

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE NICARAGUA  
UNAN-LEÓN  
FACULTAD DE CIENCIAS Y TECNOLOGÍA



DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA "EDGÁR MUNGUÍA ALVAREZ"



**DETERMINACIÓN DE LA VARIABILIDAD GENÉTICA DE CINCO POBLACIONES NATURALES DE *Cedrela odorata* L. EN NICARAGUA, USANDO MARCADORES RAPDs Y MORFOLÓGICOS**

**AUTOR:**

Br. WALTER TOMÁS SOZA VELÁSQUEZ

REQUISITO PREVIO PARA OPTAR AL TÍTULO DE:  
**LICENCIADO EN BIOLOGÍA**

**TUTORES:**

MSc. LOURDES CALLEJAS SOLÓRZANO

Lic. DAVIDALBERTO CERDA GRANADO

LEÓN, NICARAGUA, C. A.  
JUNIO, 2011

## **DEDICATORIA**

Dedicada a mi tío Carlos Mairena, por su apoyo incondicional para seguir adelante en este reto, por su comprensión sacrificio y dedicación. A mi padre Mauro Soza, por sus enseñanzas, consejo y noches de desvelo, por ese gran amor incondicional que sólo los padres sienten. A mi madre Ana Velásquez, por ser el ejemplo de dedicación y esfuerzo en la vida, por demostrarme que todo se puede lograr cuando se tiene fe en sí mismo.

**Muchas Gracias a todos.**

## AGRADECIMIENTOS

**M**iles de gracias a mi padre, a mi madre Ana, a mis hermanos, a mi tío Carlos Mairena, por haberme dado la mano y consejo en el momento donde más necesitaba, con sus llamadas y palabras de aliento. Al convenio de cooperación entre la UNAN-León y el INAFOR que a través del **Centro de Mejoramiento Genético y Banco de Semillas Forestales** financió la realización de este trabajo, por medio del Proyecto Marcadores 2007-2008.

A mis tutores MSc. Lourdes Callejas y en especial al Lic. David Cerda por su esfuerzo, dedicación, ayuda, amistad, confianza en mi persona desde el principio; sin tu genial y carismática personalidad, no hubiera podido terminar este esfuerzo a tiempo.

Muchísimas gracias.

Al Lic. Marco Campos y Lic. María Auxiliadora Altamirano por haberme orientado en la parte de laboratorio, por sus tan buenos consejos, comprensión, respeto y apoyo en todo momento.

Al MSc. Rolando Martínez, por ser mi guía en los momentos más decisivos de este gran esfuerzo llamado tesis, por aconsejarme y colaborar conmigo en todo momento.

A mi apreciado amigo Ervin A. Gutiérrez Santana.

A todas aquellas personas que de una u otra forma contribuyeron a culminar mis estudios en especial a la Dra. Verónica Díaz, Dra. Vilma Solís, Ph.D. Charles L. Aker, MSc. Rebeca Pastora, Ph.D. Ricardo Rueda, MSc. Mauricio Prado, MSc. Rolando Dolmus, MSc. Iván Guevara y al Lic. César Hernández, por sus consejos.

# INDICE

## Contenido

|                                                                                                                      |              |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------|
| <b>ÍNDICE DE TABLA .....</b>                                                                                         | <b>V</b>     |
| <b>ÍNDICE DE FIGURAS .....</b>                                                                                       | <b>VI</b>    |
| <b>INDICE DE ABREVIATURAS .....</b>                                                                                  | <b>VII</b>   |
| <b>RESUMEN .....</b>                                                                                                 | <b>VIII</b>  |
| <b>I. INTRODUCCIÓN.....</b>                                                                                          | <b>- 1 -</b> |
| <b>II. OBJETIVOS .....</b>                                                                                           | <b>- 3 -</b> |
| 2.1. Objetivo general.....                                                                                           | - 3 -        |
| 2.2. Objetivos específicos.....                                                                                      | - 3 -        |
| <b>III. MARCO TEÓRICO .....</b>                                                                                      | <b>- 4 -</b> |
| 3.1. Generalidades morfológicas de <i>Cedrela odorata</i> L.....                                                     | - 4 -        |
| 3.1.1. Ciclo reproductivo de <i>Cedrela odorata</i> L.....                                                           | - 5 -        |
| 3.1.2. Distribución y hábitat en Nicaragua .....                                                                     | - 6 -        |
| 3.1.3. Usos de <i>Cedrela odorata</i> L.....                                                                         | - 7 -        |
| 3.2. Condiciones actuales de las poblaciones naturales de <i>Cedrela odorata</i> en Nicaragua y Centro América ..... | - 8 -        |
| 3.4. Mejoramiento Forestal .....                                                                                     | - 12 -       |
| 3.5. Fuente y Ventaja de la Variabilidad genética en especies forestales. ....                                       | - 14 -       |
| 3.6. Marcadores genéticos .....                                                                                      | - 20 -       |
| 3.6.1. Definición.....                                                                                               | - 20 -       |
| 3.6.4. Marcadores moleculares .....                                                                                  | - 26 -       |
| 3.6.4.1. Marcadores bioquímicos .....                                                                                | - 26 -       |
| 3.6.4.2. Marcadores de ADN .....                                                                                     | - 27 -       |
| 3.6.4.2.1. PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa) .....                                                           | - 28 -       |

|                                                                      |               |
|----------------------------------------------------------------------|---------------|
| 3.6.4.2.2. RAPD (ADN Polimórfico Amplificado al Azar) .....          | - 30 -        |
| <b>IV. MATERIALES Y MÉTODOS .....</b>                                | <b>- 34 -</b> |
| 4.1. Obtención de datos.....                                         | - 34 -        |
| 4.2. Análisis Estadístico.....                                       | - 37 -        |
| 4.2.1. Análisis Morfológicos .....                                   | - 38 -        |
| 4.2.2. Análisis RAPD .....                                           | - 38 -        |
| 4.2.2.1 Diversidad Genética .....                                    | - 38 -        |
| 4.2.2.2 Partición de la Variación .....                              | - 39 -        |
| 4.2.2.3 Relaciones filogenéticas.....                                | - 40 -        |
| 4.2.3. Comparación de variación a nivel morfométrico y genético..... | - 40 -        |
| <b>V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>                               | <b>- 42 -</b> |
| 5.1. Análisis de Datos Morfológicos.....                             | - 42 -        |
| 5.2. Análisis de Datos RAPDs.....                                    | - 48 -        |
| 5.2.1. Diversidad Genética .....                                     | - 48 -        |
| 5.2.2. Partición de la Variación .....                               | - 50 -        |
| 5.2.3. Relaciones Filogenéticas.....                                 | - 51 -        |
| 5.3. Análisis Comparativos entre Datos Morfológicos y RAPDs.....     | - 56 -        |
| <b>VI. CONCLUSIONES.....</b>                                         | <b>- 65 -</b> |
| <b>VII. RECOMENDACIONES.....</b>                                     | <b>- 66 -</b> |
| <b>VIII. BIBLIOGRAFÍA .....</b>                                      | <b>- 67 -</b> |
| <b>GLOSARIO.....</b>                                                 | <b>- 75 -</b> |
| <b>ANEXO.....</b>                                                    | <b>- 79 -</b> |

# ÍNDICE DE TABLA

## Contenido

|                                                                                                                                                                                                 |        |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------|
| Tabla 1. Información sobre las Poblaciones muestreada de <i>C. odorata</i> L. de Nicaragua (Tijerino, 2009).....                                                                                | - 35 - |
| Tabla 2. Matriz de datos morfológicos de 5 poblaciones de <i>C. odorata</i> L. de Nicaragua -                                                                                                   | 79 -   |
| Tabla 3. Correlación simple entre 4 variables de <i>Cedrela odorata</i> L.....                                                                                                                  | - 45 - |
| Tabla 4. Parámetros de variación genética, diversidad génica de Nei (He) e índice de Shannon (Ho) para las cinco poblaciones analizadas.....                                                    | - 49 - |
| Tabla 5. Medidas insesgadas de Nei (1978) de Identidad Genética (arriba de la diagonal) y diversidad genética (debajo de la diagonal).....                                                      | - 52 - |
| Tabla 6. Distancias morfológica entre poblaciones <i>C. odorata</i> (arriba de la diagonal) y distancia euclidiana estimadas a partir de las morfológica (debajo de la diagonal)-               | 57 -   |
| Tabla 7. Distancias genética de Nei (1978) entre poblaciones <i>C. odorata</i> (arriba de la diagonal) y distancias euclidianas estimadas a partir de la genéticas (debajo de la diagonal)..... | - 59 - |
| Tabla 8. Distancias geográficas entre poblaciones <i>C. odorata</i> (arriba de la diagonal) y distancias euclidianas estimadas a partir de las geográficas (debajo de la diagonal)....          | - 60 - |
| Tabla 9. Valores de $\Phi_{ST}$ entre pares de poblaciones obtenidos por Tijerino (2009), a partir de datos RAPD de muestras de <i>Cedrela odorata</i> .....                                    | - 81 - |

# ÍNDICE DE FIGURAS

## Contenido

|                                                                                                                                                                                                                                                                         |      |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| Figura 1. <i>C. odorata</i> L.: corteza ; (a), hoja ;(b), flor; (c) y(d), fruto. (Fotos por David Cerda)...                                                                                                                                                             | 5 -  |
| Figura 2. Distribución potencial de: <i>C. odorata</i> en Centro América .....                                                                                                                                                                                          | 10 - |
| Figura 3. Distribución de poblaciones de <i>C. odorata</i> . Dato de mapa 2011. Tomado de Cite this page: Tropicos.org. Missouri .//MapsGoogle.aspx-?mapid=391719. Botanical Garden. 10 Mayo 2011 .....                                                                 | 11 - |
| Figura 4. Mapa de las poblaciones muestreadas de <i>C. odorata</i> L. de Nicaragua. Elaborado por la MSc. Ana Reyes Zavala .....                                                                                                                                        | 35 - |
| Figura 5.: (a y c) Toma de muestras vegetal, (b y d) Toma de datos morfológicos. (Fotos cortesía Proyecto Marcadores, 2007).....                                                                                                                                        | 37 - |
| Figura 6. Diámetro a la altura del pecho (DAP) de las cinco poblaciones muestreadas de <i>C. odorata</i> . L.....                                                                                                                                                       | 43 - |
| Figura 7. Altura de las plantas (HP) en las cinco poblaciones muestreadas de <i>C. odorata</i> .L .....                                                                                                                                                                 | 44 - |
| Figura 8. Altura del fuste (HF) en las cinco poblaciones muestreadas de <i>C. odorata</i> . L.....                                                                                                                                                                      | 44 - |
| Figura 9. Diámetro de la cobertura (DC) de las cinco poblaciones muestreadas de <i>C. odorata</i> . L -                                                                                                                                                                 | 45 - |
| Figura 10. Análisis Neighbour-joining mostrando las relaciones genéticas de 5 poblaciones de <i>C. odorata</i> : utilizando marcadores RAPDs: Árbol obtenido a partir de las distancias genéticas de Nei (1978).....                                                    | 53 - |
| Figura 11. El diagrama del análisis de coordenadas principales obtenido de la matriz de distancias genéticas de Nei (1978) entre 5 poblaciones de <i>C. odorata</i> L. Volcán Casita (CAS), Esquipulas (ESQ), Masatepe (MAS), El Refugio (REF), La Trinidad (TRI) ..... | 56 - |
| Figura 12. Dendrograma generado por el método de ligamiento UPGMA con las distancias euclidianas obtenidas de los datos morfológicos. Volcán Casita (CAS), Esquipulas (ESQ), Masatepe (MAS), El Refugio (REF), La Trinidad (TRI). .....                                 | 58 - |
| Figura 13. Dendrograma generado por el método de ligamiento UPGMA con las distancias euclidianas obtenidas de las distancias genéticas de Nei (1978).....                                                                                                               | 59 - |

