Hijmans *et al.*, 2005) para realizar la modelación del nicho ecológico de *C. papaya* con el programa MaxEnt (Phillips *et al.* 2006). Se realizaron 500 réplicas del algoritmo con *bootstrap*. Para cada réplica se calibró el modelo con 80% de los datos ocurrencia, dejando 20% para evaluación. Los archivos de salida en formato logístico se visualizaron en el programa ArcMap 9.3.

De acuerdo a la distribución potencial obtenida ($AUC = 0.978 \pm 0.003$), la mayoría de los datos con los que se realizó el modelo de nicho ecológico se encuentran dentro de los estados del este y sur de México para los cuales la distribución de la especie era conocida, sin embargo, reveló zonas de moderada y alta probabilidad de presencia de *C. papaya* silvestre en la parte occidental de México. Dicha zona nunca había sido descrita como parte de la distribución natural de la papaya, y durante la validación de los ejemplares de herbario, no se observó ningún ejemplar de papaya que habitara en dicha zona.

Validación en campo de la distribución potencial y colectas

Se realizaron cuatro salidas de trabajo de campo a lo largo del proyecto para validar la distribución potencial obtenida para papaya silvestre y coleccionar tejido foliar y ejemplares de herbario:

- La primera salida se realizó a los estados de Sinaloa, Nayarit, Jalisco, Colima, Michoacán y Guerrero. En dicha salida se colectó tejido foliar y ejemplares de herbario para cinco poblaciones de papaya silvestre y tejido foliar para tres cultivos de papaya Maradol (Fig. 2) con un total de 138 individuos colectados. En la Tabla 2 se muestran las ubicaciones y el número de individuos colectados por población. No

se encontraron poblaciones silvestres en las zonas visitadas de los estados de Colima y Jalisco.

- En la segunda salida, se visitaron los estados de Sinaloa y Sonora, para validar la presencia de papaya silvestre en esa región. Se recorrieron varias zonas del norte de Sinaloa y sur de Sonora señaladas en el mapa de distribución potencial como zonas de probabilidad moderada para la presencia de papaya silvestre, sin embargo, no se logró encontrar ningún individuo silvestre de *C. papaya* en dicha zona.
- En la tercera salida al campo se visitó el sur de Baja California Sur para validar una zona de probabilidad moderada en el mapa de distribución potencial, sin embargo, tampoco se encontraron plantas silvestres de papaya en dicha región, lo que sugiere que la especie no se distribuye de manera natural en la península de Baja California y que el límite más norteño en la parte occidental de México para esta especie es el sur del estado de Sinaloa (población Copala).
- En la cuarta salida se visitaron los estados de Tabasco y Guerrero con la finalidad de validar la distribución potencial de *C. papaya*. Se registraron observaciones de poblaciones e individuos silvestres en los municipios de Teapa, Tacotalpa, Comalcalco, Cunduacán y en la Ciudad de Villa Hermosa, ubicados en el estado de Tabasco, en donde se observaron un total de 43 individuos silvestres. En el estado de Guerrero se visitó el municipio de La Unión de Isidoro Montes de Oca en la comunidad de Troncones, en donde se registraron un total de 24 individuos silvestres. En la Tabla 3 se muestran las ubicaciones y el número de individuos observados por población. Cabe mencionar que, en el estado de Tabasco, los individuos observados se encontraron principalmente a los costados de carreteras o caminos, zonas de claros y áreas perturbadas en donde la especie puede recibir mayor cantidad de luz y a una altura que oscila entre los 0 a 200 msnm. Aunado a esto es importante destacar que la variedad silvestre es utilizada por los pobladores de Tabasco como alimento, y en los mercados se vende con el nombre dulce de oreja de mico (Figura 3).

Todas las poblaciones colectadas y observadas durante el proyecto fueron referenciadas geográficamente con un receptor de posicionamiento global (GPS).

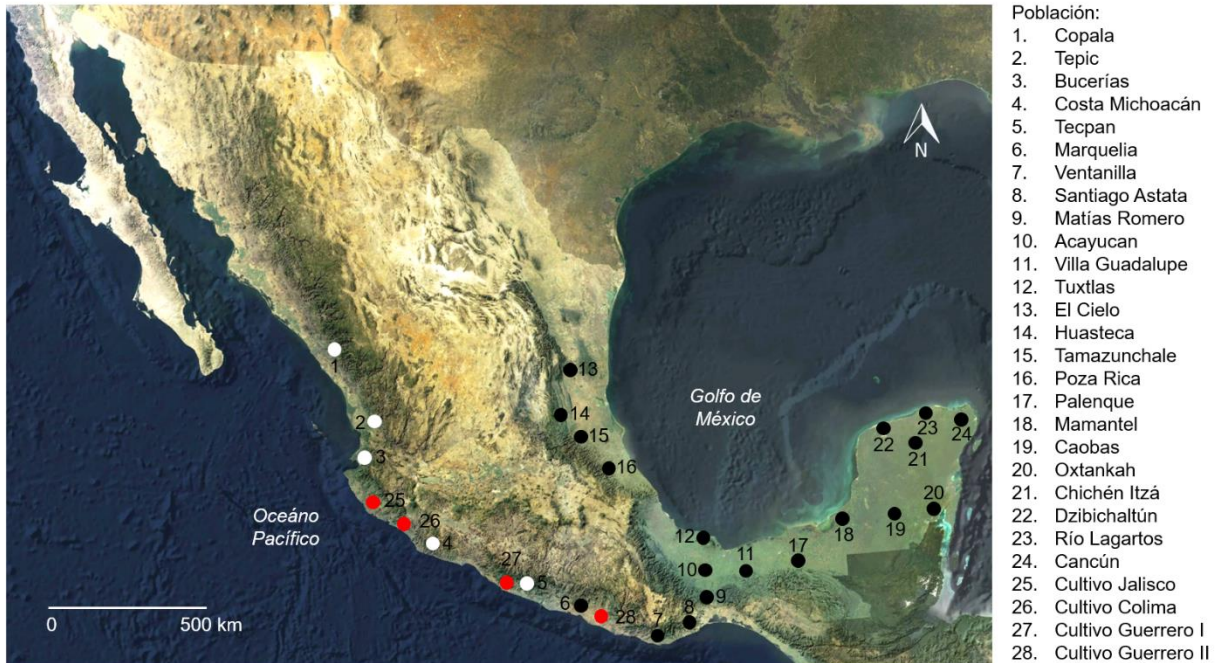


Figura 2. Poblaciones silvestres de *Carica papaya* colectadas en México. En blanco y rojo se señalan las poblaciones silvestres (cinco) y cultivadas (cuatro) respectivamente, colectadas durante este proyecto. En negro se señalan las poblaciones colectadas previamente (Chávez-Pesqueira y Núñez-Farfán 2016).

En cuanto a las características de las regiones donde se encontraron poblaciones silvestres de papaya, se puede generalizar que la especie habita de manera natural en zonas tropicales bajas (entre 0 y 700 msnm) con los siguientes tipos de vegetación: zonas de selva alta perennifolia o selva mediana subperennifolia. En general se presentan en zonas de claros, perturbaciones u orillas de caminos, o bien en cañadas, donde reciben mayor cantidad de luz. También se encontró que frecuentemente *C. papaya* en estado silvestre comparte zonas de distribución con la especie de árbol tropical *Cecropia obtusifolia* (Urticaceae).

Se integró a las colectas de tejido foliar una población más de papaya cultivada del estado de Guerrero colectada anteriormente (colectada por M. Chávez-Pesqueira, 2012) (Figura 2). Dicha población consiste de 20 individuos de papaya Maradol y su ubicación geográfica es: 16° 26' 58.38" N, -98° 24' 40.78" O.

Tabla 2. Poblaciones con colecta de tejido durante el proyecto, se indica el número de individuos colectados y ubicación geográfica.

Población	Ubicación geográfica	Número de individuos colectados
Copala, Sinaloa	23° 21' 49.32" N, -105° 56' 46.29" O	14
Tepic, Nayarit	21° 34' 55.73" N, -104° 59' 47.06" O	11
Bucerías, Nayarit	20° 46' 14.92" N, -105° 22' 34.02" O	26
Costa de Michoacán, Michoacán	18° 13' 20.6" N, -103° 9' 45.01" O	21
Tecpan de Galeana, Guerrero	17° 14' 06.7" N, -100° 38' 21.23" O	20
Cultivo 1, Jalisco	19° 21' 42.48" N, -104° 55' 45.32" O	13
Cultivo 2, Colima	18° 56' 03.11" N, -103° 59' 50.25" O	13
Cultivo 3, Guerrero	17° 12' 41.07" N, -100° 46' 54.75" O	20

Tabla 3. Poblaciones colectadas durante la cuarta salida a campo con el número de individuos observados y ubicación geográfica.

Población	Ubicación geográfica	Número de individuos observados
Comalcalco, Tabasco	18°12'0.980"N, 93°12'0.71"O	3
	18°10'0.350"N, 93°12'.71"O	4
	18°17'03.5"N, 93°12'39.1"O	2
Cunduacan, Tabasco	18°06'0.337"N, 93°10'0.287"O	2
	18°06'0.337"N, 93°10'0.287"O	2
Villa Hermosa, Tabasco	18°03'51.2"N, 92°53'15.6"O	4
Tacotalpa, Tabasco	17°26'19.2"N, 92°44'56.1"O	6
	17°26'41.9"N, 92°44'35.5"O	4
Teapa, Tabasco	17°31'34.3"N, 92°55'38.4"O	3
	18°0'0.08"N, 092°55'46.5"O	3
Macuspana, Tabasco	17°36'54"N, 92°28'7.3"O	6
	17°37'12.2"N, 92°20'13.5"O	4
Troncones, Guerrero	17°46'56.6"N, 101°43'26.5"O	6

17°47'01.9"N, 101°43'34.4"O	9
17°47'03.1"N, 101°43'23.0"O	4
17°46'56.28"N, 101°43'25.3"O	2
17° 47' 01.8" N, 101° 43' 24.4"O	3



Figura 3. Dulce tradicional de papaya silvestre conocido como dulce de oreja de mico en el estado de Tabasco, México. Foto por Santiago Rosas.

