

## Diversidad genética del cedro rojo (*Cedrela odorata*) en el estado de Tabasco, México

Genetic diversity of the red cedar (*Cedrela odorata*) in the state of Tabasco, México

**Julia Ma. Lesher-Gordillo <sup>a</sup>, José Luis Martínez-Sánchez <sup>b\*</sup>,  
Patricia Orduña-Rodas <sup>a</sup>, Ana Isabel Hernández-Carreta <sup>a</sup>**

<sup>a</sup>Universidad Juárez Autónoma de Tabasco (UJAT), División Académica de Ciencias Biológicas, Laboratorio de Genética, Carretera Villahermosa-Cárdenas Km 0,5 s/n, Entronque Bosques de Saloya, CP 86150, Villahermosa, Tabasco, México, tel. (993) 3581500 ext. 6466.

\*Autor de Correspondencia: <sup>b</sup>Universidad Juárez Autónoma de Tabasco (UJAT), División Académica de Ciencias Biológicas, Departamento de Ecología de Comunidades Vegetales, Tabasco, México, jose.martinez@ujat.mx

### SUMMARY

The red cedar (*Cedrela odorata*) is a valuable timber species. It is currently listed as a protected species, as well as on the IUCN red list due to the decline of its wild populations mainly due to habitat fragmentation and deforestation. The aim of the present study was to estimate the structure and genetic diversity of red cedar populations in the state of Tabasco, Mexico. Sixty eight samples of *C. odorata* from the states of Tabasco and Chiapas were analyzed. The DNA was extracted with the CTAB method (cetyl trimethyl ammonium bromide). DNA amplification was performed using 10 microsatellite loci (SSRs), nine of them previously reported as polymorphic for the species and one designed (AB0507) with the program Primer 3. For the analysis of the resulting data, NTsys, GenAlex and Cervus pc programs were used. Genetic differentiation was high ( $F_{st} = 0.419$ ) and genetic diversity was low ( $H_o = 0.297$ ). Compared with other studies, it showed less genetic diversity of the species, indicating superior genetic erosion, presently. With this study, it is possible to suggest more suitable populations for the extraction of germplasm and, thus, counteract the loss of genetic diversity of this species in the region.

*Key words:* genetic variability, inbreeding, gene flow, meliaceae, humid tropics.

### RESUMEN

El cedro rojo (*Cedrela odorata*) es una especie maderable de gran valor. Actualmente está catalogada como especie protegida, así como en la lista roja de la UICN debido a la disminución de sus poblaciones silvestres principalmente por la fragmentación del hábitat y deforestación. El objetivo del presente estudio fue conocer la estructura y diversidad genética del cedro rojo en el estado de Tabasco, México. Se analizaron 68 muestras de *C. odorata* provenientes de los estados de Tabasco y Chiapas. El ADN fue extraído con el método CTAB (*cetyl trimethyl ammonium bromide*). La amplificación del ADN se realizó utilizando 10 loci microsatélites (SSRs), nueve de ellos previamente reportados como polimórficos para la especie y uno diseñado (AB0507) con el programa Primer 3. Para los análisis de los datos obtenidos se utilizaron los programas NTsys pc, GenAlex y Cervus. La diferenciación genética fue alta ( $F_{st} = 0,419$ ), y la diversidad genética baja ( $H_o = 0,297$ ). En comparación con otros estudios, este mostró menor diversidad genética de la especie, lo que indica una mayor erosión genética en la actualidad. Con este estudio se pueden sugerir poblaciones más aptas para la obtención de germoplasma y así contrarrestar la pérdida de diversidad genética de esta especie en la región.

*Palabras clave:* variabilidad genética, endogamia, flujo génico, meliácea, trópico húmedo.

### INTRODUCCIÓN

La diversidad genética y el flujo génico en las poblaciones de árboles silvestres se ha visto alterada por distintos factores, entre los que destacan la deforestación, la fragmentación del hábitat y el aislamiento, ocasionados en mayor medida por actividades antropogénicas (Zhang *et al.* 2012). La pérdida de la diversidad genética, así como también deriva genética y endogamia, están asociadas, generalmente, con la reducción del tamaño poblacional y fragmentación del hábitat (Vranckx *et al.* 2012). Sin embargo, hay especies arbóreas que poseen

una alta dispersión de semillas y polen a grandes distancias, lo que puede contribuir a un amplio flujo de genes entre poblaciones e individuos aislados, contrarrestando los efectos mencionados (Breed *et al.* 2013). Debido a que el flujo genético se ve afectado por el tiempo transcurrido desde el inicio del aislamiento de las poblaciones (Eguiarte *et al.* 2007), el efecto sobre la diversidad genética poblacional puede que no sea evidente a corto plazo como consecuencia de la longevidad de los árboles (Wiberg *et al.* 2016).