Figura 14. Pruebas de Mantel para las poblaciones de *C. odorata* L. Los datos mostrados son valores de coeficientes de Pearson comparando las matrices apareadas de distancias genética, morfológica y espacial..... - 62 -

# INDICE DE ABREVIATURAS

|           |                                                                                                  |
|-----------|--------------------------------------------------------------------------------------------------|
| AMOVA     | Análisis de varianza molecular                                                                   |
| AFLP      | Polimorfismo para la longitud de fragmentos amplificados.                                        |
| CMG & BSF | Centro de Mejoramiento Genético y Banco de Semillas Forestales                                   |
| CITES     | Convención sobre el Comercio Internacional de especies Amenazadas de<br>Fauna y Flora silvestres |
| Dc.       | Diámetro de la cobertura                                                                         |
| DAP       | Diámetro a la altura del pecho                                                                   |
| FAO       | Organización de la Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación                         |
| Hp        | Altura de las plantas                                                                            |
| Hf        | Altura del fuste                                                                                 |
| IPGRI     | Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos                                                |
| IRENA     | Organismo Internacional de Energía Renovable                                                     |
| msnm      | Metros sobre el nivel del mar                                                                    |
| NTSYS     | Sistema de análisis multivariado y taxonomía numérica                                            |
| PCo       | Análisis de Coordenadas Principales                                                              |
| PCR       | Reacción en cadena de la polimerasa                                                              |
| PopGen    | Análisis Genético Población restricción                                                          |
| RAPD      | ADN polimórfico amplificado al azar                                                              |
| RFLP      | Polimorfismos en la longitud de los fragmentos de restricción                                    |
| UPGMA     | Método de matriz de distancia UPGMA                                                              |

## RESUMEN

En la presente investigación se aplicaron análisis estadísticos a datos morfológicos y moleculares de 92 individuos pertenecientes a cinco poblaciones naturales de *Cedrela odorata* L. (El Casita, Esquipulas, La Trinidad, Masatepe y El Refugio), esta investigación es para determinar la variabilidad genética de estas poblaciones con dos tipos de marcadores. Los análisis morfológicos de 4 variables (DAP, altura de la planta, altura del fuste y diámetro de cobertura) identificaron que las poblaciones de El Casita, Esquipulas y La Trinidad son más heterogéneas, en cuanto a las variables DAP y altura de la planta. Las variables más correlacionadas fueron el diámetro de cobertura con el DAP y la altura de la planta. Con los datos moleculares (78 marcadores RAPDs) se encontró en las poblaciones por separado que la diversidad genética total más baja la exhibió Esquipulas, mientras que la más alta se encontró en La Trinidad, usando tanto los índices de diversidad de Nei, ( $H_e$ ) como el de Shannon ( $H_o$ ). También con el índice de Shannon se calculó en todo el conjunto de las poblaciones la partición de la variación encontrándose que es mayor dentro de las poblaciones (86.64%) que entre las poblaciones (13.36%), como es de esperarse en poblaciones forestales. Los análisis de agrupamiento de las distancias genéticas de Nei y coordenadas principales relaciona las poblaciones en 2 grupos en los cuales La Trinidad y El Casita fue el que presentó el mayor grado de diferenciación. Al comparar con la prueba de Mante no se encontró correlación entre las distancias genéticas, morfológicas y geográficas. La no correlación entre distancias genética (a nivel de ADN) con la geográfica indican que estas poblaciones no siguen un modelo de aislamiento por distancia; y con la morfológica puede deberse a las pocas variables utilizadas y que éstas solo eran vegetativas y no reproductivas.

## I. INTRODUCCIÓN

*Cedrela odorata* L. (cedro) es un árbol perteneciente a la familia Meliaceae, el cual es una de las especies maderables más importantes de Centroamérica. Su fina madera ha sido extraída y utilizada durante siglos, debido a esto en la actualidad es cada vez más difícil encontrarla. De acuerdo a Patiño (1997), a causa de diversos factores, resaltando entre ellos los procesos deforestación y fragmentación de los bosques y el aprovechamiento selectivo sobre los mejores individuos, se ha disminuido el tamaño de sus poblaciones (número de individuos por población), afectando su constitución genética.

De manera general, la reducción en la población trae como consecuencia directa la reducción en la variabilidad genética, la cual es una condición importante para las especies, ya que les permite enfrentar los retos presentes y sobrevivir, además les da capacidad de adaptación a cambios ambientales futuros. (Frankham *et al.*, 2002). Al caracterizar una especie se está estimando la variabilidad existente en el genoma vegetal de la población de individuos que la conforman, así toda la información codificada por los genes establece su identidad morfológica (Franco & Hidalgo, 2003).

En los últimos años la utilización de técnicas moleculares ha permitido complementar la información obtenida a través de la caracterización morfológica. Demey *et al.* (2003), afirman de que entre las técnicas de marcadores moleculares más usadas para caracterizar y evaluar la variabilidad genética existentes se encuentra el ADN polimórfico amplificado al azar (RAPD). Dicha técnica está basada en la amplificación al azar de diferentes fragmentos de ADN con un sólo cebador de 10 nucleótidos de largo que identifican polimorfismos que son usados como marcadores (William *et al.*, 1990). En la UNAN-León se han hecho estudios con esta técnica para evaluar la diversidad genética de *Jatropha curcas* (Williams & Ramos, 2000), *Sabal*

*mexicana* (Guido, 2005), *Pachiraquinata* (Dolmus & García, 2006), *Musa sp.* (Reyes & Ríos, 2006), *Pinus tecunumanii* (Cerdeña, 2007) y *Cedrela odorata* L. (Tijerino, 2009).

Es evidente que los esfuerzos por conservar los recursos forestales han sido ampliamente rebasados por la velocidad con que se están deteriorando (Patiño, 1997). Este hecho unido a los problemas de propagación que se presenta el cedro, por ejemplo su corta área de dispersión de la semilla (Galván., 1996) y el ataque del lepidóptero *Hypsipyla grandella* Zeller son las principales causas para su redoblamiento.

Debido a que la reducción del cedro implica la reducción de su variabilidad genética y por lo tanto su fitness reproductivo. Esta investigación tuvo como objetivo principal determinar la variabilidad genética de las poblaciones naturales de cedro en Nicaragua a través de la relación entre caracterización molecular y morfológica; ya que esto nos permite conocer la estructura poblacional, y diseñar programas eficientes para la conservación y reforestación de la especie. Así como para el establecimiento de plantaciones forestales con fines de mejoramiento genético, fuente semillera y producción maderera.

## II. OBJETIVOS

### 2.1. Objetivo general

❖ Determinarla variabilidad genética de cinco poblaciones naturales de *Cedrela odorata* L. de Nicaragua a través de la relación entre caracterización molecular y morfológica.

### 2.2. Objetivos específicos

❖ Realizar estimaciones de diversidad genética de cada población individual a partir de la información proporcionada por marcadores morfológicos y RAPDs.

❖ Determinar la variabilidad genética dentro y entre poblaciones para cada tipo de marcador.

❖ Conocer la relación filogenética entre las cinco poblaciones con los dos tipos de marcadores.

❖ Realizar comparaciones entre los datos morfológicos y RAPDs.

### III. MARCO TEÓRICO

#### 3.1. Generalidades morfológicas de *Cedrela odorata* L.

Los árboles de *C. odorata* son moderadamente longevos. Se reporta un árbol en Belice con 110 anillos y árboles con un contorno de 13-14" tienen una edad media de 125 años. También señala que es una especie que crece rápidamente y que en condiciones óptimas alcanza 1 m de diámetro en 50-60 años, creciendo 3 m cada año. (Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestres, 2007). Es un árbol que pueden alcanzar unos 12-30 m de alto, con fustes hasta 1.5-2 m de diámetro. Su corteza externa es de gris-café a negra (**Figura 1a**), con fisuras longitudinales irregulares y regularmente distribuidas. Su corteza interna es de color rosado a "rojo pardo" con olor a ajo y de sabor amargo (Stevens *et al.*, 2001).

La madera tiene un olor agradable y varía considerablemente según el origen y las condiciones de crecimiento. El color oscila entre rojo oscuro pálido a medio. La madera de rápido crecimiento suele ser más pálida y de peso más ligero que la de los árboles que crecen más lentamente (Stevens *et al.*, 2001). Las hojas compuestas de 25 a 50 cm de largo (**Figura 1b**), se agrupan en los extremos de las ramas, con 6-12 pares de folíolos ovado-lanceolados de 7-15 cm de largo y 3-5 cm de ancho (Stevens *et al.*, 2001). Con el haz de color verde oscuro y el envés más claro o verde amarillento.

Las inflorescencias (**Figura 1c**), son de gran tamaño y muy ramificadas. Presentan numerosas flores pequeñas de 15 a 30 cm de longitud, de color blanco verdusco y de olor agradable (Stevens *et al.*, 2001). El fruto es una cápsula leñosa (**Figura 1d**), café o café-gris, oblongo-elipsoide a obovoide de 2-5 cm de largo y 1 cm

de ancho, puede contener entre 25 a 40 semillas. Las semillas son café claras de forma alargada y aplanada que se prolongan por una expansión membranosa semejante a un ala fina, de tamaño pequeño de 2–3.5 cm de largo incluyendo el ala, (Stevens *et al.*, 2001). El peso de las semillas es de alrededor del 8 al 10 por ciento del peso seco de la fruta. Un kilogramo contiene de 20,000 a 50,000 semillas.