Adicionalmente, en cada una de las cinco nuevas poblaciones silvestres donde se colectó tejido vegetal para los análisis genéticos, también se colectaron ejemplares para herbario. De cada ejemplar se registraron los datos pertinentes para su descripción (fecha, localidad, tipo de hábitat, descripción del individuo, colectores y determinadores). En total, se colectaron 22 ejemplares de papaya silvestre durante este proyecto incluyendo las cinco nuevas poblaciones y poblaciones colectadas anteriormente (durante las salidas de trabajo de campo y de visita a herbarios). Los ejemplares fueron depositados en el Herbario XAL del

INECOL (se anexa la carta de agradecimiento como documento suplementario 4). Cabe señalar que todos los ejemplares para herbario colectados durante este proyecto distinguen en la descripción de los ejemplares que el individuo era silvestre. Además, en cada ficha de los ejemplares se especificó que la colecta forma parte del presente proyecto [Colecta del proyecto “Análisis para la determinación de los centros de origen y diversidad genética de *Carica papaya* (Caricaceae)”. CONABIO-IE, UNAM].

En el documento suplementario 1 se encuentran fotografías de los individuos observados en campo durante las salidas al campo del proyecto, así como, la guía sobre su descripción. Asimismo, se adjunta como documento suplementario 5 la base de datos de los registros colectados y observados comprometidos en el proyecto siguiendo la estructura señalada en el Anexo 3 del convenio.

Mapa de distribución puntual

Con base en los registros de ubicación geográfica de colectas previas (Chávez-Pesqueira et al. 2014, Chávez-Pesqueira y Núñez-Farfán *en prensa*), las cinco nuevas poblaciones colectadas en este proyecto y los ejemplares determinados como silvestres de los herbarios visitados, se realizó el mapa de distribución puntual para la especie *Carica papaya* siguiendo los lineamientos establecidos por la CONABIO y que se describieron anteriormente. Finalmente se contó con 81 registros de papaya silvestre para obtener el mapa de distribución puntual de la especie en su forma silvestre (Fig. 9). En el documento suplementario 3 se muestra una tabla con las ubicaciones y las referencias geográficas de los individuos que se utilizaron para obtener el mapa de distribución potencial.

De acuerdo a la distribución puntual obtenida (Fig. 4), la mayoría de los datos con los que se realizó el modelo de nicho ecológico se encuentran dentro de las áreas que presentan las probabilidades más altas de presencia de poblaciones silvestres de *C. papaya* (las zonas en naranja y rojo, o bien de 85 a 100% de probabilidad), mientras que el resto se encuentra dentro de áreas que muestran probabilidades entre 60-85% y que presentan las condiciones ambientales típicas para el crecimiento de la papaya silvestre (zonas verdes y amarillas).

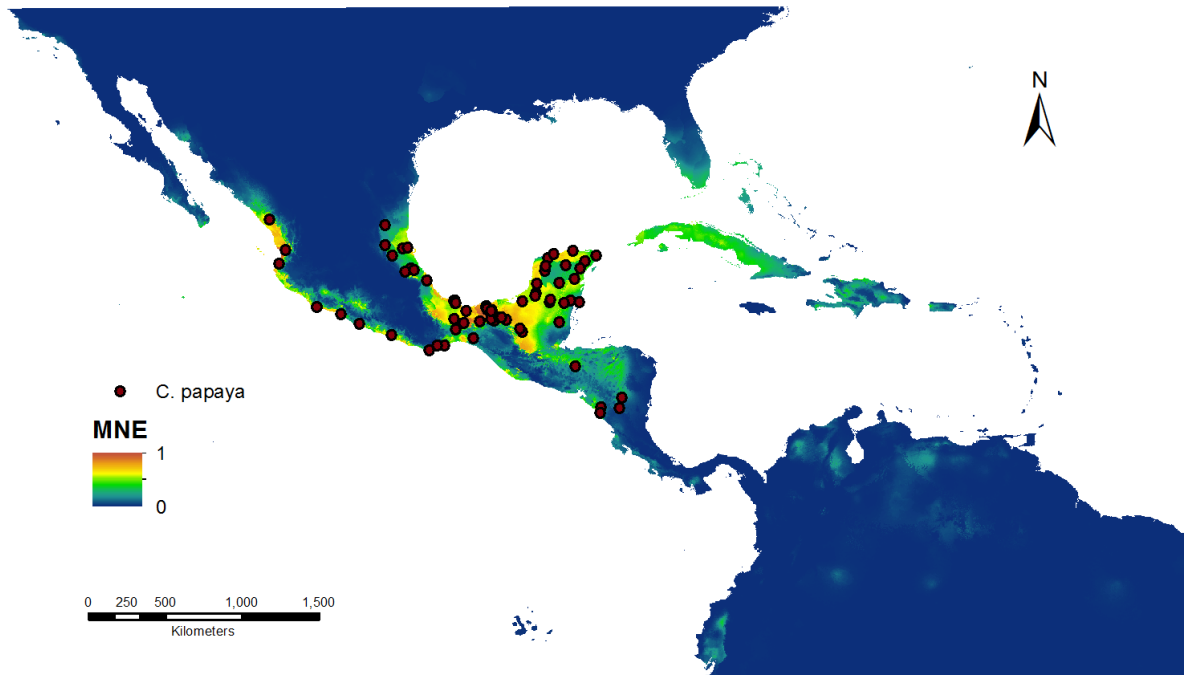


Figura 4. Mapa de distribución puntual de la especie *Carica papaya* en su forma silvestre basada en 81 registros (puntos rojos) de individuos silvestres. El color rojo muestra las zonas de mayor probabilidad para encontrar a la especie, mientras que el azul oscuro las zonas de nula probabilidad.

La distribución natural de *C. papaya* abarca zonas bajas de vegetación tropical y subtropical desde el norte de México (sur de Sinaloa para la parte Occidental y la región del Cielo en Tamaulipas en la parte Oriental) hasta el sur de Nicaragua en Centroamérica.

En el documento suplementario 6 se incluye la información cartográfica referente a la distribución potencial y puntual.

Diversidad y estructura genética

Se extrajo ADN del tejido foliar colectado durante las salidas al campo. Se utilizó el método de extracción de Doyle y Doyle (1987) con algunas modificaciones para *C. papaya*. En total se extrajo ADN de 92 muestras de plantas silvestres y 46 de plantas cultivadas (138 muestras en total). Se utilizaron dos tipos de marcadores moleculares para los análisis genéticos: microsatélites de ADN nuclear y regiones de ADN de cloroplasto. En particular, se amplificaron seis marcadores de microsatélites previamente reportados para la especie

(Ocampo et al. 2006) y 2 marcadores universales de ADN de cloroplasto (*trnH-psbA* y *rps12-rpl20*).

- Microsatélites de ADN

Para los microsatélites, se utilizaron reacciones multiplex (10 μ l) con el siguiente contenido: 20 ng de ADN (2 μ l), 0.2 μ M de primers “forward” con etiquetas fluorescentes, 0.2 μ M de primers “reverse”, agua libre de ARN Y ADN y la reacción Mix (1x) que contiene la polimerasa. Las reacciones de amplificación se llevaron a cabo en un termociclador Veriti. La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) se llevó a cabo por medio de reacciones “touchdown”, comenzando con una temperatura inicial de activación de 95° C por 10 minutos, seguido de 31 ciclos de desnaturalización a 94° C por un minuto, temperaturas de alineación por 1 minuto, y 1 minuto de extensión a 72° C. Las temperaturas de alineación comenzaron a 57° C bajando un grado cada ciclo hasta los 51° C. Esta temperatura se mantuvo por 6 ciclos, seguido de 2 etapas de 12 ciclos cada una a 55°c y 54° C, respectivamente. Los productos de PCR se mandaron a analizar al Laboratorio de Secuenciación Genómica de la Biodiversidad y de la Salud del Instituto de Biología de la UNAM.

El genotipado individual (lectura de los tamaños de alelos) de los seis loci de microsatélites de ADN se llevó a cabo utilizando el programa GeneMarker v2.4.0 (SoftGenetics, LLC). En total, se obtuvieron los genotipos de 156 individuos para los seis loci (dos individuos de la población Tepic no se lograron amplificar). Estos datos se sumaron con los datos existentes de 355 individuos de colectas previas de *C. papaya* silvestres (Chávez-Pesqueira y Núñez-Farfán 2016) para un total de 511 individuos de 24 poblaciones silvestres de papaya y cuatro poblaciones de papaya cultivada (variedad Maradol) en México.

Para cada población se obtuvieron los siguientes estimadores de diversidad genética utilizando GeneAlex 6.5 (Peakall y Smouse 2012): porcentaje de loci polimórficos (% LP), número de alelos (N_a), número de alelos efectivos (N_e), heterocigosis observada (H_o), heterocigosis esperada (H_e) e índice de fijación (F) (Tabla 4). Se utilizó Microchecker 2.2.3 (van Oosterhout et al. 2004) para descartar las presencia de alelos nulos.

La estructura genética de las poblaciones se infirió utilizando Structure (Pritchard et al. 2000) y Geneland (versión 4.0; Guillot et al. 2008). Para Structure se corrieron 30

iteraciones bajo un modelo de *admixture* asumiendo frecuencias no correlacionadas con un rango de valores de K de 1 a 28. Cada corrida tuvo un periodo de *burn in* de 5,000,000 seguido por 2,500,000 réplicas de cadenas de Markov (MCMC). La K final se determinó según lo propuesto por Evanno et al. (2005). Geneland es similar a Structure pero utiliza un procedimiento bayesiano y considera la proximidad espacial de las poblaciones al asignar a los individuos a los grupos genéticos. Se corrieron 10 corridas independientes utilizando 1,000,000 de iteraciones MCMC con un valor de *thinning* de 100. Se utilizaron las opciones de frecuencias sin correlación y de modelo de alelos nulos. Se dio una incertidumbre de 400 km a las localidades (se basó en los resultados de tasas de migración obtenidas con Bayesass, ver adelante). Se utilizó la probabilidad posterior promedio para escoger la mejor corrida.

Se encontró que la diversidad genética promedio de las poblaciones silvestres es relativamente alta con una heterocigosis observada promedio (H_o) de 0.643, mientras que para las poblaciones de cultivos es muy baja ($H_o = 0.017$) (Tabla 4). Las poblaciones silvestres con menor diversidad genética (valores menores de 0.5 de H_o) fueron: Costa de Michoacán ($H_o = 0.381$), Tecpan ($H_o = 0.360$) y Santiago Astata ($H_o = 0.409$).