La sobreexplotación de las especies es un causante principal de la pérdida de diversidad genética, la cual depende

de la importancia de dicha especie para beneficio humano. Los organismos más afectados son los que tienen un alto valor comercial y económico (Da Silva *et al.* 2008). La tala selectiva es una de las principales causas de la variabilidad genética en estas especies debido a que preferentemente se talan los árboles que presentan ciertas características para el comercio de la madera, ocasionando la erosión genética y selección artificial en estas especies (CITES 2007).

*Cedrela odorata* L. (1759) (cedro rojo) es un árbol de la familia Meliaceae que puede alcanzar una altura máxima de 35 m. Su polinización es por insectos y la dispersión de sus semillas es anemócora y sobrepasa los 40 metros de distancia del árbol progenitor, por lo que se le puede considerar como una especie con una relativamente alta dispersión de semillas. En México, debido a su calidad de madera, es la segunda especie forestal de gran valor comercial después de la caoba (*Swietenia macrophylla* King), lo que la hace vulnerable a la reducción de sus poblaciones y consecuente pérdida de diversidad genética (Mostacedo y Pinard 2001, Navarro *et al.* 2004). Considerando que el estado de Tabasco ha sufrido una deforestación de hábitat de cerca del 95 % (Palma-López *et al.* 2007), actualmente *C. odorata* se encuentra en la lista roja de la IUCN como especie vulnerable, además está dentro del Apéndice III del CITES y se encuentra dentro de la NOM-059 (SEMARNAT 2010) en la categoría de riesgo Pr (sujeta a protección especial), lo que muestra una evidencia clara de la reducción de sus poblaciones a lo largo de la historia.

Diferentes estudios genéticos en Mesoamérica (Argentina, Bolivia, Honduras, Costa Rica, Panamá, Perú, Guatemala y México) reportan diferentes valores de diferenciación genética entre las poblaciones de *C. odorata* y otras especies del mismo género (Gillies *et al.* 1997, Navarro 2002, De la Torre *et al.* 2008, Soldati *et al.* 2013). En Costa Rica, Gillies *et al.* (1997) reportan alta diferenciación genética ( $P < 0,004$ , AMOVA) para poblaciones de *C. odorata*, lo que concuerda con Navarro (2002) quien obtiene un valor

alto de diferenciación genética ( $F_{st} = 0,67$ ) entre poblaciones de la misma especie en Costa Rica, Guatemala, Honduras, Panamá y México; ambos utilizando RAPD's como marcadores moleculares. En Perú, De la Torre *et al.* (2008) reportan un valor moderado ( $F_{st} = 0,20$ ) para poblaciones de *C. odorata* en la Amazonia Peruana utilizando AFLPs. Sin embargo, Soldati *et al.* (2013) reporta baja diferenciación genética con SSRs ( $F_{st} = 0,049$ ) y AFLPs ( $F_{st} = 0,041$ ) para poblaciones de la especie *C. balansae* en Argentina.

A pesar de que ya existen algunos trabajos forestales en *C. odorata* en Tabasco sobre germinación y crecimiento inicial de plántulas (Márquez-Ramírez *et al.* 2005), aún no se han reportado estudios para conocer el estado genético de esta especie en la región.

El objetivo del presente trabajo es conocer la estructura y diversidad genética actual de las poblaciones de *C. odorata* en el estado de Tabasco, México, para poder sugerir las poblaciones más aptas para la obtención de germoplasma y conservación con base en los valores de diversidad y flujo genético. La hipótesis planteada es la existencia de una alta diversidad genética en las poblaciones silvestres de *C. odorata* debido a su relativamente alta dispersión de semillas, a pesar del aislamiento geográfico de sus individuos ocasionado por la sobreexplotación.

## MÉTODOS

Durante octubre del 2015 se recorrieron las zonas de muestreo con el apoyo de pobladores locales para la selección de árboles y colecta de tejido vegetal. Los muestreos se realizaron en los municipios de Balancán, Centla, Centro, Cunduacán, Teapa y Tenosique, en el estado de Tabasco y en la zona arqueológica de Palenque en el estado de Chiapas. Considerando los criterios de selección de árboles de un diámetro mínimo de 20 cm, y que no pertenecieran a plantaciones forestales, la cantidad máxima fue de 68 árboles para el estudio (cuadro 1). Los árboles seleccio-

**Cuadro 1.** Ubicación de las siete poblaciones muestreadas y el número de árboles de *C. odorata* en los estados de Tabasco y Chiapas. DAP = diámetro a la altura del pecho. DS = desviación estándar.

Location of the seven populations and the number of *C. odorata* sampled trees in the states of Tabasco and Chiapas. DAP = diameter at breast height. DS = standard deviation.