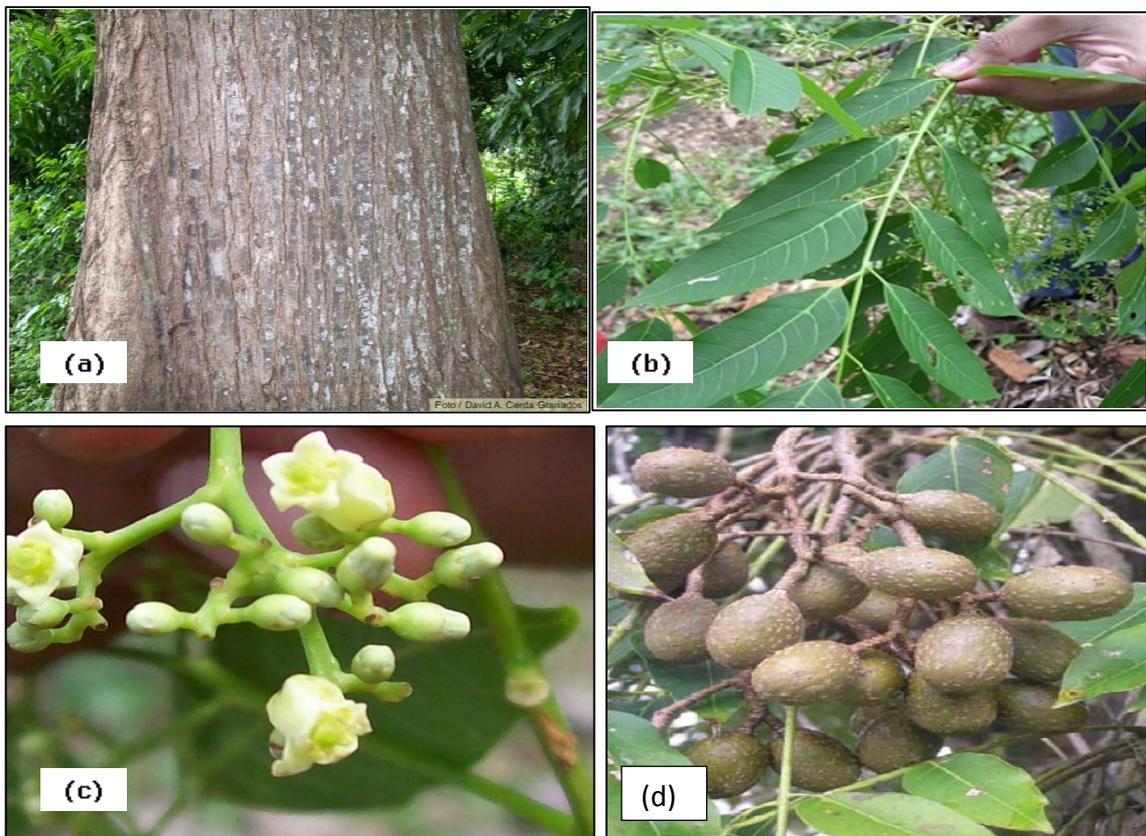


Figura 1. *C. odorata* L.: corteza ; (a), hoja ;(b), flor; (c) y(d), fruto. (Fotos por David Cerda).

### 3.1.1. Ciclo reproductivo de *Cedrela odorata* L.

Según Cintrón (1990), el ciclo reproductivo del cedro está sincronizado con la temporada de crecimiento del sitio; a través de su distribución florece al comienzo de la temporada lluviosa: de mayo a agosto en México, las Indias Occidentales y el norte de

la América del Sur y de septiembre a octubre en Argentina y en Nicaragua en abril a septiembre. La florescencia comienza cuando las nuevas hojas comienzan a expandirse. Los árboles son monoicos; las flores masculinas y femeninas aparecen en la misma inflorescencia, pero la especie es proterógina (las flores femeninas se abren primero).

Las alozimas de plántulas germinadas a partir de semillas recolectadas en la naturaleza utilizadas para producir estimaciones de hibridación de *C. odorata* no han revelado pruebas de autofecundación (Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestres, 2007). Las flores presentan características asociadas con entomofilia; se cree que los principales polinizadores son las abejas y las mariposas.

Fructifica de junio a marzo. El desarrollo de los frutos toma aproximadamente de 9 a 10 meses y los frutos maduran durante la siguiente temporada seca. Los árboles comienzan a producir frutos a una edad de 10 a 12 años (Stevens *et al.*, 2001). El fruto aparece cerca de la punta de las ramas. Las frutas maduran, se rajan y liberan las semillas cuando aún esmaterno el árbol y sus semillas son dispersadas por el viento. El fruto se desprende una vez liberada la semilla (Cintrón, 1990).

### **3.1.2. Distribución y hábitat en Nicaragua**

El área de distribución natural está eclipsada por la explotación, las plantaciones forestales y evasiones del cultivo. *C. odorata* crece en todas las tierras bajas de América Central y América del Sur hasta el norte de Argentina y la mayoría de las islas del Caribe, en Nicaragua es común en Bosque Húmedo tropical, Bosque Húmedo subtropical, Bosque Seco Tropical y entre otros, en todas las zonas del país, el cedro es una especie generalista en cuanto al clima, encontrándose sobre una vasta distribución geográfica de 20 y 32 °C, (Cintrón, 1990).

Según Pennington (2006), En América Central y México se da sólo en lugares no inundados, con frecuencia en piedra caliza bien drenada, como en los bosques semicaducifolios de la península de Yucatán. Sin embargo, en Perú y Brasil amazónicos es común sobre todo en suelos fértiles inundados periódicamente por el flujo y reflujo del Amazonas y sus principales afluentes. Este mismo autor señala que el área de distribución se sitúa generalmente entre cerca del nivel del mar y 800 m, con algunos registros hasta 1.500 m, pero éstos pueden ser introducidos como plantas. Crece en suelos bien drenados y no tolera bien los suelos nutritivamente desequilibrados. Tolerancia una variación en pH y requiere buenos niveles de luz.

### **3.1.3. Usos de *Cedrela odorata* L.**

*C. odorata* recibe considerable atención debido al alto valor de su madera, a su apariencia atractiva, sus adecuadas propiedades físico mecánicas, y a su resistencia al ataque de termitas. Por ser una madera preciosa, fragante, liviana y de color rosado es ampliamente explotada ya que es empleada en la elaboración de muebles finos, construcción interna, trabajos de gabinetes, canoas, pisos, puertas, marcos de ventanas, cajas para puros y en la fabricación de instrumentos musicales. También esta especie es usada como cortina rompevientos, cercas vivas, protección de cultivos, en el control de erosión y conservación de suelos. Por su porte majestuoso, también destaca su uso en el área ornamental (Stevens *et al.*, 2001).

Con los frutos se hacen arreglos artesanales, principalmente flores. Las raíces, hojas y la corteza del tronco se utilizan en la medicina tradicional, para curar fiebres, diarreas, disentería, dolores de estómago, parásitos intestinales, dolor de muelas y oídos, contra la diabetes, febrífugo, caídas o golpes y paludismo. La corteza de la raíz es usada para la epilepsia. Las semillas poseen propiedades vermífugas. El tallo es

antipirético, abortivo para acelerar el parto. El látex es empleado como expectorante contra la bronquitis (Stevens *et al.*, 2001).

### **3.2. Condiciones actuales de las poblaciones naturales de *Cedrela odorata* en Nicaragua y Centro América**

*C. odorata* tiene gran interés comercial desde hace más de 300 años por lo que se ha explotado considerablemente, y a causa de la explotación excesiva en toda su área, su distribución ha disminuido hasta el punto de que raramente se encuentran ya grandes árboles de buena forma y buen tamaño en zonas aisladas y en las regiones más inaccesibles, lo que ha producido una erosión genética de esta especie a lo largo de su área de distribución natural, al punto de que está incluida por la UICN en la lista de especies que corren gran peligro de extinción en la naturaleza a mediano plazo (Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestres, 2007), **Veases figura 2.**

*C. odorata* es vulnerable a los efectos de aislamiento de la fragmentación del hábitat y a la reducción de la densidad de población. En un estudio de la influencia del aislamiento reproductivo y la fragmentación sobre las tasas de crecimiento de la progenie en Costa Rica, se observó que árboles madre aislados producían una progenie inferior, en comparación con los árboles de bosques continuos y pastos (Navarro, 2002a). No se dispone de estimaciones sobre la población total actual. Según se informa, *Cedrela odorata* se da en abundancia, sobre todo en América Central ((Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestres, 2007). Sin embargo, Navarro *et al.*, (2004) reportan que *C. odorata* no es común a lo largo de los bosques húmedos tropicales americanos. Sus cifras siguen reduciéndose a causa de la explotación sin regeneración satisfactoria.

Cavers *et al.*, (2004), utilizaron una combinación de marcadores genéticos (secuencia de cloroplasto y polimorfismo de la longitud de fragmentos amplificados, AFLP) y caracteres morfológicos para describir la variación de *C. odorata* en toda Mesoamérica. Se observaron tres unidades separadas: México, Belice y Guatemala; Honduras y Nicaragua; Costa Rica y Panamá. La variación puede dividirse además a nivel del país. Los marcadores genéticos (ADN polimórfico amplificado al azar, RAPDs) hallaron un elevado nivel de diferenciación genética entre poblaciones de *C. odorata* de las regiones septentrional y meridional de Costa Rica (Gillies *et al.*, 1997).

Son poco los estudio que se han hecho en Nicaragua sobre *Cedrela odorata* L., como el de Tijerino (2009), y solo se encuentra información vieja de la década de los años 70.

Tijerino (2009), reporta que durante el muestreo realizado en este estudio, se pudo observar que han quedado poblaciones remanentes de *Cedrela odorata* L. en sitios como Esquipulas, Matagalpa, La Trinidad en Estelí y el Refugio en el Volcán Mombacho en granada donde se encuentran árboles aislados a orilla de la carretera a diferencia de las poblaciones de Bella Vista en el Casita, Chinandega que se encuentran bien conservadas debido a lo inaccesible del lugar. Con respecto *Hypsipylla grandella* en estas poblaciones muestreadas no se encontró problema de ataques, esto sería debido a que los individuos de estas poblaciones están en estado adulto. Lindo (2007), quien realizó un estudio por la UNAN-León, para obtener la Validación del Método Uso de Algodón en plantaciones de *Cedrela* y *Swietenia*, cita que el ataque es menos frecuente en el bosque natural en donde los arboles hospederos son pocos o muy esparcidos de manera que nunca se desarrolla una alta acumulación de insectos y menos frecuente en la sombra que bajo el sol.

La densidad de la población varía considerablemente. Río San Juan, Nicaragua, tiene una densidad de un árbol de *C. odorata* por 100 ha (Convención sobre el Comercio

Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestres, 2007), Veases **figura 3**. Actualmente existen 2,3 has de ensayos con 47 descendencias de una sola procedencia, Bella Vista, Chinandega. El objetivo principal es investigar la posibilidad de disminuir el daño ocasionado por *Hypsiphilla grandella* a través de selección de genotipos de resistentes a tolerantes de esta plaga. Según los resultados se pueden considerar en el futuro el establecimiento de huertos semilleros y la conservación de este material.



**Figura 2.** Distribución potencial de: *C. odorata* en Centro América



**Figura 3.** Distribución de poblaciones de *C. odorata*. Dato de mapa 2011. Tomado de Cite this page: Tropicos.org. Missouri. //MapsGoogle.aspx-?mapid=391719. Botanical Garden. 10 Mayo 2011

### 3.3. Estructura genética de la planta

Patiño (1997), cita que la estructura genética de una especie está definida por la forma y la magnitud en la cual la variación genética se distribuye entre y dentro de sus poblaciones. La mayoría de las especies forestales tal es el caso de *Cedrela odorata* predomina el sistema de cruzamiento de polinización cruzada, lo que les confiere una amplia diversidad genética, debido a la mayores probabilidades de recombinación genética. También favorece el flujo genético, entre poblaciones, la cual evita la diferenciación entre ella. Sin embargo, varios factores puede modificar el patrón de cruzamiento, como la estructura demográfica y el tamaño de la población.