Con el programa Structure se obtuvo un valor de $K = 4$, indicando que todos los individuos analizados (511) se agrupan en 4 grupos genéticos. Se observa que las poblaciones silvestres se agrupan en 3 grupos genéticos, agrupando las poblaciones de la región del Pacífico en un grupo, las poblaciones de la región sur, región del Istmo de Tehuantepec y región del Golfo en otro grupo genético y finalmente las poblaciones de la Península de Yucatán en otro grupo. Las cuatro poblaciones de papayas cultivadas fueron agrupadas en un grupo (Fig. 5). En la Fig. 5A, cada línea o columna corresponde a un individuo. Los individuos se encuentran agrupados por las poblaciones de colecta. Las columnas que tienen más de un color indican individuos con información genética de dos (dos colores) o más (más de dos colores) grupos genéticos indicando flujo génico entre poblaciones y grupos genéticos. En particular, se puede observar evidencia de flujo génico entre poblaciones silvestres, así como, de poblaciones de cultivos (color rojo) hacia las poblaciones silvestres. Sin embargo, no se observa flujo génico de poblaciones silvestres hacia los cultivos (sólo en un individuo del cultivo Guerrero I, población 27). Este resultado es de suma importancia si se considera la posible introducción de organismos transgénicos de la especie en México.

Tabla 4. Estimadores de diversidad genética para 24 poblaciones silvestres y 4 cultivos de papaya en México. N = número de individuos por población, %LP = porcentaje de loci polimórfico, N_a = número de alelos, N_e = número de alelos efectivo, H_o = heterocigosis observada, H_e = heterocigosis esperada, F = índice de fijación. Entre paréntesis se indica el valor de desviación estándar.

Población	N	%LP	N_a	N_e	H_o	H_e	F
Copala	14	100	3.833 (0.601)	2.628 (0.603)	0.548 (0.113)	0.524 (0.092)	-0.025 (0.050)
Tepic	11	100	4.833 (0.601)	3.502 (0.571)	0.652 (0.076)	0.673 (0.055)	0.028 (0.091)
Bucerías	26	100	6 (0.775)	3.223 (0.516)	0.558 (0.084)	0.636 (0.070)	0.119 (0.082)
Costa Michoacán	21	100	4.333 (0.667)	1.847 (0.226)	0.381 (0.071)	0.415 (0.074)	0.056 (0.081)
Tecpan	20	83.3	3.667 (0.803)	1.668 (0.185)	0.360 (0.085)	0.355 (0.084)	-0.037 (0.084)
Marquelia	19	100	4.5 (0.428)	3.054 (0.298)	0.693 (0.066)	0.656 (0.036)	-0.064 (0.093)
Ventanilla	18	100	6.167 (0.401)	3.327 (0.278)	0.630 (0.031)	0.688 (0.028)	0.083 (0.030)
Santiago Astata	11	100	4.167 (0.307)	2.998 (0.258)	0.409 (0.080)	0.654 (0.029)	0.387 (0.110)
Matías Romero	19	100	7.667 (0.989)	4.090 (0.439)	0.711 (0.033)	0.740 (0.030)	0.034 (0.050)
Acayucan	20	100	7.167 (0.601)	3.814 (0.349)	0.742 (0.024)	0.726 (0.026)	-0.025 (0.037)
Villa Guadalupe	18	100	7.167 (0.792)	4.606 (0.541)	0.750 (0.087)	0.762 (0.036)	0.035 (0.083)
Tuxtlas	20	100	6.167 (0.477)	3.078 (0.153)	0.600 (0.058)	0.671 (0.018)	0.100 (0.090)
El Cielo	21	100	6.167 (0.946)	3.431 (0.537)	0.667 (0.082)	0.655 (0.076)	-0.017 (0.039)
Huasteca	16	100	6.167 (0.703)	3.839 (0.523)	0.698 (0.030)	0.710 (0.450)	0.006 (0.044)
Tamazunchale	15	100	5.500 (0.617)	4.052 (0.609)	0.744 (0.036)	0.720 (0.047)	-0.041 (0.028)
Poza Rica	17	100	7.667 (0.760)	5.199 (0.211)	0.735 (0.062)	0.806 (0.009)	0.089 (0.073)
Palenque	18	100	6.667 (0.333)	3.859 (0.625)	0.667 (0.059)	0.705 (0.046)	0.059 (0.042)
Mamantel	20	100	8.000 (1.095)	5.009 (0.597)	0.783 (0.069)	0.788 (0.021)	0.013 (0.070)
Caoba	20	100	7.833 (0.792)	4.309 (0.585)	0.758 (0.033)	0.748 (0.030)	-0.019 (0.050)

Oxtankah	20	100	0.667 (0.715)	3.412 (0.602)	0.733 (0.063)	0.669 (0.046)	-0.100 (0.070)
Chichén Itzá	23	100	6.617 (0.477)	3.582 (0.605)	0.692 (0.046)	0.690 (0.039)	-0.005 (0.041)
Dzibilchaltún	20	100	5.500 (0.563)	2.942 (0.164)	0.692 (0.054)	0.655 (0.018)	-0.054 (0.074)
Río Lagartos	20	100	5.667 (0.615)	3.229 (0.482)	0.658 (0.082)	0.652 (0.052)	-0.004 (0.100)
Cancún	20	100	5.167 (0.601)	3.187 (0.448)	0.583 (0.076)	0.634 (0.077)	0.075 (0.055)
Cultivo Jalisco	12	16.2	1.167 (0.167)	1.014 (0.014)	0.014 (0.014)	0.013 (0.013)	-0.043 (0.014)
Cultivo Colima	13	0	1 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Cultivo Guerrero I	21	66.7	1.667 (0.211)	1.050 (0.023)	0.048 (0.021)	0.045 (0.020)	-0.038 (0.011)
Cultivo Guerrero II	18	16.7	1.167 (0.167)	1.010 (0.010)	0.009 (0.009)	0.009 (0.009)	0.029 (0.009)
Total	511	88.7	5.280 (0.191)	3.141 (0.116)	0.554 (0.022)	0.571 (0.021)	0.027 (0.014)
Total (sin cultivos)	447		5.951 (0.165)	3.495 (0.111)	0.643 (0.016)	0.664 (0.013)	0.029 (0.015)

Con el programa Geneland se encontró algo similar, sin embargo, los individuos fueron agrupados en cinco grupos genéticos, siendo iguales a los de Structure, pero dividiendo el grupo azul en dos grupos, separando a las poblaciones de El Cielo, Huasteca, Tamazunchale y Poza Rica como un nuevo grupo genético.

Se evaluó la diferenciación genética de las poblaciones asumiendo un modelo mutacional de paso por paso con el estadístico *RST* (Slatkin, 1995). El valor obtenido de *RST* entre poblaciones fue de 0.151 indicando una diferenciación moderada entre poblaciones, mientras que entre los grupos genéticos de Structure fue de 0.079, indicando menor diferenciación entre grupos. El partimiento de la variación genética dentro y entre poblaciones se probó con un análisis molecular de la varianza (AMOVA; Excoffier et al. 1992) entre los grupos genéticos derivados de Structure usando GeneAlex 6.5 (Peakall Y Smouse 2012). El AMOVA indicó que la mayoría de la variación se encuentra entre individuos (67.29%) y entre grupos (19.27%), mientras que en menor cantidad entre poblaciones dentro de los grupos (9.87%) y entre individuos dentro de las poblaciones (3.58%).

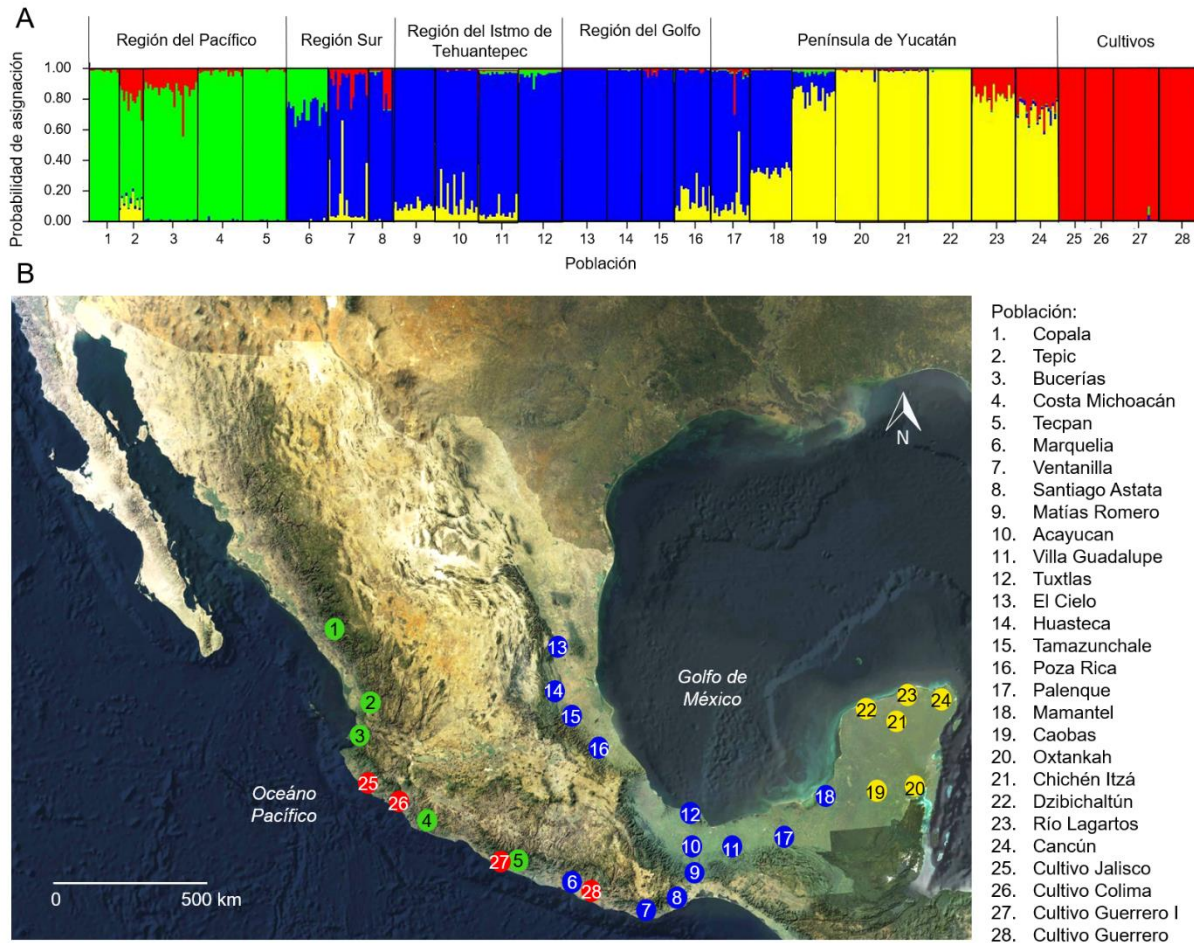


Figura 5. A. Gráfico de STRUCTURE mostrando los cuatro grupos genéticos ($K = 4$) para poblaciones silvestres (1-24) y cultivadas (25-28) de *Carica papaya* en México. B. Mapa mostrando las 28 poblaciones de *C. papaya* en México. El color de cada población corresponde al grupo genético más representado.