Nombre de las poblaciones	Abreviación	Latitud N	Longitud O	Altitud (m s.n.m.)	No. de árboles	Altura (m) media ± DS	DAP (cm) media ± DS
Teapa	TEA	17°32'47,7"	92°53'36,2"	55	10	11,8 ± 2,8	43,9 ± 14,7
Balancán	BAL	17°48'30,7"	91°13'57,0"	35	10	18,0 ± 4,1	38,2 ± 17,3
Tenosique	TEN	17°15'29,3"	91°21'43,8"	111	15	11,7 ± 2,5	38,6 ± 13,2
Centro	CEN	17°59'29,3"	92°58'21,3"	15	12	11,4 ± 1,6	49,0 ± 19,3
Cunduacán	CUN	18°08'26,6"	93°16'56,6"	20	10	14,2 ± 3,0	47,6 ± 16,8
Palenque	PAL	17°29'2,2"	92°02'51,6"	160	5	17,1 ± 3,3	76,1 ± 60,1
Centla	CNT	18°31'30,6"	92°42'35,9"	3	6	13,7 ± 2,1	43,8 ± 18,5

nados tuvieron una altura y diámetro a la altura del pecho (DAP) máximos de 22,8 m y 171,9 cm, respectivamente.

A cada árbol se le colectó tejido foliar joven de la parte inferior-media de la copa, generalmente, entre 3 y 6 m de altura, el cual se guardó en bolsas de papel de estraza y bolsas de plástico con cierre hermético y se transportaron en neveras con hielo comercial. Una vez en el laboratorio, las muestras fueron almacenadas a - 4 °C.

La extracción de ADN se llevó a cabo con el método CTAB (*cetyl trimethyl ammonium bromide*) desarrollado por Doyle y Doyle (1990) modificado por Bekesiova (1999). Se maceró el tejido foliar de cada muestra con nitrógeno líquido hasta obtener un polvo fino y se pesó 0,1 g en tubos Eppendorf de 1,5 mL (dos réplicas por cada muestra). A cada tubo se le adicionaron 300 µL de buffer I (0,35M sorbitol, 0,1M tris, 5mM EDTA, 1M de bisulfito de sodio a una concentración final de 0,02M) y 300 µL de buffer II (0,2 M tris, 2 M de NaCl, 2 % de CTAB). Posteriormente, los tubos se agitaron vigorosamente y se le agregaron 120 µL de N- laurilsarcosil al 5 % agitando nuevamente. Se incubaron las muestras en baño maría a 65 °C por 15 minutos. Se dejaron enfriar durante cinco minutos a temperatura ambiente. Posteriormente se agregaron 700 µL de cloroformo: alcohol isoamílico en una proporción 24:1. Se centrifugaron a 14.000 rpm durante 10 minutos. Se extrajo el lisado transfiriendo a un tubo limpio y se adicionó 200 % de etanol absoluto y el 10 % de acetato de sodio a 1M con pH 5,2. Los tubos se invirtieron varias veces y se dejaron reposar por cinco minutos a temperatura ambiente para que se formaran las fibras. Se centrifugaron durante 10 minutos a 14.000 rpm. El *pellet* obtenido de cada muestra se lavó dos veces con 200 µL de etanol al 70 % y se centrifugaron por 10 minutos. Se dejaron secar a 37 °C durante toda la noche. Finalmente se disolvieron en 50 µL de agua destilada estéril.

El ADN obtenido se purificó para evitar interferencia de ARN y proteínas. Se adicionó 1,5 µL de RNAsa en las muestras. Se incubaron a 37 °C por 15 minutos. Se dejaron enfriar por cinco minutos, a una temperatura de 0 °C. Se agregó 500 µL de fenol: cloroformo en una proporción 1:1. Se incubaron en baño maría a 70 °C por tres minutos. Se dejaron enfriar por cinco minutos, a 0 °C. Se centrifugó a 14.000 rpm por cinco minutos. Se extrajo el sobrenadante y se transfirió a un tubo eppendorf estéril. A cada tubo se le adicionó 320 µL de etanol absoluto y 15 µL de acetato de sodio 3M. Posteriormente, se centrifugaron a 14.000 rpm por cinco minutos. Se eliminó el sobrenadante y el *pellet*, se lavó dos veces con etanol al 70 %. Finalmente se solubilizó en 50 µL de agua desionizada estéril. La calidad y pureza de ADN se comprobó por electroforesis en geles de agarosa al 0,8 % (Doyle y Doyle 1990, Bekesiova *et al.* 1999).

La amplificación de ADN se llevó a cabo utilizando nueve primers ya existentes para *C. odorata* (Hernández *et al.* 2008) y uno más diseñado con el programa Primer 3 y comprobado con el programa Pick Primers a partir de

secuencias almacenadas en el banco de genes del Centro Nacional de Información de Biotecnología (NCBI)<sup>1</sup> (cuadro 2). La mezcla de reacción consistió de 3,5 µL de H<sub>2</sub>O, 12,5 µL de Go Taq® Hot Start Green Master Mix IX, 1 µL de “*upstream primer*” (10 µM), 1 µL de “*downstream primer*” (10 µM) y 2 µL de ADN *template*. La amplificación se realizó en un termociclador T100 Thermal Cycler (BIO-RAD), con el siguiente programa: un ciclo de siete minutos, a 95 °C (desnaturalización), 42 ciclos de un minuto, a 94 °C, un minuto, entre 50 y 55 °C de acuerdo al primer (alineamiento) y un minuto a 72 °C (extensión), un ciclo de siete minutos a 72 °C (extensión final).