La distribución de la variación genética está influenciada por varios factores, que son: tamaño efectivo de cruzamiento, la forma de dispersión de semillas y el tipo de comunidad donde la especie es frecuente, biología reproductiva, tipo de cruzamiento (autofecundación o reproducción cruzada), o dispersión de polen y semillas (por el viento, por animales, por insectos, por gravedad), (Flores, 1990). También influye si la planta es perenne o anual, el porte de la misma, si es arbórea o arbustiva, y la distribución de la especie, es decir, si está ampliamente distribuida o si presenta una distribución restringida (endémica). Así, las especies alógamas (con reproducción cruzada), generalmente, presentan una mayor diversidad genética que las especies autógamias (con autofecundación), ya que la reproducción cruzada genera variabilidad genética, produciendo una mayor diversidad genética intrapoblacional (González & Sosa, 2002).

Flores, (1990) afirman que la estructura genética de las especies vegetales y de sus poblaciones está determinada en parte por las características del nicho ecológico en el cual se desarrollan, definiéndolo como el conjunto de condiciones del ambiente que permite la sobrevivencia de una población en estrecho contacto con ese ambiente. A su vez, Pennington (1981), indica que a pesar de la aparente indefinición genética, las especies se mantienen como tales, debido a sus relativas diferencias morfológicas y a los diferentes ambientes ecológicos en los que crecen en su rango de distribución.

### **3.4. Mejoramiento Forestal**

El mejoramiento genético forestal se define como el proceso de identificación y desarrollo de poblaciones genéticamente superiores de especies forestales, y el uso de estas poblaciones como fuentes de semilla (u otro material propagativo) para establecer plantaciones mejoradas (Jara, 1998).

Martínez & Ochoa (2010), señalan que la fuente de semillas guarda una gran importancia, llegándose al grado de que los programas más exitosos de mejoramiento genético forestal son aquellos que inician utilizando procedencias y fuentes de semillas más adecuadas, por lo que el establecimiento de rodales y huertos semilleros, ensayos de procedencias y progenies cobran relevante importancia.

Un rodal semillero ya sea en plantaciones o en el bosque natural, es definido como un grupo de árboles de la misma especie, donde predominan árboles fenotípicamente aceptables y donde han sido eliminados los ejemplares morfológicamente no deseables, el cual es manejado técnicamente para aumentar la cantidad y calidad de las semillas producidas. A través de este medio, se logrará a corto plazo satisfacer las necesidades de semillas, mejorando su calidad genética y reduciendo costos de recolección. Todo programa de reforestación debe considerar esta etapa fundamental, con el propósito de obtener el material genético a corto plazo mientras los programas de mejoramiento aportan los resultados para establecer sistemas más avanzados y sofisticados, que suministren semillas de mayor calidad y productividad (Orantes *et al.*, s.f.)

En cambio, los huertos semilleros se definen como un área donde se establecen y manejan fenotipos o genotipos superiores en forma extensiva y completa para obtener semillas. Los huertos según su función pueden ser de producción que son exclusivos para producción de semillas, o de mejoramiento que constituye el elemento central en los programas de mejoramiento a largo plazo (Martínez & Ochoa, 2010).

Estos mismos autores definen un ensayo de procedencias como un experimento en el cual las semillas son recolectadas de una serie de sitios muy dispersos y se establecen las plántulas en condiciones similares, en cambio, con los ensayos de progenie se estiman el valor genético de los árboles progenitores con base en el comportamiento de su descendencia. Dvorak (2001), cita que se establece un ensayo de

procedencia para determinar cuál fuente semillera es más adaptable y crece mejor y los ensayos de progenie son semejantes a las pruebas de procedencia en su concepto, pero están diseñadas para mantener las semillas separadas según el árbol madre.

La naturaleza ha creado la variación necesaria para utilizarla como materia prima en los programas de mejoramiento genético forestal. Si no se diera la variación en la adaptación a condiciones ambientales, en la velocidad de crecimiento, en las propiedades físicas de la madera o en la resistencia a plagas o enfermedades, prácticamente sería imposible producir genotipos con crecimiento acelerado, bien adaptados a las condiciones ambientales y resistentes a las plagas o enfermedades. En otras palabras sin variación no habría mejoramiento genético ya que dicha variación posibilita que a través de la selección, se pueda modificar positivamente o sea mejorar las características deseables de una población. La importancia del estudio de la variación natural estriba en la necesidad de sentar las bases de cualquier plan que pretenda mejorar genéticamente las poblaciones naturales de árboles, o bien para establecer algún programa de introducción de especies y colonizar con éxito nuevas áreas, e incluso para la conservación de recursos genéticos (Martínez & Ochoa, 2010).

### **3.5. Fuente y Ventaja de la Variabilidad genética en especies forestales.**

Las fuentes de la diversidad genética son: la meiosis y la mutación. Las mutaciones que ocurren al azar a lo largo de millones de años son la fuente última de la variabilidad genética de las poblaciones de organismos que existen hoy en día. Sin embargo, la variabilidad genética de una generación a la siguiente en una especie, depende de la meiosis (Audesirk et al., 2003).

La diversidad y la variabilidad genéticas son términos alternativos para representar la variación genética. Se sugiere que diversidad sea utilizada para indicar la sumatoria de la información genética potencial conocida y desconocida, y la variabilidad para indicar una porción de la diversidad capturada o disponible (Frankham *et al.*, 2002).

La diversidad genética es la variedad de alelos y genotipos presentes en un grupo bajo estudio (población, especie o grupo de especies) (Frankham *et al.*, 2002). Es el resultado de una serie de procesos en el tiempo y en el espacio como la selección natural, la mutación, la migración, la deriva genética y la recombinación (solos o en conjunto). Estos fenómenos ocasionan cambios en las frecuencias génicas y genotípicas, lo que conduce a la evolución de las poblaciones (IPGRI & Cornell University, 2003).

Según Ramanata & Hodgking (2002) y Bird & Molinelli (2001), la diversidad genética es la base para la selección de variedades sobresalientes, es la que hace que algunas especies de plantas y animales presenten diferentes propiedades fisiológicas (resistencia a factores abióticos como temperatura extrema, sequía, cambios en la disponibilidad de alimento o a factores bióticos como enfermedades, plagas y otros). Estos mismos autores afirman que mientras mayor diversidad genética posea una especie, mayor será su capacidad de adaptación a distintas condiciones, por lo que, una especie que exhibe poca diversidad genética es más vulnerable a la extinción.

Las especies arbóreas forestales son normalmente organismos de vida prolongada, muy heterocigóticos, que han desarrollado mecanismos naturales para mantener unos altos niveles de variación intraespecífica, como altas tasas de cruzamiento lejano y la dispersión de polen y semillas sobre extensas áreas. Estos mecanismos, combinados con ambientes naturales que son con frecuencia variables, tanto en el tiempo como en el espacio, han contribuido a la evolución de las especies

arbóreas forestales hacia algunos de los organismos existentes más variables genéticamente (Amaral *et al.*, 2007).

A pesar de esto, casi en todas partes existen amenazas para la integridad de los recursos genéticos forestales debido a innumerables causas. Las mayores amenazas incluyen la deforestación, la conversión de los bosques en tierras para la agricultura, el cambio de uso de las tierras para el asentamiento de poblados urbanos, la utilización inapropiada del bosque y de sistemas de manejo, la contaminación y los desastres naturales como las inundaciones o las sequías, actualmente acrecentado por los efectos del cambio climático global, así como la circulación indocumentada e incontrolada del germoplasma forestal. Otra causa subyacente es la pobreza y desigualdad que genera mayor presión sobre los recursos naturales debido a que no se les brindan alternativas de usos de las tierras amigables con el ambiente a través de la capacitación, educación y recursos financieros (INRENA, 2005).

Patiño *et al.*,(1997), señala que la principal causa de que la diversidad genética en los bosques tropicales se está perdiendo rápidamente es el proceso de deforestación; la cual ha reducido el tamaño de las comunidades naturales de árboles existentes, eliminado poblaciones locales, o las ha fragmentado.

IPGRI & Cornell University, 2003, consideran que la fragmentación de los bosques tiene tres efectos principales:

1. Reducción de la cantidad de árboles individuales.
2. Reducción del tamaño de la población porque los árboles se encuentran limitados a fragmentos silvícola más pequeños.
3. Aislamiento espacial de las poblaciones e individuos remanentes en matrices de uso no silvícola de las tierras.

Sin embargo, que tales cambios tengan lugar, y su amplitud, dependerá en gran medida del grado de aleatoriedad de la deforestación, y si la fragmentación física del bosque se refleja en la segregación del bosque remanente en manchas aisladas genéticamente. La fragmentación de los ecosistemas naturales puede tener consecuencias obvias como la eliminación de las especies, pero también producir efectos menos inmediatos en la viabilidad de las especies a largo plazo a causa de la modificación de los procesos ecológicos y genéticos entre y dentro de las poblaciones (FAO/PNUMA, 1984).

Un efecto del aumento de la fragmentación es que los individuos que quedan en las poblaciones tienden a incrementar el grado de endogamia dado que aumentan los cruces entre individuos emparentados (depresión por consanguinidad) así como también las autofecundaciones. Por consiguiente se reduce el fitness de los individuos (sobrevivencia y reproducción) y se acumulan mutaciones deletéreas (Frankham *et al.*, 2002). La reducción del éxito de los individuos a causa de la depresión por consanguinidad se debe básicamente al efecto de alelos deletéreos recesivos que se expresan en la homocigosis, afectando a todos los componentes del ciclo vital, y a la dinámica de las poblaciones fragmentadas reduciendo la tasa de cambio poblacional e incrementando la probabilidad de extinción (Charlesworth & Charlesworth, 1999).

La pérdida de ecosistemas y hábitat tiene consecuencias directas sobre los procesos ecológicos que generan pérdida de especies y de genes. La pérdida de la diversidad de especies tiene un mayor impacto debido a que genera también la pérdida de la biodiversidad genética. Cálculos realizados de extinción de especies, indican que se está produciendo entre 1,000 – 10,000 veces más rápido que las tasas básicas a lo largo de la época geológica, es decir parece que nos acercamos a un período de “extinciones masivas” inducidas por los humanos. Esta advertencia la sustenta el hecho que más del

12% de las plantas que florecen, por lo menos el 10% de los árboles están actualmente amenazados de extinción (INRENA, 2005).

En Nicaragua, la causa principal de la deforestación ha sido el avance de la frontera agrícola y la ganadería; pero a través del tiempo nuevos problemas han surgido que han agudizado el problema y contribuido a la degradación y destrucción del recurso forestal, entre los que están: tenencia de la tierra, población en continuo crecimiento, sobreexplotación forestal; incendios forestales naturales y provocados por mal uso en prácticas agrícolas; y desastres naturales (por la posición geográfica Nicaragua es susceptible de ser azotada por huracanes y tormentas tropicales). Aún así, la demanda por madera y otros productos ambientales siguen aumentando. (FRA, 2000).