Utilizando Barrier 2.2 (Manni et al. 2004) se evaluó la presencia de discontinuidades genéticas entre poblaciones de papaya silvestre. Usando una matriz de distancias geográficas y 100 matrices de distancias genéticas (F_{ST}) pareadas entre poblaciones se obtuvieron las barreras con mayor probabilidad entre las poblaciones muestreadas. Las 100 réplicas de las matrices de F_{ST} pareadas se obtuvieron por bootstrap con el programa MSA 4.05 (Dieringer y Scötterer 2003). Se encontró que las barreras coinciden, en general, con regiones montañosas de México, tales como las Sierras Madres Occidental y Oriental, así como la Sierra de del Sur, la Sierra de Juárez y la franja más oriental del Eje Neovolcánico Transversal (Fig. 6). En los casos donde no se asocia la barrera genética a una barrera física, la degradación y fragmentación de los hábitats podrían ser las principales causas.

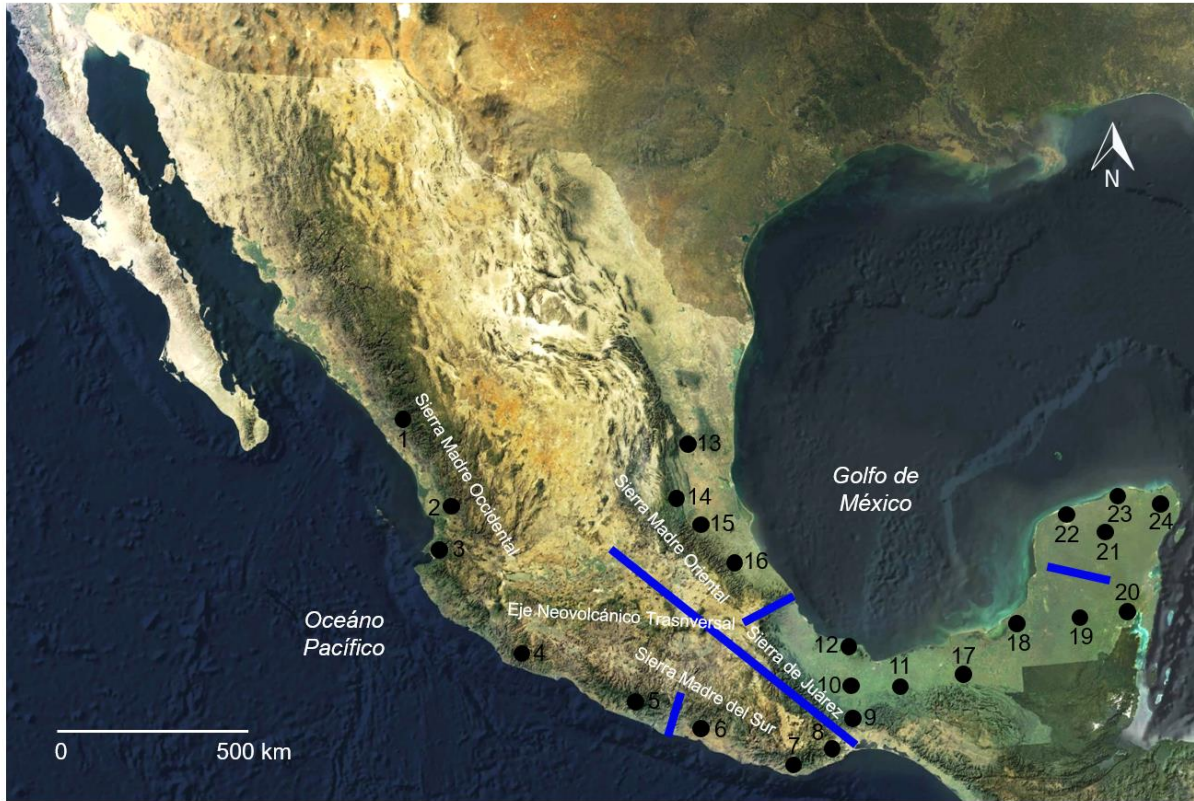


Figura 6. Barreras genéticas (líneas azules) para *Carica papaya* silvestre en México.

Para conocer las posibles distancias de movimiento de polen entre poblaciones de *Carica papaya*, se obtuvieron las tasas de migración reciente utilizando el programa Bayesass edición 3 (Wilson y Rannala 2003). Se utilizaron 5 corridas con 10 millones de generaciones, un millón de generaciones de *burn in* y se muestreó la cadena cada 2000 generaciones. Con este análisis se encontró que en general las tasas de migración entre las poblaciones estudiadas son moderadas (con un rango de 0 a 0.15). Los resultados indican evidencia de migrantes entre poblaciones cercanas, y en su mayoría de acuerdo con los grupos genéticos detectados con Structure y Geneland. Las poblaciones Cielo, Tuxtlas, Bucerías, Río Lagartos y Marquelia tienen mayor tasa de migración hacia otras poblaciones, por lo que representan importantes fuentes de variación genética (Tabla 5). Sin embargo, los resultados también sugieren eventos de migración a grandes distancias, con distancias de hasta 420 km entre las poblaciones de Los Tuxtlas (Veracruz) y Mamantel (Campeche).

Tabla 5. Tasas de migración reciente (+ d. e.) y distancias (km) entre poblaciones receptoras y poblaciones de origen de *Carica papaya*. Sólo se reportan tasas mayores a 0.05.

Población receptora	Población de origen	Tasa de migración (DE)	Distancia (km)
Dzibichaltún	Cancún	0.1231(0.0220)	225
Huasteca	Cielo	0.1197(0.0248)	124
Tamazunchale	Cielo	0.1219(0.0247)	202
Poza Rica	Cielo	0.0669(0.0246)	318
Acayucan	Los Tuxtlas	0.1325(0.0232)	121
Mamantel	Los Tuxtlas	0.0540(0.0260)	420
Matías Romero	Los Tuxtlas	0.1245(0.0255)	188
Palenque	Los Tuxtlas	0.1044(0.0216)	345
Villa Guadalupe	Los Tuxtlas	0.1265(0.0247)	205
Costa de Michoacán	Bucerías	0.1487(0.0229)	363
Copala	Bucerías	0.1210(0.0259)	290
Tepic	Bucerías	0.0884(0.0237)	95
Caoba	Río Lagartos	0.1338(0.0248)	358
Chichén Itzá	Río Lagartos	0.1478(0.0232)	102
Oxtankah	Río Lagartos	0.1397(0.0221)	344
Santiago Astata	Marquelia	0.0530(0.0325)	337
Ventanilla	Marquelia	0.1013(0.0301)	256

- ADN de cloroplasto

Las reacciones de amplificación para los marcadores de ADN de cloroplasto se llevaron a cabo en reacciones de 15 µl, las cuales contenían 1 µl de ADN, 2 µl de buffer, 1.25 µl de MgCl₂ (1.25 mM), 2 µl de dNTP y 1 µl de cada primer (*forward* y *reverse*). La condición de amplificación para *trnH-psbA* fue: 94° C por cinco minutos, 35 ciclos de 94° C por un minuto, 56° C por un minuto y 72° C por 2 minutos, seguidos de una extensión final de 72° C por ocho minutos. Para *rps12-rpl20* se utilizó la misma condición, solo que la temperatura de alineación fue de 53° C. Los productos de PCR se visualizaron en geles de agarosa al 1%. Todas las hebras *forward* y *reverse* fueron mandadas a secuenciar al Laboratorio de

Secuenciación Genómica de la Biodiversidad y de la Salud del Instituto de Biología de la UNAM.

Se realizó la lectura de las secuencias de ADN de las regiones de cloroplasto *psbA-trnH* y *rpl20-rps12* obtenidas para los individuos de las nueve poblaciones colectadas durante este proyecto (5 silvestres y 4 cultivos) con el programa Geneious (<http://www.geneious.com/>) y posteriormente fueron alineadas con el programa MAFFT v7 (Kato y Standley 2013). En total se obtuvieron lecturas para 119 individuos (77 silvestres y 42 cultivados) de la región *psbA-trnH* y para 151 individuos (86 silvestres y 65 cultivados) de la región *rpl20-rps12*. Desgraciadamente algunos individuos no amplificaron de manera efectiva y no pudieron ser leídos. Las lecturas fueron incorporadas con los datos de 19 poblaciones previas (Chávez-Pesqueira y Núñez-Farfán 2016), teniendo en total una base de 410 individuos para la región *psbA-trnH* y 326 individuos para la región *rpl20-rps12*.

Utilizando el programa Arlequin 3.5 (Excoffier y Lischer 2010) se obtuvieron: el número de sitios polimórficos y haplotipos, los estimadores de diversidad genética (diversidad haplotípica y nucleotídica) y las pruebas de neutralidad con los estadísticos D de Tajima (Tajima 1989) y F de Fu (Fu 1997) para evaluar expansiones demográficas ancestrales, para todas las poblaciones y para ambos marcadores.

Dado que la región *rpl20-rps12* mostró poca variación entre individuos, e incluso hubo varias poblaciones sin variación, sólo se reportan los resultados para *psbA-trnH* (Tabla 6). En general las poblaciones silvestres muestran una alta diversidad genética con una media de 0.7304 de diversidad haplotípica, mientras que los cultivos poseen muy baja diversidad con una media de 0.0909 (Tabla 6). En particular, dentro de las poblaciones silvestres, las poblaciones de Costa de Michoacán (Michoacán), Huasteca (San Luis Potosí) y Ventanilla (Oaxaca) mostraron los valores más altos de diversidad con valores arriba de 0.9, mientras que El Cielo (Tamaulipas), Cancún (Quintana Roo) y Dzibichaltún (Yucatán) mostraron los valores más bajos con valores menores a 0.5 (Tabla 6). Las nuevas poblaciones colectadas durante este proyecto mostraron altos valores de diversidad haplotípica, un promedio de 10 haplotipos y 5 sitios polimórficos por población. Además, tres de las cinco poblaciones nuevas mostraron un valor significativo de F de Fu, sugiriendo eventos de expansión demográfica en dichas poblaciones.