El análisis de los fragmentos amplificados de ADN se realizó en electroforesis de agarosa al 2 % con amortiguador TAE 1X (Tris-Acetato 40 mM, pH 8,0, EDTA 1 mM). Se utilizó una cámara electroforética horizontal (BIO-RAD) y una fuente de poder Power Pac Basic (BIO-RAD). Se empleó un marcador de peso molecular Ladder 100 pb (PROMEGA). Los pocillos del gel se cargaron con 15 µL de la reacción de PCR, mezclados con 3 µL de Blue/Orange 6X Loading Dye. La separación de los fragmentos se realizó con voltaje constante (80 volts) durante aproximadamente dos horas y media. Los productos amplificados se visualizaron en un transluminador (Uvitec) de luz ultravioleta. Los oligonucleótidos o primers que mostraron reproducibilidad y buena resolución se utilizaron para los análisis de datos.

Los patrones de bandeo en los geles se inspeccionaron visualmente para generar la matriz de datos. La matriz de similaridad se construyó en el programa NtSys-PC versión 2.0, usando el método de agrupamiento por medios aritméticos no ponderados “UPGMA” con el objetivo de determinar las relaciones entre las poblaciones estudiadas.

La similaridad genética en todas las poblaciones se estimó calculando el coeficiente de similaridad de Nei (Nei y Li 1979), también conocido como similaridad de DICE, cuya fórmula es:

$$S_{ij} = \frac{2a}{2a + b + c} \quad [1]$$

Donde,

S<sub>ij</sub> = similaridad entre el individuo i y j;

a = número de bandas compartidas por los individuos i y j;

b = número de bandas presentes en i pero ausentes en j;

j = número de bandas presentes en j pero ausentes en i.

La heterocigosidad (H<sub>e</sub>), se calculó con la fórmula propuesta por Nei:

$$H_e = H_{av} = \frac{\sum_{j=1}^n H_j}{n} = \frac{\sum_{j=1}^n \left( 1 - \sum_{i=1}^m P_{ij}^2 \right)}{n} \quad [2]$$

<sup>1</sup> NCBI (National Center for Biotechnology Information, US) <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>

**Cuadro 2.** Primer's amplificados. El primer ABO507 fue diseñado con el programa Pick primers 3. TA = Tamaños de Alelos, Na = número promedio de alelos diferentes, Ne = número promedio de alelos efectivos, I = índice de diversidad de Shannon, Ho = heterocigosidad observada He = heterocigosidad esperada y F (full) = alelos nulos por Locus.

Amplified primers. The first ABO507 was designed with the Pick primers 3 program. TA = Allele sizes, Na = average number of different alleles, Ne = average number of effective alleles, I = Shannon diversity index, Ho = observed heterozygosity He = expected heterozygosity and F (full) = null alleles per Locus.

Locus	Secuencia	Tm	TA	N	Na	Ne	I	Ho	He	F(full)
CED95	F:ATTTTCATTCCCTTTTAGCC* R:TTATCATCTCCCTCACTCCA	50	50-350	8,429	2,714	1,518	0,511	0,262	0,269	0,267
CED65	F:GAGTGAGAAGAAGAATCGTGATAGC* R:GAGGTTTCGATCAGGTCTTGG	55	50-180	8,429	2,286	1,591	0,555	0,448	0,337	-0,133
CED54	F:GATCTCACCCACTTGAAAAA* R:GCTCATATTTGAGAGGCATT	50	80-200	6,000	1,571	1,170	0,300	0,245	0,187	0,145
CED44	F:ACTCCATTAAGTCCATGAA* R:ATTTTCATTCCCTTTTAGCC	50	150-250	2,714	1,143	0,917	0,257	0,052	0,151	0,495
CED41	F:TCATTCTTGGATCCTGCTAT* R:GTGGGAAAGATTGTGAAGAA	50	50-200	6,143	2,143	1,627	0,503	0,269	0,298	0,258
CED61a	F:CAATCAAACCAAAAATGGAT* R:GCAAATTAACCAGAAAAACG	50	80-650	8,000	3,286	2,052	0,829	0,518	0,465	0,013
CED18	F:CAAAGACCAAGATTTGATGC* R:ACTATGGGTGGCACAACCTAC	50	50-200	5,143	1,571	1,435	0,415	0,390	0,274	-0,046
CED2	F:TTTGCTTTGAGAAACCTTGT* R:AACTTTCGAATTGGTTAAGG	50	50-150	4,714	1,286	0,975	0,201	0,119	0,114	0,227
AB0507	F:ACGAATATGAGCCCGTAACC* R:CTGCTATTGAAGCCCCATCT	55	50-350	6,571	2,000	1,371	0,434	0,367	0,256	-0,074

Donde,

H<sub>j</sub> = heterocigosidad esperada en un locus j,

p<sub>ij</sub> = frecuencia del alelo i del locus j,

m = número de alelos en el locus j y

n = número de loci considerados.