Según datos del MAGFOR del 2001, Nicaragua es uno de los países de Centroamérica con mayor reserva forestal, con aproximadamente 3,8 millones de ha, de las cuales, 1,6 millones son productivas. Además, Nicaragua es un país que, de acuerdo al uso potencial de la tierra, demuestra que el 73% de los suelos del territorio nacional son de vocación forestal (8.8 millones ha). En 1983 se estimó una cobertura de bosque latifoliado cerrado y abierto de 6,8 millones ha (89% de la cobertura de bosques) y bosque de pinos cerrado y abierto de 0,8 millones ha (11% de la cobertura de bosques), para una extensión total de bosques de 7,6 millones ha. En el año 2000 la cobertura de bosques del país se estimó en bosques de latifoliados cerrados y abierto en 5,1 millones ha y bosques de pinos cerrados y abiertos en 5,1 millones ha (PANIC.2001/ citado por Franklin *et al.*, 2007).

En Nicaragua la vegetación ha sufrido una vasta deforestación producto de la colonización agrícola, el aprovechamiento de los bosques sin control, y la expansión de la ganadería extensiva. Como consecuencia de la deforestación y fragmentación de los bosques, hoy en día muchas regiones de Nicaragua han sido transformadas a

agropaisajes. Estos agropaisajes generalmente son dominados por una matriz de potreros o cultivos anuales, pero aún retienen alguna cobertura arbórea dispersa en forma de pequeños parches remanentes de bosques, franjas angostas de bosques ribereños ("riparios") y árboles dispersos (Stevens, 2001).

"El Plan Ambiental de Nicaragua 2001-2005", señala que en el 2001 aproximadamente 2.5 millones de hectáreas de áreas forestales se encontraban desforestadas y estaban siendo utilizadas para producción pecuaria extensiva o abandonadas o con arbustos y gramíneas mezcladas (PANIC, 2001).

Esta pérdida de biodiversidad es difícil de cualificar; sin embargo, se puede enfatizar que Nicaragua por razón de sus recursos naturales, en este caso particular los recursos forestales, tiene grandes potencialidades de desarrollo de actividades económicas basadas en este a decir, turismo, extracción sostenible, servicios y bienes ambientales. No obstante, con la explotación no-planificada, sin verdaderos y eficaces controles, este potencial se va perdiendo cada año, reduciendo así su sostenibilidad (PANIC.2001/ citado por Franklin *et al.*, 2007).

Las acciones que ha emprendido el país no han detenido ni revertido el proceso de deforestación, el mecanismo tradicional de aprovechar el bosque ha sido sobre la base de la extracción de los árboles más valioso, sin preocuparse del valor futuro del recurso. El mayor uso del bosque es la tala de maderas preciosas, principalmente caoba y cedro real. No hay otra valoración del bosque, ni de los productos que de este se deriva. El factor más complejo de la deforestación es el avance de la frontera agrícola, agravando por la poca acción económica de las que dispone el campesinado, lo cual ha dejado como resultado, suelo de alta productividad forestal con un uso agropecuario insostenible y graves pérdidas económicas al país por el nulo aprovechamiento del recurso.

Otro de los principales problemas del sector son los incendios forestales. Estos han tradicionalmente una influencia negativa con relación al manejo de la cobertura forestal. En el plan se reporta que entre 1989 al 2001 se registraron unos 119,634 incendios. Los que afectaron unos 5 millones 140 mil 107 hectáreas, con un promedio de 7 mil 976 incendios por años, y que durante el periodo de diciembre de 97 a mayo de 98 se sucedieron 15,196 incendios forestales (PANIC, 2001).

La reforestación es esencial para satisfacer esta demanda y aliviar la presión sobre los bosques naturales que aún queda en la región. Sin embargo si no se utiliza en la reforestación semilla de calidad genética adecuada, tales esfuerzos están destinados, en gran parte, al fracaso. De la misma manera si la semilla no proviene de la mejor fuente disponible, se perderá una proporción importante de la productividad potencial de las plantaciones.

Lo anterior pone de manifiesto el riesgo en el que se encuentran los bosques tropicales y sus recursos genéticos, especialmente de las especies de interés económico como *C. odorata*, lo que justifica la necesidad de conocer a fondo la diversidad genética de esta especie, en sus diferentes niveles, para aprovecharla en las tareas de manejo, mejoramiento, fomento y conservación.

## **3.6. Marcadores genéticos**

### **3.6.1. Definición**

Un marcador genético es un segmento de ADN con una ubicación física identificables en un cromosoma y cuya herencia se puede rastrear en una familia. A menudo son utilizados como una forma indirecta de rastrear el patrón hereditario de uno o más genes. De esta manera, una diferencia, bien sea fenotípica o genotípica,

puede actuar como marcador genético si identifica en un individuo características del genotipo, del fenotipo, o de ambos y si además, puede hacerse seguimiento a su herencia a través de varias generaciones (IPGRI & Cornell University, 2003).

La importancia de los marcadores radica en que ofrecen la posibilidad de estudiar poblaciones de organismos y seleccionar aquellos que presentan rasgos de interés para el hombre. En ocasiones, el uso de marcadores permite seleccionar los individuos aun antes de que expresen el rasgo de interés. Gracias al empleo de marcadores ha sido posible mejorar muchas especies que son la base de la alimentación del mundo (Solís & Andrade, 2005)

### **3.6.2. Clasificación**

Existen diferentes tipos de marcadores genéticos con diversos grados de complejidad, según IPGRI y Cornell University (2003), se clasifican en: marcadores morfológicos y marcadores moleculares; estos últimos se subdividen a su vez en marcadores bioquímicos y marcadores de ADN.

### **3.6.3. Marcadores morfológicos**

Franco & Hidalgo (2003), señalan que a través de la historia el hombre ha dependido de las plantas para su supervivencia. Las plantas en su estado natural tienen una dinámica evolutiva y están continuamente produciendo variabilidad. Tanto la variabilidad visible como la no-visible han sido usadas por el hombre para identificar, estudiar y utilizar las especies vegetales. A través de los cuales el hombre se interesó progresivamente por la variabilidad existente en las especies vegetales.

Según estos autores las características morfológicas de las plantas han sido utilizadas por el hombre desde el momento en el cual comenzó a recolectar semillas y a

seleccionar especies vegetales que le podían servir para satisfacer sus necesidades básicas. Así, mediante la identificación de características claves como colores, formas, olores y texturas le fue posible inferir sobre los usos potenciales de una especie en particular. El proceso de domesticación de la gran mayoría de las especies cultivadas que hoy se conocen tuvo una duración superior a 10,000 años y durante ese tiempo se acumuló una gran cantidad de variantes genéticas en cada especie, las cuales es posible diferenciar en forma visual por sus características fenotípicas. A medida que se fueron seleccionando cada vez más especies útiles y muchas de sus variantes genéticas, se acumuló información valiosa que fue transmitida por generaciones, especialmente en aquellas culturas establecidas en los centros de origen y domesticación de cultivos.

Franco & Hidalgo (2003) también afirman de que todos los genes cumplen determinadas funciones y sus efectos pueden o no expresarse en características identificables de forma visual. Esto quiere decir que hay una variabilidad que se puede detectar a simple vista y otra que, aunque no es visible fácilmente, también existe en la especie pero que requiere de técnicas especiales para ser detectada. Por ello, es primordial identificar cuál es el nivel de variabilidad que se intenta medir o describir con el fin de elegir las herramientas o métodos estadísticos adecuados para analizar los datos resultantes de un estudio de caracterización.

Según estos autores la caracterización de la variabilidad detectable visualmente se puede dividir en los tipos siguientes:

1. Las características responsables de la morfología y la arquitectura de la planta utilizadas en un principio para la clasificación botánica y taxonómica, aunque en muchas de ellas se pueden encontrar variantes.
2. Una serie de características relacionadas especialmente con aspectos de manejo agronómico y de producción de la especie que son de interés para mejoradores y

agrónomos. En la mayoría de los bancos de germoplasma de programas existentes actualmente se hace una caracterización morfo agronómica en la que se fusionan estos dos primeros tipos.

3. Un grupo de características detectables visualmente que sólo se expresan como reacción a estímulos del medio ambiente. Estos pueden ser biótico como plagas y enfermedades; o abióticos como sequías, deficiencias de minerales y cambios en temperatura, entre otros. Este tipo de caracterización se denomina evaluación y para su correcta cuantificación, generalmente, se requieren diseños experimentales separados de la caracterización morfoagronómica.

Los marcadores morfológicos que son distinguibles por observación directa han sido utilizados como marcadores de la diversidad y reflejan el genoma y sus regulaciones biológicas y medioambientales. Estas características son raramente monogénicas y casi siempre resultan de la interacción de varios genes, además, presentan la ventaja esencial de estar disponibles en gran cantidad, no requieren de sofisticados sistemas de medición y son registrados directamente en el campo. La posibilidad de contar con gran número de caracteres y repeticiones ayuda en el tratamiento analítico

Los caracteres morfológicos han sido muy usados para la identificación de especie, familias y géneros de plantas. Además, las características morfológicas y su etnobotánica han sido el tema de numerosos estudios en genética de poblaciones y agricultura, donde la resistencia a plagas y enfermedades y el rendimiento han sido factores importantes (Franco & Hidalgo, 2003).

Diferentes niveles de variabilidad pueden ser estimados usando caracteres morfológicos. Su respuesta a la selección y sus antecedentes genéticos pueden ser

determinados; estos tipos de caracteres son usualmente dominantes y recesivos. Es así que la mayoría de las plantas cultivadas con importancia económica tiene sus patrones de identificación, caracterización y evaluación. Para llegar a estos protocolos se han realizado estudios básicos de las características en el sentido de conocer la variabilidad de los caracteres dentro y entre plantas; luego se han seleccionado aquellas características cualitativas y cuantitativas que han resultado ser más útiles para la descripción (Galván, 1966).

No obstante, el uso de marcadores morfológicos en las plantas tiene muchas limitantes, pues su expresión puede estar sujeta a factores ambientales o fenológicos; por ejemplo la presencia o ausencia de espinas en los cítricos. Con frecuencia estos marcadores solo es posible evaluarlos a nivel de toda la planta y cuando esta llega a su estado adulto. Para la gran mayoría de árboles tropicales esto significa una espera, no deseable, de varios años. Además, pueden ocurrir cambios epigenéticos que limitan el número de marcadores que pueden ser evaluados sin equivocación en la población segregante (Phillips *et al.*, 1995).

Las principales limitaciones de los marcadores morfológicos se encuentran en:

1. Número reducido de marcadores disponibles en cada población.
2. Bajo nivel de polimorfismo.
3. Pueden producir alteraciones fenotípicas que dificultan el desarrollo de la planta.
4. Hallan bajo control poligénico.
5. Dominancia.
6. Muchos de ellos se expresan en estadio de planta adulta, lo cual prolonga los tiempos de evaluación en los programas de mejoramiento.

No obstante, los marcadores morfológicos permanecen como caracteres útiles en la identificación de materiales dado que representan un conjunto de genes que pueden ser evaluados con métodos sencillos y a bajo costo (Phillips *et al.*, 1995).

Aunque existen otras poblaciones naturales de *Cedrela odorata* L., en nuestro país, estas no fueron incluidas por no haber suficiente presupuesto y por limitaciones de tiempo, solo se tomaron 4 caracteres vegetativos o se analizaron características morfológicas reproductivas. Debido a esto las poblaciones muestreadas fueron seleccionadas en base a que estuvieran a menos de 150 km de la ciudad de León. Para realizar análisis genéticos preliminares con datos morfológicos, que de una idea de la información genética de esta especie obtenida de estos rasgos. Las variables que se tomaron fueron:

Diámetro a la altura del pecho (DAP) lo que permite conocer el comportamiento de la especie en particular en relación a la unidad de hábitat que ocupa o bien como su comportamiento en relación a su desarrollo estructural horizontal. El diámetro es la variable que está más relacionada con la productividad o volumen para un árbol específico.