Tabla 6. Tamaño poblacional (n), número de haplotipos, sitios polimórficos, diversidad haplotípica (h) \pm SD, diversidad nucleotídica (π) \pm SD, D de Tajima y F de Fu para el marcador *trnH-psbA* marker en 24 poblaciones silvestres de *Carica papaya* en México. Para los valores de D y F , * significa $P < 0.05$.

Población	n	No. de haplotipos	Sitios polimórficos	H	π	D	F
1. Copala	13	6	4	0.8718 ± 0.609	0.0034 ± 0.0024	0.0249	-2.0461
2. Tepic	11	4	3	0.6909 ± 0.1276	0.0031 ± 0.0023	-0.2633	-0.8569
3. Bucerías	25	9	6	0.8500 ± 0.0470	0.0046 \pm 0.0030	1.205	-2.7052*
4. Costa Michoacán	18	12	10	0.9477 ± 0.0333	0.0066 ± 0.0041	0.3097	-6.3526*
5. Tecpan	10	5	3	0.8444 ± 0.0796	0.0030 ± 0.0023	0.7750	-1.6285
6. Marquelia	20	5	17	0.7526 ± 0.0615	0.0091 ± 0.0053	-0.2945	2.8275
7. Ventanilla	15	9	18	0.9048 ± 0.0544	0.0192 ± 0.0106	1.2149	0.3064
8. Santiago Astata	10	3	2	0.5111 ± 0.1643	0.0013 ± 0.0013	-1.1117	-0.5938
9. Matías Romero	12	4	16	0.7121 ± 0.1053	0.0128 ± 0.0075	-0.2247	3.9722
10. Acayucan	17	8	21	0.8382 ± 0.0675	0.0211 ± 0.0115	0.6628	2.1509
11. Villa Guadalupe	14	6	7	0.7912 ± 0.0894	0.0061 ± 0.0039	0.9683	-0.2864
12. Tuxtlas	11	6	7	0.8364 ± 0.0887	0.0052 ± 0.0035	-1.0291	-1.2888
13. Cielo	18	3	13	0.3072 ± 0.1316	0.0062 ± 0.0038	-1.1157	4.0306
14. Huasteca	14	9	13	0.9341 ± 0.0448	0.0152 ± 0.0086	2.2854	-0.6617
15. Tamazunchale	15	4	14	0.7333 ± 0.0669	0.0159 ± 0.0089	2.1334	5.9607
16. Poza Rica	13	4	13	0.7692 ± 0.0724	0.0164 ± 0.0092	2.3307	5.3750
17. Palenque	19	8	18	0.8304 ± 0.0657	0.0113 ± 0.0064	-0.5600	0.4672
18. Mamantel	19	4	5	0.5556 ± 0.1030	0.0047 ± 0.0031	0.3456	1.7388
19. Caobas	15	5	6	0.8095 ± 0.0589	0.0050 ± 0.0033	-0.0290	0.3408
20. Oxtankah	18	5	6	0.7190 ± 0.0910	0.0068 ± 0.0042	1.5282	1.5639

21. Chichén Itzá	10	4	5	0.6444 ±0.1518	0.0031 ±0.0023	-0.8222	-0.3120
22. Dzibilchaltún	16	3	2	0.4250 ±0.1326	0.0012 ±0.0012	-0.3301	-0.2898
23. Río Lagartos	16	6	6	0.8417 ±0.0534	0.0071 ±0.0043	2.0978	0.4179
24. Cancún	19	2	1	0.4094 ±0.1002	0.0009 ±0.0010	0.7937	1.0079
Media		5.6	9	0.7304 ±0.1083	0.0078 ±0.0047	0.4539 ±1.0953	1.0089 ±2.2259
Total	368	69	37				
25. Cultivo 1	11	2	1	0.1818 ±0.1436	0.0004 ±0.0006	-1.1285	-0.4098
26. Cultivo 2	11	2	1	0.1818 ±0.1436	0.0004 ±0.0006	-1.1285	-0.4098
27. Cultivo 3	15	1	0	0.0000 ±0.0000	0.0000 ±0.0000	0.0000	0.0000
28. Cultivo 4	5	1	0	0.0000 ±0.0000	0.0000 ±0.0000	0.0000	0.0000
Media		1.5	0.5	0.0909 ±0.0718	0.0002 ±0.0003	-0.5642 ±0.6515	-0.2049 ±0.2365
Total	42	2	2				

Las relaciones genealógicas entre haplotipos se obtuvieron usando parsimonia estadística con el programa TCS 1.2.1. (Clement et al. 2000). Los “gaps” en las secuencias generados por inserciones y deleciones se contaron como un quinto estado. La red de haplotipos generada muestra la distribución y frecuencia de los 69 haplotipos para las 28 poblaciones (incluyendo a los cultivos) (Fig. 7). Se observa que los haplotipos más frecuentes (H1, H2 y H3) se encuentran en 18, 14 y 11 poblaciones respectivamente, y están distribuidos por toda la distribución de la especie. Este resultado sugiere que el movimiento entre poblaciones por semilla fue importante para la conectividad genética de la especie en tiempos ancestrales. Sin embargo, también se observa cierta estructuración, donde las poblaciones de las diferentes regiones (Pacífico, Sur, Golfo y Península de Yucatán) muestran ciertos haplotipos que no son compartidos en otras zonas. Además se encontraron 29 haplotipos privados, siendo las poblaciones de Costa de Michoacán, Huasteca y Los Tuxtlas las que presentan el mayor número. En cuanto a los cultivos, se observa que presentan casi en su totalidad el haplotipo H1, sin embargo 2 cultivos muestran además el haplotipo H21 (Cultivo 2) y H46 (Cultivo 1). Este resultado va acorde con la casi nula variación genética

encontrada para los cultivos y vemos que aunque los cultivos se colectaron en diferentes estados de México (Colima, Jalisco y Guerrero), muestran el mismo haplotipo.

Evaluando el análisis de estructura genética espacial con el programa SAMOVA (Dupanloup et al. 2002) y probando todas las K (número de grupos) posibles, se encontró que no hay evidencia de estructura filogeográfica ya que en todas las agrupaciones siempre hubo algún grupo con una sola población. Para corroborar la falta de estructura se corrió el programa PERMUT (Pons y Petit 1996) que permite estimar diferencias entre el número de de pasos mutacionales entre haplotipos (N_{ST}) y la frecuencia de haplotipos (G_{ST}). Utilizando 1000 permutaciones encontramos que el valor de N_{ST} (0.452, e.e. 0.067) fue significativamente mayor a G_{ST} (0.226, e.e. 0.033) lo que indica que haplotipos relacionados se observan con mayor frecuencia en un área geográfica que lo que se esperaría por azar. Este resultado indica que sí existe evidencia de cierta estructuración en las poblaciones. Cabe señalar que en el estudio de Chávez-Pesqueira et al. (2016) utilizando solo 19 poblaciones silvestres de papaya, no se encontró este resultado, por lo que se sugiere que las nuevas poblaciones colectadas y añadidas en este proyecto, muestran mayor estructuración que las poblaciones del resto de México, y esto podría estar dado por su alejada posición geográfica. Esto va de acorde con la evidencia de expansión demográfica de algunas de las poblaciones nuevas.

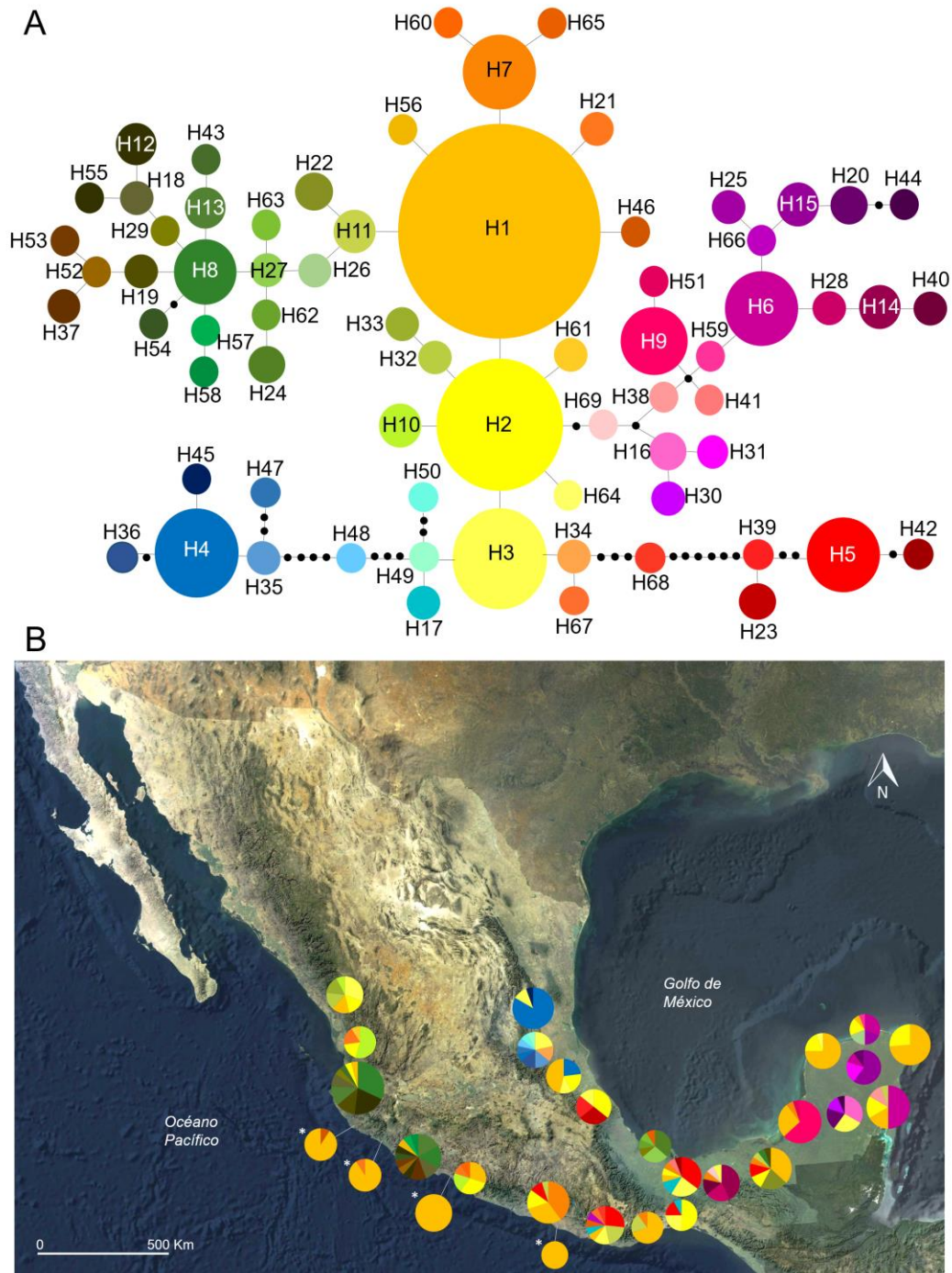


Figura 7. (A) Red de haplotipos para la región de cloroplasto *psbA-trnH* de *Carica papaya* en su distribución en México. El tamaño de los círculos es proporcional a la frecuencia de cada haplotipo. Los puntos negros representan haplotipos no muestreados. (B) Distribución geográfica de 69 haplotipos para 24 poblaciones silvestres y 4 cultivados de *C. papaya* en México. Los cultivados se muestran con un asterisco. Los diagramas de pastel representan los haplotipos presentes en cada localidad. El área del gráfico representa el tamaño de la población y el tamaño de las secciones es proporcional a la frecuencia del haplotipo.