La diversidad genética se estimó mediante el índice de diversidad de Shannon (Guillies *et al.* 1997), a través de la relación siguiente:

$$H' = - \sum_{i=1}^s p_i \log_2 p_i \quad [3]$$

Donde,

H' = índice de diversidad de Shannon y p<sub>i</sub> = frecuencia de los genotipos microsatélites de las bandas presentes.

El índice de diversidad de Shannon no se ve afectado significativamente por la influencia que puede tener sobre los datos la falta de capacidad para detectar individuos heterocigóticos o por el tamaño de la muestra.

El análisis molecular de varianza (AMOVA) se usó para estimar la variabilidad genética entre e intra poblacional. Para determinar la estructura genética de las poblaciones se calcularon los estadísticos de F o frecuencias alélicas como el coeficiente de diferenciación genética en-

tre poblaciones (*F<sub>ts</sub>*), coeficiente de endogamia dentro de poblaciones (*F<sub>is</sub>*) y coeficiente de endogamia total (*F<sub>it</sub>*). De forma adicional se estimó el número de migrantes (*N<sub>m</sub>*) que reflejó el flujo de genes entre las poblaciones y el número de alelos nulos que indica el déficit de heterocigotos por Loci.

Tanto la heterocigosidad como el índice de Shannon, la distancia genética de Nei, el AMOVA, las frecuencias alélicas y el índice de migración, fueron determinados con el programa GeneAlex 6.41 y los alelos nulos por Cervus 3.0.7.

## RESULTADOS

De los 10 primers o cebadores analizados, uno no amplificó, realizando los análisis solo con nueve. Se obtuvieron un total de 40 alelos con tamaños que van de 50 a 650 pb. La secuencia de los primers amplificados con éxito, el rango de peso, los índices y la heterocigosidad por locus se muestran en el cuadro 2.

Los valores estimados con GenAlex 6,5 mostraron una clara diferencia de valores entre locus (cuadro 2). Se observa que en la mayoría de los locus la H<sub>o</sub> fue mayor a la H<sub>e</sub>, a excepción de los locus Ced95, Ced44 y Ced41, en los cuales se sugiere presencia de endogamia en mayor proporción a los otros locus. La mayoría de los valores para

alelos nulos no fueron significativos en los locus, aunque el valor más alto corresponde a CED44 que muestra indicios de deficiencia de heterocigotos concordando con el valor de  $H_o$  que fue más bajo y que indica poca diversidad genética para ese locus.

En el cuadro 3 se observa que en todas las poblaciones la heterocigosidad observada es mayor a la esperada, excepto las poblaciones de Balancan y Teapa, en las cuales se asume el supuesto de que cuando la  $H_o < H_e$  indica más apareamientos endogámicos (Eguiarte *et al.* 2007). De acuerdo a las  $H_o$  obtenidas, los niveles de diversidad genética para todas las poblaciones son bajos, el valor más bajo le corresponde a Centla (0,111) y el valor más alto a Centro (0,671), considerando a este con una diversidad genética moderada. Estos valores concuerdan con los valores obtenidos para el índice de diversidad de Shannon, el cual se relaciona con el valor mínimo para Centla (0,158) y el máximo para Centro (0,997). La diversidad genética sobre el total de las poblaciones fue baja ( $H_o = 0,297$ ).

Los estadísticos de F mostraron valores positivos para los tres coeficientes, el valor más alto corresponde a *Fit* con un valor de 0,597, mientras que el valor más bajo es para *Fis* con 0,306 que sugiere un moderado porcentaje de endogamia para todas las poblaciones. El valor que se indica para *Fst* es 0,419 que indica una alta diferenciación genética.

El AMOVA obtenido con el programa GenAlex 6,5 mostró una varianza de 42 % entre poblaciones, es decir la diferenciación genética entre poblaciones es alta, lo que

**Cuadro 3.** Variables de estimación de diversidad genética del cedro rojo (*Cedrela odorata*) para el estado de Tabasco, Mexico. Na = número promedio de alelos diferentes, Ne = número promedio de alelos efectivos, I = índice de diversidad de Shannon, Ho = heterocigosidad observada, He = heterocigosidad esperada y F = índice de fijación.

Variables used to estimate genetic diversity of the red cedar (*Cedrela odorata*) in the state of Tabasco, Mexico. Na = average number of different alleles, Ne = average number of effective alleles, I = Shannon diversity index, Ho = observed heterozygosity, He = expected heterozygosity and F = fixation index.