Altura ( $H_p$ ): define como la altura estimada del tronco de un árbol desde el suelo hasta el comienzo de la copa. Las variables de crecimiento, objeto de medición más común en un árbol con el fin de calcular su volumen.

Diámetro de cobertura ( $D_c$ ): es la proporción de área ocupada por la proyección vertical hacia el suelo desde las partes aéreas de una planta

Altura del fuste ( $H_p$ ): también llamada altura comercial, es la altura tomada desde la base del árbol hasta la base de la copa; generalmente se distingue la base de la copa con las primeras ramas (García, 2003).

### 3.6.4. Marcadores moleculares

Se puede considerar que cualquier molécula, orgánica o inorgánica, que sea característica de un organismo o proceso sea un marcador (Azofeifa-Delgado, 2006). En el área de los recursos genéticos los marcadores moleculares han provisto de información relevante en áreas claves de la conservación y caracterización de germoplasma (Otero *et al.*, 1997). De hecho estos autores afirman que la rápida identificación de la extensión de la variación genética dentro y entre poblaciones usando marcadores moleculares, es de valor para las actividades de conservación genética y para el desarrollo de poblaciones mejoradas.

Los marcadores moleculares se han utilizado o se pueden utilizar en los siguientes aspectos de la mejora de plantas: estimación de la distancia genética entre poblaciones, variedades, líneas puras e híbridos; identificación y distinción de variedades e híbridos para proteger los derechos del obtentor vegetal en el registro de variedades protegidas de cada país; establecimiento de relaciones de parentesco entre líneas de variedades, para realizar estudios genéticos; localización e identificación de genes cualitativos o mayores y también de genes con efectos pequeños que afectan caracteres cuantitativos (Azofeifa-Delgado, 2006).

#### 3.6.4.1. Marcadores bioquímicos

Los marcadores bioquímicos incluyen a las proteínas y las isoenzimas (o aloenzimas) y constituyen la primera generación de marcadores moleculares. El término de isoenzima fue acuñado por Markert & Möller (1959) para referirse a las diferentes formas moleculares de una enzima con afinidad por un mismo sustrato, y que se hallan presentes dentro de un mismo organismo. Las proteínas son los productos primarios de

los genes y se forman mediante los procesos de transcripción y traducción, por lo que se ven menos influenciados por el ambiente. Existen diferentes variantes moleculares de una misma enzima presentes en una especie, las cuales desempeñan la misma actividad pero pueden tener diferentes propiedades (Solís & Andrade, 2005).

Las isoenzimas son marcadores bioquímicos más eficientes que los descriptores morfológicos, ya que por lo general, permiten distinguir genotipos homocigóticos de los heterocigóticos, pues una de sus características es la de presentar **codominancia**. Estos marcadores son detectados a través de la técnica denominada **electroforesis** (Markert & Möller, 1959). La técnica de electroforesis de isoenzimas es rápida, relativamente económica y proporciona un buen número de marcadores los cuales son menos afectados por el ambiente que los descriptores morfológicos (Ramírez, 2003). Solís *et al.*, (2001). Los marcadores bioquímicos son un buen complemento de los marcadores morfológicos. El uso de las isoenzimas como marcadores se debe a que están libres de asociaciones deletéreas o efectos epistáticos/pleiotrópicos los cuales caracterizan a los marcadores morfológicos.

Forrest (1994), menciona que las isoenzimas han probado ser de gran valor en estudios de mejoramiento tanto en poblaciones naturales como en plantaciones de árboles y mantienen cierto valor de utilidad, especialmente en estudios a gran escala de estructura poblacional y en relación con la resistencia a plagas y enfermedades.

#### **3.6.4.2. Marcadores de ADN**

El análisis molecular de la variabilidad del ADN permite determinar puntos de referencia en los cromosomas que puede o no corresponder a un gen. Los marcadores de ADN constituyen la otra generación de marcadores moleculares y solucionaron el problema de la carencia de marcadores que tenían las isoenzimas, pues son capaces de generar una cantidad virtualmente infinita de marcadores. Los marcadores de ADN son

secuencias genómicas localizadas en un mismo locus pero que difieren en su secuencia de bases nitrogenadas. Esas variaciones, como ya se mencionó, son consecuencia de varios eventos de mutaciones que se manifiestan en los genomas que se comparan (Tonon *et al.*, 2002).

Pueden provenir de un **fragmento específico de ADN** (correspondiente a regiones expresables o no del genoma) y detectan la variabilidad directamente a partir de la secuencia del ADN, basándose ya sea en el uso de enzimas de restricción o en la técnica de PCR (Rafalski *et al.*, 1996). El uso de marcadores de ADN en los análisis genéticos y en el mejoramiento de las plantas sobre todo los basados en la técnica PCR (Solís & Andrade, 2005).

#### **3.6.4.2.1. PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa)**

La PCR (del inglés "PolimeraseChainReaction"), es un método poderoso de síntesis de ADN in vitro desarrollado por Kary Mullis en la Corporación Cetus. Desde su introducción en 1985, la técnica ha revolucionado la biología molecular y es usada virtualmente en todas las áreas de las ciencias naturales y medicina (Surzycki, 2002 & Erlich *et al.*, 1991).

La PCR es un método rápido y sencillo (automatizado) que utiliza una ADN polimerasa termoestable (obtenida de bacterias que habitan en aguas termales), para resistir las altas temperaturas a las que se somete la muestra. También se requiere de un par de cebadores (oligonucleótidos) que posean complementariedad de bases con los extremos del fragmento de ADN que se quiere amplificar. La reacción se lleva a cabo en un aparato llamado termociclador programado con el número de ciclos y temperaturas requeridas (Watson *et al.*, 1991).

La amplificación *in vitro* de ADN se logra en tres pasos básicos, según lo descrito por Erlich et al. (1991):

Primer paso: **Desnaturalización**. Para que comience la reacción es necesario que el ADN molde se encuentre en forma de cadena sencilla (Watson et al., 1991). Esto se consigue aplicando temperaturas de 90 a 95°C por unos minutos, produciendo la ruptura de los puentes de hidrógeno intercadenarios y por lo tanto la separación de ambas cadenas.

Segundo paso: **Hibridación**. Esta fase se denomina también fase de "annealing" o de emparejamiento. Una vez que el ADN está desnaturalizado se disminuye la temperatura hasta un rango comprendido entre los 37 y los 65°C para que se pueda producir la unión de los cebadores por complementariedad de bases a las secuencias flanqueantes del fragmento que se va a amplificar.

Tercer paso: **Extensión o Elongación**. Durante este paso la Taq polimerasa incorpora nucleótidos en el extremo 3' del cebador utilizando como molde la cadena de ADN previamente desnaturalizada. La temperatura a la que se lleva a cabo este paso suele ser de 72°C ya que es la temperatura a la que la Taq polimerasa alcanza su máxima actividad.

Ciclos repetitivos de desnaturalización del ADN molde, la hibridación de los cebadores y la extensión por la Taq polimerasa resulta en la amplificación del fragmento de ADN de interés. El producto de la extensión de cada cebador puede servir como molde para el otro cebador resultando en la duplicación de la cantidad del fragmento de ADN en cada ciclo. El resultado es un incremento exponencial en la cantidad del fragmento de ADN específico definido por los extremos 5' de los cebadores. La longitud de los productos generados durante la PCR es igual a la suma de las longitudes de los

dos cebadores, más la longitud del ADN blanco entre los cebadores (Surzycki, 2002).

### 3.6.4.2.2. RAPD (ADN Polimórfico Amplificado al Azar)

Esta técnica fue descrita por primera vez en 1990 por dos grupos de investigadores independientes Williams *et al.*, (1990) y Welsh & McClelland (1990). Phillips *et al.*, (1995), mencionan que en esencia es la misma metodología PCR, por lo que a veces se le refiere con este nombre.

La modificación que les dio origen consistió en sustituir en la tecnología PCR, el uso de un par de cebadores cuidadosamente diseñados y un poco largos, por un solo cebador corto, de alrededor de 10 nucleótidos de longitud y de secuencia arbitraria, con la capacidad de unirse a regiones específicas en el genoma (Waugh & Powell, 1992). En el análisis PCR los dos cebadores son usados para amplificar una secuencia específica del genoma, y en el análisis RAPD, el cebador se usa para amplificar secuencias al azar de un patrón complejo de ADN (Phillips *et al.*, 1995).

Según Phillips *et al.*, (1995), el análisis RAPD que genera un número inmenso de marcadores requiere de cinco elementos básicos para realizar la reacción PCR:

- 1). **ADN molde:** ADN proveniente de la muestra a analizar.
- 2). **El cebador:** que es un oligonucleótido, con la propiedad de localizar y unirse a sitios complementarios del ADN desnaturalizado. Debe tener un contenido de al menos un 50% de guanina-citosina para funcionar correctamente.
- 3). **Desoxirribonucleótidos:** se requiere de concentraciones adecuadas de dATP, dGTP, dCTP y de dTTP para la síntesis de la cadena.

- 4). **Solución buffer (Solución "tampón"):** las soluciones deben contener concentraciones óptimas de iones potasio y magnesio y ser calibrada a un pH de 8,4.
- 5). **Taq-polimerasa:** es una enzima ADN polimerasa ADN dependiente termoestable. Tiene la propiedad de restituir la doble cadena de ADN usando una cadena simple como molde a partir de un punto determinado, fijado en este caso, por el cebador.

La eficiencia de los marcadores RAPDs puede estar influenciada por varios factores, entre ellos, el número de ciclos de amplificación, la cantidad de ADN inicial, la longitud del ADN, el cebador y la temperatura (Phillips *etal.*, 1995).

Parker *etal.*, (1998), reporta que como los cebadores son usados solos, no en combinación con un segundo cebador como sería el caso para la PCR estándar, debido a esto, los fragmentos amplificados son regiones del genoma que están flanqueadas por el cebador.

Como regla general, los productos de amplificación representan un alelo por locus. En los estudios de herencia, los productos de la amplificación RAPD se comportan como marcadores dominantes. Los polimorfismos se denominan marcadores RAPD y pueden resultar de cualquier cambio en la secuencia o sitio de unión del cebador (mutación puntual), lo cual impide que el cebador se una a la cadena, o también pueden ser el producto de cambios por inserciones o deleciones en las regiones amplificadas que alteren el tamaño o impidan la exitosa amplificación del ADN molde (Waugh & Powell, 1992).

Se consideran bandas polimórficas las que están presentes en un individuo, pero ausentes en otro o tomando en cuenta el criterio de que un locus es polimórfico si la frecuencia del alelo más raro en el total de muestras analizadas es superior a 0.05

(Puertas, 1999), o igualmente si el alelo más común tiene una frecuencia que no supera el 0.95 (Fontdevila & Moya, 1999).