Discusión general

Carica papaya es una especie de gran importancia ecológica, económica y cultural para México. A pesar de esto, existía muy poca información sobre el estado de las poblaciones silvestres de la especie en nuestro país. La información recabada en este proyecto resulta de gran importancia para conocer la distribución puntual de la especie en su forma silvestre, así como el estado de su diversidad genética e historia evolutiva. Se espera que dicha información resulte de ayuda para la adecuada conservación de la especie a largo plazo.

Durante las visitas a herbarios nacionales e internacionales se encontró que existe un gran número de ejemplares de la especie *Carica papaya*. De los individuos validados como silvestres se encontró que la mayoría se encuentran distribuidos en México y solamente un pequeño porcentaje en América Central y el Caribe. Resulta relevante que en los registros revisados no se encontraron ejemplares de los estados de Sinaloa, Nayarit o Michoacán, por lo que los individuos localizados y colectados en este proyecto en el occidente de México resultan de gran importancia para validar esa zona como parte de la distribución natural de *C. papaya*. Durante las validaciones en campo, se encontró que el límite norteño en la parte occidental de México se encuentra en el sur del estado de Sinaloa, ya que no se lograron identificar poblaciones naturales más al norte, ni en la península de Baja California. El mapa de distribución generado en este proyecto es el primero para la especie contemplando sólo a la variedad silvestre, y permite tener un conocimiento sólido respecto a la distribución puntual de la especie en su forma silvestre. Con los datos recabados durante este proyecto, se observa que la papaya silvestre se distribuye en su mayoría dentro del territorio mexicano, sugiriendo al país como centro de diversidad de los parientes silvestres, así como posiblemente un origen filogenético y de domesticación dentro de México para la especie (Acevedo et al. 2016).

Integrando los datos colectados durante este proyecto y colectas previas en México (Chávez-Pesqueira y Núñez-Farfán 2016) se obtuvo un total de 447 individuos de *Carica papaya* de 24 poblaciones que cubren la distribución natural en México de la especie en su forma silvestre según el mapa de distribución puntual obtenido. Aunado a esto, se

obtuvieron colectas de 4 cultivos de papaya Maradol de diferentes regiones del Pacífico Sur de México, con un total de 64 individuos. Además, de las poblaciones silvestres, se colectó un total de 22 ejemplares de individuos que fueron donados al Herbario XAL en Veracruz para su resguardo y colección. Estos ejemplares resultan de gran importancia ya que por primera vez se tienen ejemplares de papaya silvestre de la zona occidental de México. Además, todos los individuos que se donaron al herbario fueron etiquetados como silvestres, lo que ayudará en la distinción entre plantas silvestres y cultivadas.

Los análisis genéticos utilizando microsatélites de ADN muestran niveles de variación genética en las poblaciones silvestres de *C. papaya* relativamente altos y en general bajos valores de endogamia. En contraste, los cultivos de papaya Maradol muestran niveles de variación genética cercanos a cero, lo que indica un cuello de botella derivado del proceso de domesticación, así como poca capacidad de estas plantas para adaptarse a posibles cambios en su entorno (por ejemplo, plagas o cambios climáticos).

Se detectó que las zonas con mayor diversidad genética de las poblaciones silvestres se encuentran en la zona del Istmo de Tehuantepec (poblaciones: Acayucan, Matías Romero y Villa Guadalupe), en la zona de la Huasteca baja (poblaciones: Tamazunchale y Poza Rica) y en la zona sur de la Península de Yucatán (poblaciones: Mamantel, Caobas y Oxtankah) (Tabla 4). Las poblaciones silvestres con menor diversidad genética son Costa de Michoacán, Tepic y Santiago Astata. Las dos últimas son las poblaciones con menor número de individuos lo que podría sugerir cruza entre parientes cercanos y baja diversidad. Para la población Santiago Astata se registró un valor alto de endogamia (Tabla 4). Para el caso de la población Costa de Michoacán, quizá el aislamiento y distanciamiento de otras poblaciones silvestres pueden ser la razón de su baja diversidad, ya que no se observaron otras poblaciones silvestres por muchos kilómetros en dicha zona.

En cuanto a la estructura genética, se encontró que las poblaciones pueden agruparse en 4 grupos genéticos, donde las cuatro poblaciones cultivadas pertenecen a un mismo grupo. También se encontró que, aunque no se detectó flujo de genes de poblaciones silvestres hacia los cultivos, sí se sugiere movimiento de genes de los cultivos hacia las poblaciones silvestres, lo cual resulta preocupante ya que esto puede reducir la diversidad genética de las poblaciones silvestres a largo plazo. Por otro lado, las altas tasas de migración

encontradas, sugieren que el polen puede trasladarse a distancias tan grandes como 400 kilómetros. Se encontró que las zonas montañosas de México son las principales barreras al flujo génico para esta especie y que el movimiento de genes se da principalmente por zonas bajas, ya sea por zonas costeras o por las partes bajas de las sierras. Este resultado es relevante para la conservación de la diversidad en escenarios donde se pretenda liberar al ambiente organismos genéticamente modificados de la especie, así como continuar sembrado grandes extensiones de papaya domesticada, ambos con tan alta probabilidad de flujo génico a larga distancia pueden reducir la adecuación de la especie en escenarios adversos, modificar las interacciones en el ecosistema, además de disminuir el valor potencial de la agrobiodiversidad.

Finalmente, los datos obtenidos con los marcadores de ADN de cloroplasto, los cuales nos permiten evaluar la estructura genética de tiempos más antiguos (ya que presentan una menor tasa de mutación y son heredados solo vía semilla), nos permitieron dilucidar sobre la historia evolutiva de la especie. Se encontró que en general las poblaciones mostraron alta diversidad genética, como la observada en tiempos más recientes con los marcadores de microsatélites, y que probablemente el flujo de genes vía semilla era importante para mantener la conectividad genética de las poblaciones de papaya silvestre antiguamente. Sin embargo, se encuentran algunas diferencias a nivel poblacional. Por ejemplo, la población de Costa de Michoacán mostró muy baja diversidad con los microsatélites, pero muy alta con el marcador de cloroplasto. Esto podría sugerir que antiguamente la población tenía bastante conectividad genética con otras poblaciones de la región, pero que en tiempo más recientes la conectividad se ha perdido por lo que la población muestra una variación reducida. Para el caso de los cultivos de papaya Maradol, se encontró casi nula variación, acorde con los marcadores nucleares, sugiriendo efectos de un cuello de botella por la domesticación de la especie o efectos del mejoramiento. Esto abre nuevas interrogantes sobre el estado de diversidad genética de otros cultivos de la variedad Maradol alrededor del país, así como de las demás variedades cultivadas en México, lo cual debería investigarse para conocer los centros de diversidad genética de los cultivos (Acevedo et al. 2016)

En cuanto a la estructura genética, se encontró cierta evidencia de estructuración, pero sólo al integrar las poblaciones colectadas durante este proyecto, sugiriendo que probablemente estas poblaciones del occidente de México tenían menor contacto con poblaciones fuera de la región. Sin embargo, la red de haplotipos a nivel nacional muestra que los haplotipos más frecuentes se encuentran presentes en casi toda la distribución de la especie. Esto nos sugiere nuevamente que el movimiento de genes por semilla era importante manteniendo la conectividad, y que seguramente el hábitat natural de la especie (las selvas tropicales) se encontraba continuo facilitando dicho flujo.

Juntando los resultados de ambos marcadores moleculares, vemos que en general existe una alta diversidad genética a lo largo de su distribución en México, sugiriendo un posible centro de origen filogenético y de diversidad de parientes silvestres en nuestro país. También encontramos señales de poca estructuración genética en tiempos antiguos, pero que recientemente esta estructuración ha ido en aumento. Esto seguramente se debe al efecto de las actividades humanas en el hábitat natural de la especie, principalmente a la destrucción y fragmentación de las selvas tropicales en México. La amenaza de una mayor presión sobre los recursos y hábitats naturales del país en el futuro, representan un escenario preocupante para el mantenimiento de las variedades nativas y parientes silvestres de especies con importancia cultural y económica. Para el caso de *C. papaya*, la información derivada de este proyecto es importante la conservación de la especie en su estado silvestre.

Perspectivas

Con los resultados obtenidos de este proyecto, surgen nuevas preocupaciones e intereses para continuar realizando estudios con poblaciones silvestres, variedades nativas y mejoradas de papaya. En particular, consideramos que aún falta recabar datos para la determinación de los centros de origen, diversidad y domesticación de la papaya. Asimismo, creemos que hay muchas más preguntas que resolver en cuanto a su manejo y conservación.

Determinación de centro de origen y diversidad

Para lograr una determinación más precisa sobre el centro de origen filogenético y de diversidad genética de los parientes silvestres de *Carica papaya*, se necesitará coleccionar muestras de papaya silvestre que abarquen toda la distribución descrita de la especie obtenida en este proyecto. Particularmente, faltarían las muestras de Centroamérica y algunas zonas de México que no se tienen muestreadas como el sur de Chiapas y la frontera entre Puebla y Veracruz. Asimismo, falta información interdisciplinaria que ayude a conocer los posibles centros de domesticación y diversidad de las diferentes variedades nativas de nuestro país, tanto en el pasado como en el presente.

Manejo y conservación

Partiendo del interés por ingresar una variedad de papaya transgénica para combatir los efectos de virus de la mancha anular en cultivos de papaya, y contando con colectas de ADN de las poblaciones naturales de papaya de todo México, se podrá monitorear la presencia de marcadores transgénicos de papaya en nuestro país, y sus posibles consecuencias ecológicas y evolutivas.