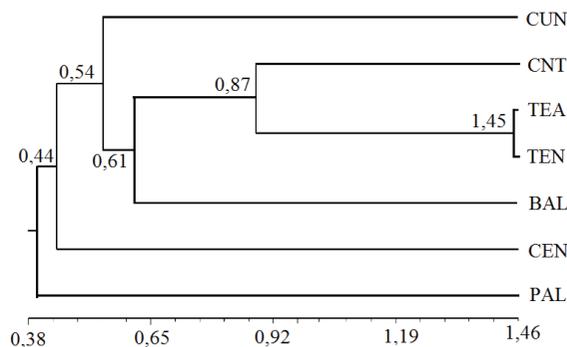
Poblaciones	Na	Ne	I	Ho	He	F
Cunduacán	1,667	1,190	0,331	0,256	0,204	8,889
Palenque	2,111	1,488	0,556	0,461	0,341	4,333
Centla	1,333	1,016	0,158	0,111	0,093	5,333
Balancan	2,111	1,513	0,482	0,219	0,281	5,444
Centro	3,667	2,403	0,997	0,671	0,564	11,667
Teapa	2,000	1,402	0,424	0,228	0,245	4,444
Tenosique	1,111	0,832	0,169	0,130	0,101	3,556
Total	2,000	1,406	0,445	0,297	0,261	6,238

concuera con el valor obtenido de *Fst*. El 18 % de varianza entre individuos fue el valor más bajo, lo que es de esperarse pues son más parecidos en contraste con el 40 % de variación dentro de los individuos, lo que podría indicar una moderada diferenciación genética entre ellos.

El dendrograma de distancias genéticas (figura 1) mostró dos grandes grupos. La población de Palenque, Chiapas, se encontró más alejada genéticamente de las otras poblaciones pertenecientes al estado de Tabasco. Por otro lado, dentro del grupo de Tabasco, hay tres grupos principales, aunque la población de Centro difirió de las otras poblaciones, lo que indica que es la de mayor diversidad genética entre ellas. Esto concuerda con los valores obtenidos en el cuadro 3, mientras que Tenosique y Teapa son las más parecidas entre sí con un valor de similitud más alto.

## DISCUSIÓN

Actualmente, los análisis de diversidad genética de las especies pretenden determinar su nivel óptimo (Mayer *et al.* 2017). Los datos obtenidos sugieren que existe una diferenciación genética alta ( $Fst = 0,419$ ), lo cual concuerda con otros estudios realizados en *C. odorata* en Costa Rica y Perú donde han reportado una alta diferenciación genética entre poblaciones (Gillies *et al.* 1997, De la Torre *et al.* 2008), así como niveles de diversidad altos (Cavers *et al.* 2003). Para la especie de la misma familia *Swietenia macrophylla*, que también ha sufrido sobreexplotación, se reporta una variación genética moderada ( $He = 0,600$ ) aunque un nivel de endogamia alto y significativo ( $Fis = 0,309$ ) y una diferenciación genética baja pero significativa con una  $Fst$  de 0,095 (Trujillo-Sierra *et al.* 2013). En los resultados del presente estudio se obtuvo un nivel de endogamia similar al trabajo anterior ( $Fis = 0,306$ ), aunque con una variación genética baja ( $He = 0,261$ ), en contraste a lo reportado por otros autores en donde la heterocigosidad esperada indicó una variación genética alta ( $He = 0,820$



**Figura 1.** Dendrograma de distancias genéticas de las poblaciones estudiadas, obtenido con el programa NTsys pc.

Dendrogram of the genetic distances obtained with the NTsys pc program for the studied populations.

y  $H_e = 0,869$ ) en *C. Fissilis* y *C. odorata*, respectivamente (Hernández 2008). Sin embargo, es muy probable que esto sea consecuencia de la fragmentación del hábitat y la deforestación al tratarse de una especie maderable con alto valor comercial y extracción de individuos con las mejores características, lo que ha producido una erosión genética de esta especie en sus poblaciones naturales (CITES 2007).

En el presente estudio se analizó el ADN por la técnica de microsatélites. Al respecto, a la fecha existen todavía pocos resultados disponibles de análisis de ADN con esta técnica en cedro rojo. Sin embargo, se pudo encontrar que en Argentina, Soldati (2013) reporta para *C. balansae*, una diversidad promedio moderada ( $H_e = 0,643$ ) con SSRs, así como una baja diferenciación genética con ambos marcadores respectivamente ( $F_{st} = 0,049$  y  $0,041$ ) relacionadas a flujos genéticos moderados ( $N_m = 3,71$  y  $4,47$ ). En comparación a estos resultados, los obtenidos en este estudio demuestran que el flujo genético es reducido ( $N_m = 0,797$ ). Sin embargo, cuando el número de migrantes es mayor a 1 en cada generación es suficiente para contrarrestar la diferenciación genética debida a la deriva genética (Eguiarte *et al.* 2007), por lo que en este trabajo la diferenciación genética alta puede deberse al poco flujo genético que existe entre las poblaciones.