Entre sus características además de su naturaleza dominante, está su omnipresencia, que presentan herencia mendeliana simple, que detectan un nivel de polimorfismo alto aunque no variantes alélicas. Son capaces de detectar de 1-10 loci. Están presentes en todos los tejidos. El nivel de dificultad técnico es bajo y su confiabilidad es de intermedia a alta (aunque existe un gran debate acerca de esto)(Waugh & Powell, 1992).

Debido a que la PCR está involucrada, solo se requieren bajas cantidades de ADN, usualmente 5–50 ng por reacción. Como se mencionó anteriormente, no es necesario conocer la secuencia complementaria de los cebadores. Los RAPDs tienen una abundancia geonómica muy alta y están aleatoriamente distribuidos a través del genoma (Spooner *et al.*, 2005). Otras ventajas son el costo relativamente bajo (\$ 2.00 por muestra por cebador usado). Normalmente, uno puede visualizar más de 40 muestras por gel de agarosa con un cebador; y con miles de combinaciones de cebadores, se puede rápidamente visualizar tantos loci como los que se requieran para cálculos con propósitos de diversidad o filogenia (Namkoong & Koshy, 2001).

Con respecto a sus aplicaciones, los RAPDs han sido usados para muchos propósitos, desde estudios a nivel individual (por ej. identidad genética) a estudios entre especies cercanamente relacionadas (Spooner *et al.*, 2005). Así mismo, esta tecnología ha sido utilizada para catalogar frutos, seleccionar variedades, diferenciar líneas clonales y analizar variedades, como por ejemplo en apio, uva, limón y olivo (Huertas, 2004). En especies forestales se reportan una gran cantidad de estudios de diversidad genética realizados con esta técnica, entre ellos los realizados en *Eucalyptus globulus* (Nesbitt *et al.*, 1997), *Digitalis obscura* (Nebauer *et al.*, 1999), en *Pinus leucodermis* (Bucci *et al.*,

1997) y *Pinus oocarpa* (Díaz *et al.*, 2001). En el Laboratorio de Genética Molecular de la UNAN-León, se han realizado estudios de variabilidad genética con esta técnica en *Jatropha curcas* (Picado, 1997; Williams & Ramos, 2000) *Sabal mexicana* (Guido, 2005), *Pachiraquinata* (Dolmus & García, 2006), *Musa sp.* (Reyes & Ríos, 2006), *Pinus tecunumani* (Cerdeña, 2007) y *Cedrela odorata* (Tijerino 2009).

## IV. MATERIALES Y MÉTODOS

### 4.1. Obtención de datos

Este estudio consistió en analizar estadísticamente los datos morfológicos y moleculares de 92 individuos de *C. odorata* L., correspondientes a 5 poblaciones de Nicaragua. En nuestro país este es el primer estudio de variación genética en esta especie que combina análisis morfológico con moleculares.

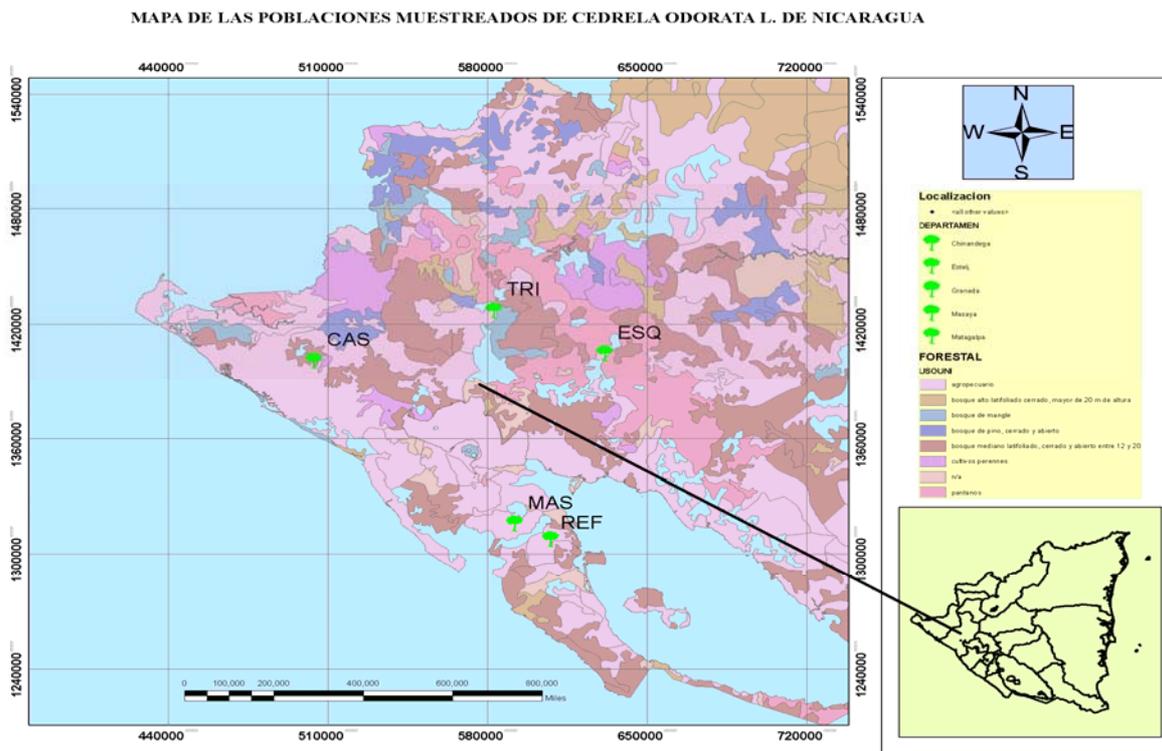
Los datos morfológicos que se analizaron fueron colectado por una sola persona, para evitar errores en los datos, involucrado en el "Proyecto Marcadores", ejecutado por medio de un convenio entre la UNAN-León y el CMG&BSF (Centro de Mejoramiento Genético & Banco de Semillas Forestales) entre julio y agosto del 2007 en las siguientes poblaciones: Volcán Casita (Chinandega), Masatepe (Carazo), Esquipulas (Matagalpa), La Trinidad (Estelí), El Refugio (en el Volcán Mombacho, Granada). Véase (Tabla 1 y Figura 4). Y los datos moleculares fueron obtenidos con la técnica RAPDs por Tijerino (2009), realizada en tejido vegetal (hojas) de las 92 muestras.

Los árboles fueron muestreados con una distancia mínima de 80 a 100 metros entre individuos. El número medio de árboles muestreados fue de 18.4 por procedencia (rango 14-22) y la distancia mínima entre procedencias fue de 18.3 Km (Tijerino, 2009).

**Tabla 1.** Información sobre las Poblaciones muestreada de *C. odorata* L. de Nicaragua (Tijerino, 2009)

|            | Departamento | Coordenadas UTM |         | Altitud | CAS | ESQ   | MAS   | REF          | TRI   |
|------------|--------------|-----------------|---------|---------|-----|-------|-------|--------------|-------|
|            |              | E               | N       |         |     |       |       |              |       |
| <b>CAS</b> | Chinandega   | 503903          | 1401105 | 789     | *   | 127.6 | 122.8 | <b>139.9</b> | 83.1  |
| <b>ESQ</b> | Matagalpa    | 631620          | 1404864 | 668     |     | *     | 97.8  | 100.4        | 53.7  |
| <b>MAS</b> | Masaya       | 591941          | 1316008 | 452     |     |       | *     | <b>18.3</b>  | 112   |
| <b>REF</b> | Granada      | 607903          | 1307855 | 350     |     |       |       | *            | 122.6 |
| <b>TRI</b> | Estelí       | 582827          | 1427319 | 629     |     |       |       |              | *     |

Volcán Casita (CAS), Esquipulas (ESQ), Masatepe (MAS), El Refugio (REF), La Trinidad (TRI). coordenadas UTM; altitud (en msnm) y distancias entre poblaciones (en Km)



**Figura 4.** Mapa de las poblaciones muestreadas de *C. odorata* L. de Nicaragua. Elaborado por la MSc. Ana Reyes Zavala.

Durante el muestreo de las poblaciones, junto con la colecta de material vegetal para obtener los datos moleculares se tomaron las mediciones de los siguientes caracteres morfológicos: las medidas se realizó utilizando una cinta diamétrica para tomar el DAP (diámetro a la altura del pecho), y con un hipsómetro para tomar la altura del árbol, para medir la altura del fuste y diámetro de cobertura se utilizó una cinta métrica, en los 92 individuos muestreados (Figura 5). Aunque existen otras poblaciones naturales de *Cedrela odorata* L., en nuestro país, estas no fueron incluidas por no haber suficiente presupuesto y por limitaciones de tiempo, solo se tomaron 4 caracteres vegetativos en este estudio para abarcar más poblaciones. Debido a esto las poblaciones muestreadas fueron seleccionadas en base a que estuvieran a menos de 150 km de la ciudad de León. Para realizar análisis genéticos preliminares con datos morfológicos, que de una idea de la información genética de esta especie obtenida de estos rasgos. También debido a que se contaba con datos moleculares RAPDs obtenidos por Tijerino (2009), se realizaron análisis estadísticos de marcadores moleculares para compararlos con los resultados morfológicos.



**Figura 5.:**(a y c) Toma de muestras vegetal, (b y d) Toma de datos morfológicos. (Fotos cortesía Proyecto Marcadores, 2007).

## 4.2. Análisis Estadístico

Dos grupos de datos se usaron para los diferentes análisis estadísticos. El grupo de datos morfológicos consistió de una matriz de  $92 \times 4$  (92 filas representando los 92 individuos muestreados y 4 columnas representando rasgos morfológicos). El grupo de datos RAPDs consistió de una matriz de  $92 \times 78$  (92 filas representando los 92 individuos muestreados y 78 columnas correspondientes al número total de loci polimórficos RAPDs). Los diferentes análisis estadísticos se hicieron en datos morfológicos estandarizados (la media de cada variable restada de los valores de los datos y dividida por la desviación estándar) y datos RAPDs no estandarizados.

### 4.2.1. Análisis Morfológicos

Con los datos morfológicos (Ver Anexo Tabla 2), se estimaron la media aritmética ( $\bar{X}$ ), el rango de variación (r), la desviación estándar (S) y el coeficiente de variación (CV) para obtener una idea general de la variabilidad del ensayo y poder detectar posibles datos no esperados y errores de medición en el ingreso de datos, entre otros.

Después de realizar el análisis exploratorio con el uso de estadísticos simples. Se hicieron gráficos de los datos cualitativos. Estas estimaciones y los gráficos se obtuvieron utilizando el paquete informático STATISTICA (1996). Además se realizó un análisis de correlación simple para determinar el grado de asociación existente entre las variables, utilizando el mismo paquete estadístico. Los valores fueron normalizados transformándolos a  $\log^{10}$ .

### 4.2.2. Análisis RAPD

Los datos moleculares RAPDs obtenido por Tijerino (2009), con 9 cebadores generaron 78 bandas polimórficas que fueron utilizadas para realizar los siguientes análisis:

#### 4.2.2.1 Diversidad Genética

La variación genética de las poblaciones por separado se estimó usando el programa PopGen 32 (Yeh & Yang, 2000), calculándose para cada población lo siguiente: número medio de alelos por locus (N), número efectivo de alelos por locus (Ne), porcentaje de loci polimórficos (P) y la diversidad genética usando los índices de:

Diversidad génica de Nei ( $H_e$ ) (1973), asumiendo que las poblaciones estaban en equilibrio de Hardy-Weinberg, además esto no puede ser investigado con RAPD por ser un marcador dominante. Ésta se calcula con la fórmula:

$$H_e = 1 - \sum_{i=1}^k x_i^2 \quad (\text{Ecuación 1})$$

Dónde:

$X_i$  = frecuencia del alelo  $i$ ;

$K$  = número de alelos.