Por otro lado, surge el interés de desarrollar marcadores con mayor cobertura del genoma (polimorfismos de nucleótido simple: SNPs). Estos marcadores nos permitirán localizar zonas del genoma asociadas a caracteres adaptativos tanto en plantas silvestres como cultivadas para poder entender el proceso evolutivo de domesticación en esta especie. También se podrán realizar análisis más finos de flujo génico y las posibles consecuencias de éste entre plantas silvestres y cultivadas. Además, resulta de mucha importancia conocer a los interactuantes bióticos de la especie (polinizadores, dispersores, plagas, etc.) para entender los patrones de flujo génico, tanto entre poblaciones silvestres, como entre plantas silvestres y domesticadas, y entender cómo se transmiten las enfermedades en la especie y si afectan de igual manera a las poblaciones silvestres, variedades nativas y mejoradas. Por otro lado, caracterizar morfológica y morfométricamente a estos grupos, nos permitirá conocer más sobre los procesos y síndromes de domesticación encontrados en la especie.

Finalmente, surge la necesidad de hacer los análisis para incluir el estado de conservación de la especie a la lista roja de especies amenazadas de la Unión Internacional

para la Conservación de la Naturaleza (UICN), así como, la manifestación ecológica del riesgo para la Norma Oficial Mexicana NOM 059.

Conclusiones

Los resultados obtenidos en este proyecto permiten tener un mejor conocimiento de la distribución, ecología, y diversidad genética de la papaya silvestre, así como, datos sólidos para el manejo y conservación de esta especie de gran importancia económica y cultural para México.

*Distribución de *Carica papaya silvestre**

- Se localizaron y colectaron nuevas poblaciones de papaya silvestre en la región occidental de México donde no se tenían registros previos de la especie.
- Se realizó un mapa de distribución puntual utilizando datos de colectas previas y del presente proyecto, así como de las revisiones de herbarios. La papaya silvestre se distribuye en zonas tropicales y subtropicales desde el sur de Sinaloa en la parte occidental de México y la zona de la Reserva de la Biósfera el Cielo en Tamaulipas, en la zona oriental de México, y hasta el sur de Nicaragua en Centroamérica.
- Con los resultados de este proyecto se observa que la mayoría de individuos de *C. papaya* silvestre se encuentran distribuidos en México, lo cual sugiere a este país como el probable centro de origen y mayor zona de distribución de la especie.

Diversidad genética

- Utilizando dos tipos de marcadores moleculares, se encontró que la diversidad genética de las poblaciones de *C. papaya* silvestres es relativamente alta y no hay evidencia de altos niveles de endogamia. Sin embargo, las poblaciones cultivadas presentan una variación genética considerablemente baja, presentando valores cercanos a cero.
- Con marcadores moleculares (microsatélites) se detectó que la variación genética de las poblaciones colectadas se puede agrupar en cuatro grupos genéticos que incluyen

a poblaciones del Pacífico, de la región sur (Tehuantepec y Golfo de México), de la Península de Yucatán y un el último grupo con las poblaciones cultivadas.

- Se encontró evidencia de flujo génico de cultivos hacia poblaciones silvestres, pero no de poblaciones silvestres a cultivos.
- Se detectaron barreras geográficas para el flujo de genes de la papaya silvestre que coinciden en su mayoría con sierras montañosas de México.
- Evaluando tasas de migración recientes se sugieren eventos de dispersión a grandes distancias entre poblaciones de papaya silvestre (hasta 400 km).
- Con los marcadores de cloroplasto, se encontró poca evidencia de estructuración genética, sugiriendo que las poblaciones de papaya silvestre en tiempos antiguos mantenían una mayor conectividad y que las actividades humanas han provocado que en tiempos recientes las poblaciones muestren mayor estructura y menor contacto genético.

Agradecimientos

Agradecemos a Maried Zavala, Lourdes Martínez, Jesús Torres, Pedro Sánchez, Víctor Rosas y Santiago Rosas por su ayuda en el trabajo de campo. Asimismo, agradecemos a Santiago Rosas y Patricia Chávez por su ayuda en la visita a herbarios y a Rosalinda Tapia y Pilar Suárez-Montes por su ayuda en el trabajo de laboratorio.

Productos no comprometidos

- Durante el 2017 los resultados obtenidos en este proyecto serán presentados en un congreso internacional (Association of Tropical Biology and Conservation 2017) y uno nacional (VI Congreso de la Sociedad Científica Mexicana de Ecología 2017) con agradecimiento a CONABIO.
- Se agradeció al proyecto en el artículo “Genetic diversity and structure of wild populations of *Carica papaya* in Northern Mesoamerica inferred by nuclear microsatellites and chloroplast markers” publicado por M. Chávez-Pesqueira y J. Núñez-Farfán en la revista *Annals of Botany* en octubre de 2016 (documento suplementario 7). También se incluirá agradecimiento al proyecto en los siguientes artículos derivados de este proyecto.
- Se agradecerá al proyecto en la tesis de Maestría del Posgrado en Ciencias Biológicas de la UNAM del alumno de la Dra. Ana Wegier, Santiago Rosas Plaza.

Guía de documentos suplementarios

Documento suplementario 1: Carpeta con las fotografías de todos los ejemplares de *Carica papaya* presentes en los herbarios nacionales e internacionales visitados. Se encuentran separados por los ejemplares que tienen y no registros en la base del SNIB proporcionada por CONABIO. También incluye una carpeta con las fotografías de papayas silvestres observadas durante las salidas al campo del proyecto y la guía con su descripción.

Documento suplementario 2: Base de datos con los registros de *Carica papaya* del Sistema Nacional de Información sobre Biodiversidad (SNIB).

Documento suplementario 3: Tabla que muestra la ubicación y referencias geográficas de individuos o poblaciones de *Carica papaya* silvestre utilizados para el mapa de distribución potencial.

Documento suplementario 4: Comprobante del depósito de 22 ejemplares de *Carica papaya* en el herbario del Instituto de Ecología A. C. de Xalapa.

Documento suplementario 5: Base de datos de los registros colectados y observados de *Carica papaya* en su forma silvestre.

Documento suplementario 6: Contiene los archivos *shape* y *raster* de las distribuciones (potencial y puntual) y los metadatos.

Documento suplementario 7: Artículo publicado con agradecimiento al proyecto.

Literatura citada

- Acevedo F, Huerta E, Burgeff C. 2016. Biosafety and environmental releases of GM crops in Mesoamerica: context does matter. In: Lira R, Casas A, Blancas J, editors. Ethnobotany of Mexico: interactions of people and plants in Mesoamerica. New York: Springer.
- Aguilar, R., Quesada, M., Ashworth, L., Herrerias-Diego, Y. y Lobo, J. 2008. Genetic consequences of habitat fragmentation in plant populations: susceptible signals in plant traits and methodological approaches. *Molecular Ecology* 17: 5177-5188.
- Aradhya, M. K., Manshardt, R. A., Zee, F. y Morden, C. W. 1999. A phylogenetic analysis of the genus *Carica* L. (Caricaceae) based on restriction fragment length variation in a cpDNA intergenic spacer region. *Genetic Resources and Crop Evolution* 46: 579-586.
- Badillo, V. M. 1971. Monografía de la familia Caricaceae. Universidad de la Facultad de Agronomía de la Universidad Central de Venezuela, Maracay.
- Badillo, V. M. 2000. *Carica* L. vs *Vasconcella* St. Hil. (Caricaceae): con la rehabilitación de este último. *Ernstia* 10:74–79.
- Badillo, V. M. 1993. Segundo esquema de las Caricáceas. *Revista de la Facultad de Agronomía de la Universidad Central de Venezuela*, Alcance 43, Maracay
- Brown, J. E., Bauman, J. M., Lawries, J. F., Rocha, O. J. y Moore, R. C. 2012. The structure, morphological and genetic diversity in natural populations of *Carica papaya* (Caricaceae) in Costa Rica. *Biotropica* 43: 1-10.
- Cabrera-Ponce, J. L., Vegas-García, A., Herrera-Estrella, L. 1995. Herbicide resistant transgenic papaya plants produced by an efficient particle bombardment transformation method. *Plant Cell Reports* 15: 1-7.
- Carvalho, F.A., Renner, S.S. 2012. A dated phylogeny of the papaya family (Caricaceae) reveals the crop's closest relatives and the family's biogeographic history. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 65: 46-53.

- Challenger, A. 1998. Utilización y conservación de los ecosistemas terrestres de México: pasado, presente y futuro. Comisión Nacional para el Uso y Conocimiento de la Biodiversidad / Instituto de Biología, UNAM y Agrupación Sierra Madre, S.C., México, D.F. 847 páginas.
- Chávez-Pesqueira, M. y Núñez-Farfán, J. Genetic diversity and structure of wild populations of *Carica papaya* in northern Mesoamerica inferred by nuclear microsatellites and chloroplast markers. 2016. *Annals of Botany* 118: 1293-1306
- Chávez-Pesqueira, M., Suárez-Montes, P., Castillo, G. y Núñez-Farfán, J. 2014. Habitat fragmentation threatens wild populations of *Carica papaya* (Caricaceae) in a lowland rainforest. *American Journal of Botany* 101:1092-1101.
- Clement, M., Posada, D. C. K. A., y Crandall, K. A. 2000. TCS: a computer program to estimate gene genealogies. *Molecular Ecology* 9: 1657-1659.
- Colunga-García Marín, P. y Zizumbo-Villareal, D. 2004. Domestication of plants in Maya Lowlands. *Economic Botany* 58: S101-S110.
- de la Fuente, J. M., Ramírez-Rodríguez, V., Cabrera-Ponce, J. L. y Herrera-Estrella, L. 1997. Aluminum tolerance in transgenic plants by alteration of citrate synthesis. *Science* 276: 1566-1568
- Didham, R. K., Ghazoul, J., Store, N., Davis, A.J. 1996. Insects in fragmented forests: a functional approach. *Trends in Ecology and Evolution* 11: 255-260.
- Dieringer, D. y Schlötterer, C. 2003. Microsatellite analyser (MSA): a platform independent analysis tool for large microsatellite data sets. *Molecular Ecology Notes* 3: 167-169
- Doyle, J. y Doyle, J. 1987. A rapid DNA isolation procedure from small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin* 19: 11-15.
- Dupanloup, I., Schneider, S., y Excoffier, L. 2002. A simulated annealing approach to define the genetic structure of populations. *Molecular Ecology* 11: 2571-2581.
- Ellstrand, N. C. 2003. Current knowledge of gene flow in plants: implications for transgene flow. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London* 358: 1163-1170.
- Evanno, G., Regnaut, S., y Goudet, J. 2005. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Molecular Ecology* 14: 2611-2620.
- Excoffier, L. and H.E. L. Lischer (2010) Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources*. 10: 564-567.
- Excoffier, L., Smouse, P. E., y Quattro, J. M. 1992. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics* 131: 479-491.
- Fu, Y. X. 1997. Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection. *Genetics* 147: 915-925.