La estructura genética débil es común en especies de árboles tropicales de larga vida (Da Silva *et al.* 2008). Este tipo de estructura generalmente indica un amplio flujo de genes, en donde se involucran los dispersores de semillas y en menor medida los polinizadores, los cuales pueden moverse a grandes distancias a través de diferentes hábitats, aunque esta distribución puede ser variable dependiendo de las necesidades energéticas de los vectores de las semillas y el polen (Loveless y Hamrick 1984). Por ejemplo, *C. odorata* es polinizada por abejas (*Apis mellifera*) que se desplazan hasta 6 km (Hagler *et al.* 2011), aunque también se sabe que se encuentran algunos tipos de trips (Thysanoptera) en las flores (Lee 1967), los cuales se mueven generalmente a 1 km de distancia y *Scaptotrigona* sp., hasta 1,7 km (León *et al.* 2015) por lo que podrían visitar las flores de *C. odorata* en el área de estudio. Aunque también un alto flujo de genes puede estar influenciado por el viento, el cual se ha demostrado que dispersa las semillas del cedro en un rango mayor a 40 m (Mostacedo y Pinard 2001). Por lo anterior, se puede explicar que las poblaciones de Teapa y Tenosique mantengan una diversidad genética similar debido a la incidencia de los vientos, sin embargo, Palenque se diferencia mucho a estas poblaciones a pesar de estar muy cercana, lo que sugiere que está presentando una variación en su estructura genética debido al aislamiento a causa de la fragmentación del hábitat y a la antigüedad de los árboles que ahí se encuentran, ya que la zona arqueológica de este sitio es una zona conservada (Breed *et al.* 2013).

En el presente estudio, se obtuvo una buena cantidad de ADN molecular con la metodología utilizada, el valor

encontrado para *Fst* fue alto, lo que refleja una diferenciación genética alta en las poblaciones analizadas principalmente para la población más alejada geográficamente como Palenque. Esta separación genética sugiere una posible línea evolutiva o de aislamiento de estas poblaciones con el resto del estado de Tabasco, lo cual se considera como un resultado importante acerca de esta especie arbórea, tal como lo muestran los resultados del dendrograma. Así también, los resultados muestran que la población muestreada para el municipio del Centro, particularmente, los que se encuentran dentro de la ciudad de Villahermosa, presentó la mayor diversidad genética por población, lo que sugiere que estos individuos fueron plantados de acuerdo al manejo que ha tenido la especie en esta localidad, al ser un centro de reproducción y siembra de árboles con germoplasma traído de otras localidades de la región, a lo largo del tiempo.

## CONCLUSIONES

A pesar de su amplio rango de polinización y dispersión de semillas, la especie *Cedrela odorata*, en el estado de Tabasco, presenta una baja diversidad genética, debido al alto aislamiento espacial de sus individuos. La población del municipio del Centro, presenta la mayor variabilidad genética, mientras que las poblaciones con baja variación genética como Tenosique y Centla, presentan ciertos niveles de endogamia, que sugiere un bajo flujo genético con poca conectividad entre ellas. Con base en lo anterior, se puede sugerir el uso específico del germoplasma de la población del Centro para colecta de material biológico para propagación, ya que fue la que obtuvo mejores niveles en cuanto a variación genética. Este estudio puede ser de gran utilidad para la conservación y manejo de esta especie a mediano plazo, así como para enriquecer su diversidad genética a nivel regional.

## AGRADECIMIENTOS

Se agradece al Programa de Fortalecimiento Institucional (PFI) de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco por el recurso financiero para el desarrollo del proyecto de investigación (Diversidad genética de *Cedrela odorata* King en el estado de Tabasco, 2014-IB-26) y al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca de Maestría en Ciencias otorgada al tercer autor.

## REFERENCIAS

- Bekesiova I, JP Nap, L Mlynarova. 1999. Isolation of high quality DNA and RNA from leaves of the carnivorous plant *Drosera rotundifolia*. *Plant Molecular Biology Reporter* 17(3): 269-277.
- Breed MF, KM Ottewell, MG Gardner, MH Marklund, EE Dormontt, AJ Lowe. 2013. Mating patterns and pollinator mobility are critical traits in forest fragmentation genetics. *He-*

- redity 115: 108-114. DOI:10.1038/hdy.2013.48
- Cavers S, C Navarro, AJ Lowe. 2003. A combination of molecular markers identifies evolutionarily significant units in *Cedrela odorata* L. (Meliaceae) in Costa Rica. *Conservation Genetics* 4(5): 571-580.
- CITES (Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestres). 2007. 3-15 de junio Decimocuarta reunión de la Conferencia de las Partes. La Haya (Países Bajos). Consultado 7 oct. 2017. Disponible en: <https://www.cites.org/sites/default/files/esp/cop/14.pdf>
- Da Silva EF, CAM De Oliveira, ACB Lins-E-Silva, MJN Rodal. 2008. Diversity and genetic structure of natural fragmented populations of *Tapirira guianensis* Aubl. Northeastern Brazil. *Bioremediation, Biodiversity and Bioavailability* 2: 35-40.
- De la Torre A, C López, E Yglesias, JP Cornelius. 2008. Genetic diversity of nine *Cedrela odorata* populations in Madre de Dios, southern Peruvian Amazon. *Forest Ecology and Management* 255(2): 334-339. DOI:10.1016/j.foreco.2007.09.058
- Doyle JJ, JL Doyle. 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus* 12: 13-15.
- Eguarte L, V Souza, X Aguirre. 2007. Ecología Molecular. UNAM. México. 592 p.
- Gillies ACM, JP Cornelius, AC Newton, C Navarro, M Hernandez, J Wilson. 1997. Genetic variation in Costa Rican populations of the tropical timber species *Cedrela odorata* L., assessed using RAPDs. *Molecular Ecology* 6(12): 1133-1145.
- Hagler JR, S Mueller, LR Teuber, SA Machtley, A Van-Deynze. 2011. Foraging range of honey bees, *Apis mellifera*, in alfalfa seed production fields. *Journal of Insect Science* 11(1): 1-12. DOI:10.1673/031.011.14401
- Hernández A, A Buonamici, K Walker, GG Vendramin, C Navarro, S Cavers. 2008. Isolation and characterization of microsatellite markers for *Cedrela odorata* L. (Meliaceae), a high value neotropical tree. *Conservation Genetics* 9: 457-459. DOI 10.1007/s10592-007-9334-y
- Hernández G. 2008. Genetic diversity and mating system analysis of *Cedrela odorata* L. (Meliaceae) populations under different human dominated landscapes and primary forests. Tesis Magister Scientiae. Turrialba, Costa Rica. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE). 74 p.
- Lee HY. 1967. Studies in *Swietenia* (Meliaceae): observations on the sexuality of the flowers. *Journal of the Arnold Arboretum* 48(1): 101-104.
- León A, C Arias-Castro, MA Rodriguez-Mendiola, R Mezagordillo, FA Gutierrez-Miceli, JC Nieh. 2015. Colony foraging allocation is finely tuned to food distance and sweetness even close to a bee colony. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 155: 47-53. DOI: 10.1111/eea.12283
- Loveless MD, JL Hamrick. 1984. Ecological determinants of genetic structure in plant populations. *Annual Review of Ecology and Systematics* 15: 65-95.
- Márquez-Ramírez J, U Xotla-Valdés, JE González de la Torre. 2005. Estudio de germinación y crecimiento inicial de plántulas de *Cedrela odorata* L. *Foresta Veracruzana* 7(2): 45-52.
- Mayer M, S Unterseer, E Bauer, N Leon, B Ordas, CC Schön. 2017 Is there an optimum level of diversity in utilization of genetic resources? *Theoretical Applied Genetics* 130: 2283-2295. DOI 10.1007/s00122-017-2959-4
- Mostacedo B, M Pinard. 2001. Ecología de semillas y plántulas de árboles maderables en bosques tropicales de Bolivia. In Mostacedo B, T S Fredericksen eds. Regeneración y silvicultura de bosques tropicales en Bolivia. p. 11-29.
- Navarro C. 2002. Genetic resources of *Cedrela odorata* L. and their efficient use in Mesoamerica. Helsinki, Finlandia. Universidad de Helsinki. 89 p.
- Navarro C, F Montagnini, G Hernández. 2004. Genetic variability of *Cedrela odorata* Linnaeus: results of early performance of provenances and families from Mesoamerica grown in association with coffee. *Forest Ecology and Management* 192(2): 217-227. DOI: 10.1016/j.foreco.2004.01.037
- Nei M, WH Li. 1979. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction tabendonucleases. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 76(10): 5269-5273.
- Palma-López DJ, DJ Cisneros, CE Moreno, JA Rincón-Ramírez. 2007. Suelos de Tabasco: su uso y manejo sustentable. Tabasco, México. Colegio de Postgraduados- Villahermosa. 195 p.
- SEMARNAT (Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, MX). 2010. Norma Oficial Mexicana NOM-059. Protección ambiental - Lista de especies en riesgo. 78 p.
- Soldati MC, L Fornes, M Van Zonneveld, E Thomas, N Zelener. 2013. An assessment of the genetic diversity of *Cedrela balansae* C. DC.(Meliaceae) in Northwestern Argentina by means of combined use of SSR and AFLP molecular markers. *Biochemical Systematics and Ecology* 47: 45-55. DOI: 10.1016/j.bse.2012.10.011
- Trujillo-Sierra JE, P Delgado-Valerio, I Ramírez-Morillo, V Rebolledo-Camacho, N Pérez-Nasser. 2013. Variación genética en poblaciones mexicanas de *Swietenia macrophylla* King, una especie tropical en expansión geográfica reciente. *Botanical Sciences* 91(3): 307-317.
- Vranckx GUY, H Jacquemyn, B Muys, O Honnay. 2012. Meta-analysis of susceptibility of woody plants to loss of genetic diversity through habitat fragmentation. *Conservation Biology* 26(2): 228-237. DOI: 10.1111/j.1523-1739.2011.01778.x
- Wiberg RAW, AR Scobie, SW A'hara, RA Ennos, JE Cottrell. 2016. The genetic consequences of long term habitat fragmentation on a self-incompatible clonal plant, *Linnaea borealis* L. *Biological Conservation* 201: 405-413. DOI: 10.1016/j.biocon.2016.07.032 0
- Zhang X, MM Shi, DW Shen, XY Chen. 2012. Habitat loss other than fragmentation per se decreased nuclear and chloroplast genetic diversity in a monoecious tree. *PLoS ONE* 7:e39146. DOI: 10.1371/journal.pone.0039146