- Fuentes G., Santamaría J.M. 2014. Chapter 1: Papaya (*Carica papaya* L.): Origin, domestication, and production. *Genetics and Genomics of Papaya*. Plant Genetics and Genomics: Crops Models Springer. 10:3-15.
- Gepts, P. y Papa, R. 2003. Possible effects of (trans)gene flow from crops on the genetic diversity from landraces and wild relatives. *Environmental Biosafety Research* 2: 89-103.
- Guillot, G., Santos, F., y Estoup, A. 2008. Analysing georeferenced population genetics data with Geneland: a new algorithm to deal with null alleles and a friendly graphical user interface. *Bioinformatics* 24: 1406-1407.
- Guzmán-González, S., Valadez-Ramírez, P., Robles-Berber. R. E., Silva-Rosales, L., Cabrera-Ponce, J. L. 2006. Biolistic genetic transformation of *Carica papaya* L. using the Helios (TM) Gene Gun. *Hortscience* 41: 1053-1053
- Harlan, J. R. 1971 Agricultural Origins: Centers and Noncenters. *Science* 174: 468-474.
- Hijmans, R. J., Cameron, S. y Parra, J. 2005. Worldclim. University of California, Berkeley, CA. <http://biogeo.berkeley.edu/worldclim/worldclim.htm>.
- Janick, J. (2007) Fruits of the bible. *HortScience* 42:1072–1076.
- Katoh, K. y Standley, D. M. 2013. MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability. *Molecular Biology and Evolution* 30: 772-780.
- Kim, M. S., Moore, P. H., Zee, F., Fitch, M. M. M., Steiger, D. L., Manshardt, R. M., Paull, R. E., Drew, R. A., Sekioka, T. y Ming R. 2002. Genetic diversity of *Carica papaya* as revealed by AFLP markers. *Genome* 45: 503-512-
- Manni, F., Guerard, E., y Heyer, E. 2004. Geographic patterns of (genetic, morphologic, linguistic) variation: how barriers can be detected by using Monmonier's algorithm. *Human biology* 76: 173-190.
- Manshardt, R.M. y Zee, F. 1994. Papaya germplasm and breeding in Hawaii. *Fruit Variety J* 48:146–152
- Martínez-Ramos M. 1985. Claros, ciclos vitales de los árboles tropicales y la regeneración natural de las selvas altas perennifolias. En: Gómez-Pompa A. y del Amo S. Eds. *Investigaciones sobre la Regeneración de las Selvas Altas en Veracruz, México*, pp: 191 – 239. Editorial Alhambra , México , D. F.
- Miller, R. R. 1989. Mexico: a history. University of Oklahoma Press. Pág. 7.
- Ming, R. y Moore, P. H. *Genetics and Genomics of Papaya*. Springer, New York.
- Ming, R., Yu, Q. y Moore, P. H. 2012. Papaya genome and genomics. In: *Genomics of tree crops*. Eds. R. J. Schnell y P. M. Priyadarshan. Pp 241-260.
- Molina, J. C. y Córdova, L. 2006. Recursos fitogenéticos de México para la alimentación y la agricultura: informe nacional 2006. Chapingo, México: Secretaria de Agricultura,

- Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación y Sociedad Mexicana de Fitogenética, A. C.
- Niklas, K. J. y Marler, T. E. 2007. *Carica papaya* (Caricaceae): a case study into the effects of domestication on plant vegetative growth and reproduction.
- Núñez-Farfán, J. & Dirzo, R. 1988. Within-gap spatial heterogeneity and seedling performance in a Mexican tropical forest. *Oikos* 51: 274-284.
- Ocampo, J, Dambier, D., Ollitrault, P., D'Eeckenbrugge, G. C., Brottier, P., Froelicher, Y., & Risterucci, A. 2006. Microsatellite markers in *Carica papaya* L.: isolation, characterization and transferability to *Vasconcellea* species. *Molecular Ecology Notes* 6: 212-217.
- OGTR [Office of Gene Technology Regulator]. 2003. The Biology and Ecology of Papaya (paw paw), *Carica papaya* L., in Australia. Office of the Gene Technology Regulator, Government of Australia.
- OGTR [Office of Gene Technology Regulator]. 2008. The biology and ecology of *Carica papaya* L. (papaya, pawpaw, paw paw) in Australia. Office of Gene Technology Regulator, Canberra, Australia. Website: [http://www.ogtr.gov.au/internet/ogtr/publishing.nsf/content/papaya-3/\\$FILE/biologypapaya08.pdf](http://www.ogtr.gov.au/internet/ogtr/publishing.nsf/content/papaya-3/$FILE/biologypapaya08.pdf) [accessed 10 January 2012].
- Paetkau, D., Slade, R., Burden, M., y Estoup, A. 2004. Genetic assignment methods for the direct, real - time estimation of migration rate: a simulation - based exploration of accuracy and power. *Molecular Ecology* 13: 55-65.
- Paz, H. y Vázquez-Yanes, C. 1998. Comparative seed ecophysiology of wild and cultivated *Carica papaya* trees from a tropical rain forest region in Mexico. *Tree Physiology* 18: 277-280.
- Peakall, R., & Smouse, P. E. 2012. GenAlEx Tutorials-Part 2: Genetic distance and analysis of molecular variance (AMOVA).
- Phillips, S. J., Anderson, R. P. y Schapire, R. E. 2006. Maximum entropy modelling of species geographic distributions. *Ecological Modelling* 190: 231-259.
- Piry, S., Alapetite, A., Cornuet, J. M., Paetkau, D., Baudouin, L., & Estoup, A. 2004. GENECLASS2: a software for genetic assignment and first-generation migrant detection. *Journal of Heredity* 95: 536-539.
- Pons, O., y Petit, R. J. 1996. Measuring and testing genetic differentiation with ordered versus unordered alleles. *Genetics* 144: 1237-1245.
- Pritchard, J. K., Stephens, M., y Donnelly, P. 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155: 945-959.
- Rodríguez Rivera, A., Rodríguez Nodals, A., Ricardo Corrales, S. 1966. La Frutabomba Maradol, 1ra. Conferencia Nacional de Fruticultores (Ponencia), Habana, Cuba.
- SAGARPA.2009.
http://www.sagarpa.gob.mx/agronegocios/Documents/Estudios_promercado/PAPAYA2009.pdf. Consultado por última vez: 2 de noviembre de 2014.
- Saunders, D. A., Hobbs, R. J. y Margules, C. R. 1991. Biological consequences of ecosystem fragmentation: a review. *Conservation Biology* 5: 18-32.

- Silva-Rosales, L. y González de León, D. 2005. Presente y futuro de la resistencia al virus de la mancha anular de la papaya (PRSV) en México. En: Revista Claridades Agropecuarias. No. 67. Edit. SAGARPA, ASERCA, págs. 37-46.
- Silva-Rosales, L., González de León, D., Guzmán-González, S. y Chauvet, M. 2010. Why there is no transgenic papaya in Mexico. *Transgenic Plant Journal* 4: 45-51.
- Stiles, J. I., Lemme, C., Sondur, S. Morshidi, M. B., Manshardt, R. 1993. Using randomly amplified polymorphic DNA for evaluating genetic relationships among papaya cultivars. *Theoretical and Applied Genetics* 85: 697-701.
- Storey, W. B. 1976. Papaya – *Carica papaya* (Caricaceae). En: Simmonds, N. W. (ed.) *Evolution of crop plants*. Longman, London, págs. 21-24.
- Storey, W.B. 1986. *Carica papaya*. In *CRC Handbook of Flowering*, ed. A.H.Halvey, Vol. 2, Boca Raton, Florida: CRC Press Inc.
- Tajima, F. 1989. The effect of change in population size on DNA polymorphism. *Genetics* 123: 597-601.
- Trakhtenbrot, A., Nathan, R., Perry, G. y Richardson, D. M. 2005. The importance of long-distance dispersal in biodiversity conservation. *Diversity and Distributions* 11: 173-181.
- Van Droogenbroeck B.V., Breyne P., Goetghebeur P., Romeijn-Peeters E., Kyndt T., Gheysen G. 2002. AFLP analysis of genetic relationships among papaya and its wild relatives (Caricaceae) from Ecuador. *Theor. Appl. Genet.*, 105: 289–297
- Van Oosterhout, C., Hutchinson, W. F., Wills, D. P., y Shipley, P. 2004. MICRO - CHECKER: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Molecular Ecology Notes* 4: 535-538.
- Van Buren R, Ming R. 2013 Chloroplast DNA accumulation in the recently evolved Y chromosome of *Carica papaya*. *Molecular Genetics and Genomics* 288, 277-284.
- VanBuren R, Zeng F, Chen C, Zhang J, Wai CM, Han J, Aryal R, Gschwend AR, Wang J, Na JK, Huang L, Zhang L, Miao W, Gou J, Arro J, Guyot R, Moore RC, Wang M, Zee F, Charlesworth D, Moore PH, Yu Q, Ming R. 2015 Domestication of Yh chromosome in papaya. *Genome Research* 25: 524-533.
- Vavilov N. I. 1987. *Origin and geography of cultivated plants* [English Translation by D Löve]. Cambridge University Press, Cambridge
- Vavilov, N. I. 1926. The centres of origin of cultivated plants. *Bull Appl Bot Genet Plant Breed* 16: 1-248.
- Vega-Frutis, R. y Guevara, R. 2009. Different arbuscular mycorrhizal interactions in male and female plants of wild *Carica papaya* L. *Plant and Soil* 322: 165-176.
- Wang, J., Na, J-K., Yu, Q., Gschwend, A.R., Han, J., Zeng, F., Aryal, R., VanBuren, R., Murray, J.E., Zhang, W., Navajas-Pérez, R., et al. 2012. Sequencing papaya X and Y^h chromosomes reveals molecular basis of incipient sex chromosome evolution. *PNAS*. 109: 13710-13715

Wilson, G. A., y Rannala, B. 2003. Bayesian inference of recent migration rates using multilocus genotypes. *Genetics* 163: 1177-1191.