Diversidad de Shannon ( $H_0$ ) (Shannon & Weaver, 1949) la cual se calcula con la fórmula:

$$H_0 = - \sum_{i=1}^S p_i \log_2 p_i \quad (\text{Ecuación 2})$$

Dónde:

$S$ : es el número total de especies o tipos de descriptores estudiados

$P_i$ : es la frecuencia de un fragmento RAPD (fenotipo) dado.

También se llevó a cabo un análisis de correlación de Pearson para detectar posibles relaciones entre los índices de diversidad.

#### 4.2.2.2 Partición de la Variación

Se utilizó el índice de Shannon para cuantificar la partición de la variación dentro y entre poblaciones. La diversidad dentro de poblaciones se calculó mediante la siguiente fórmula: **Diversidad intrapoblacional** =  $\frac{H_{pop}}{H_{sp}}$  (Ecuación 3)

La diversidad entre poblaciones se calculó usando la ecuación:

---

$$\text{Diversidad interpoblacional} = \frac{H_{sp} - H_{pop}}{H_{sp}} \text{ (Ecuación 4)}$$

Donde la Ecuación 3 y 4,  $H_{pop}$  es la diversidad promedio de  $H_o$  de cada una de las poblaciones y  $H_{sp}$  es la diversidad  $H_o$  de todas las poblaciones en conjunto. Por lo tanto se calcula  $H_o$  en este caso a partir de la frecuencia de cada fenotipo en el conjunto de las muestras analizadas. Obtenido estos valores se estima la proporción de diversidad dentro y entre poblaciones. La partición del total de la variación se estimó a través de los estadísticos de la diversidad de Nei (1987), usando el programa PopGen 32 (Yeh & Yang, 2000).

#### 4.2.2.3 Relaciones filogenéticas

También con el programa PopGen 32 (Yeh & Yang, 2000), se estimaron los valores de distancia genética de Nei (1978), a partir de una matriz de valores pareados de  $\theta_{st}$  (coeficiente de coancestría) cuyo datos fueron facilitados por Tijerino (2009), para generar un dendrograma, utilizando el método de agrupamiento Neighbor-Joining. A partir de la distancia de Nei (1978), se realizó también un Análisis de Coordenadas Principales (Principal Coordinates Analysis, PCo), para obtener un diagrama tridimensional. Ambos análisis se realizaron utilizando el programa NTSYS 2.20 (Rohlf, 2005).

#### 4.2.3. Comparación de variación a nivel morfométrico y genético

Los valores de las matrices de distancia morfológica, distancia genética de Nei obtenida mediante el programa PopGen, fueron transformados a distancias Euclidianas utilizando el programa STATISTICA (1996). Con éstos se construyeron dendrogramas utilizando como opción de agrupamiento ligamiento promedio (UPGMA), para comparar las distancias genéticas con la morfológicas. También se calcularon las distancias

geográficas en kilómetros entre las distintas poblaciones estudiadas construyendo una matriz que fue transformada a distancia Euclidiana con el mismo criterio anterior, para comparar las distancias genéticas con las geográficas. Estas matrices fueron utilizada para investigar si existe correlación entre las distancias genéticas, morfológicas y geográficas, mediante un test no paramétrico (test de Mantel; Mantel, 1967) de asociación de matrices. Para realizar este análisis se utilizó el programa NTSYS 2.20 (Rohlf, 2005), llevando a cabo 1000 permutaciones.

---

## V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Uno de los indicadores que representan los estados de homogeneidad y heterogeneidad genética de un individuo, población o especies es su variación; ya que en la medida que existe un mayor número de individuos diferentes existe el mayor potencial de variabilidad capaz de generar alta variación en su progenie. Esto a su vez tendrá la capacidad de poder instalarse como plántula o árboles en el futuro en un mayor número de sitios con característica física, química y biológica diferente (Landa- Alba, 2005). Dicho potencial es capaz de estimarse en las poblaciones naturales de plantas forestales como *C. odorata* a partir de datos moleculares RAPDs.

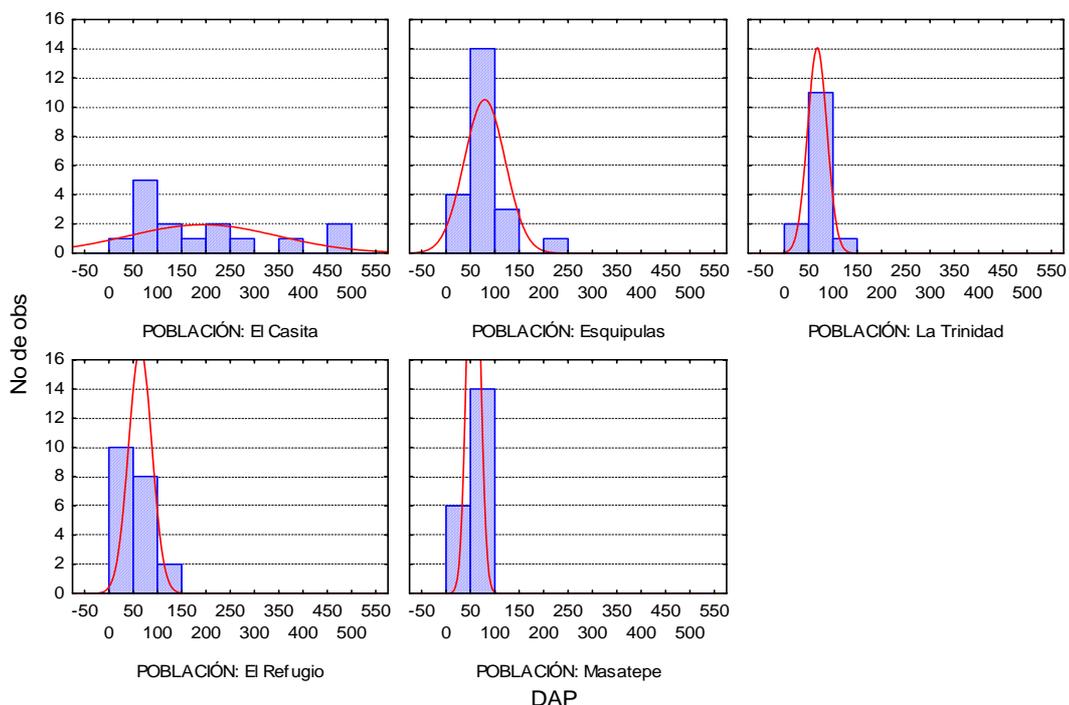
En este estudio se obtuvieron resultados en concordancia con los resultados obtenido por Tijerino (2009), en cuanto a la existencia de variabilidad genética en poblaciones de *C. odorata* analizada por ambos estudios. Estos resultados son relevantes, ya que indican claramente la importancia de implementar estrategias que permitirían conservar la variabilidad genética del cedro. Además, teniendo en cuenta el amplio rango de distribución de la especie, esto nos indica que su potencial de plasticidad y las mejores probabilidades que presenta esta especie, le permitirá adaptarse a los actuales cambios climáticos del medio ambiente. Los resultados de los análisis estadísticos tanto morfológicos como moleculares se presentan a continuación.

### 5.1. Análisis de Datos Morfológicos

Los valores medios de DAP, altura de la planta, altura del fuste y diámetro de cobertura fueron 87.32 cm, 20.01 m, 5.81 m, 16.37 m, respectivamente. De la Figura 6 a la Figura 9 se puede ver la distribución de las variables ya mencionadas por cada población. De esta forma se puede apreciar gráficamente la variabilidad existente en

cada población para cada variable analizada. Al observar las figuras 6 y 7 se puede notar que las poblaciones de El Casita, Esquipulas y La Trinidad son más heterogéneas, es decir, de que hay individuos de diferentes edades puesto a que los valores de DAP, altura de la planta son más variables; mientras que las demás poblaciones son poblaciones más homogéneas y relativamente jóvenes.

Según Farmer (1972), el tamaño de los árboles difiere según el lugar de crecimiento, y presenta una amplia variación en su carácter general, debido a la edad y a las condiciones de crecimiento de los distintos árboles. Heinrich & Lieth / citado por Flores,(1990), reportan que la variabilidad morfológica podría ser explicada por la gran variedad de microclimas y tipos de suelo que la especie ocupa.



**Figura 6.** Diámetro a la altura del pecho (DAP) de las cinco poblaciones muestreadas de *C. odorata* L.

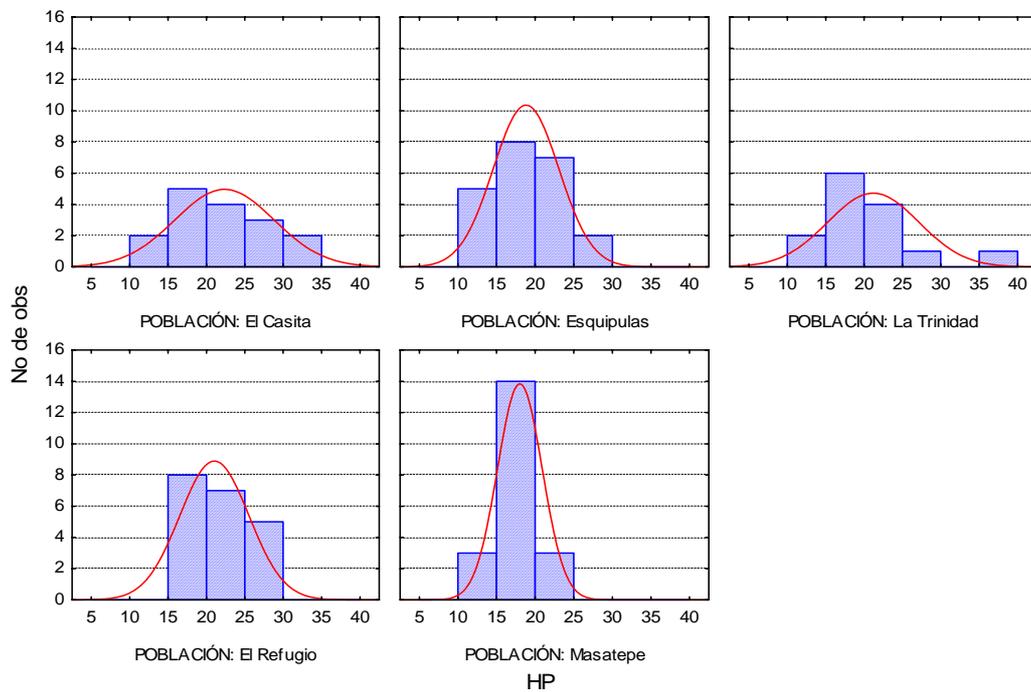


Figura 7. Altura de las plantas (HP) en las cinco poblaciones muestreadas de *C. odorata* L.

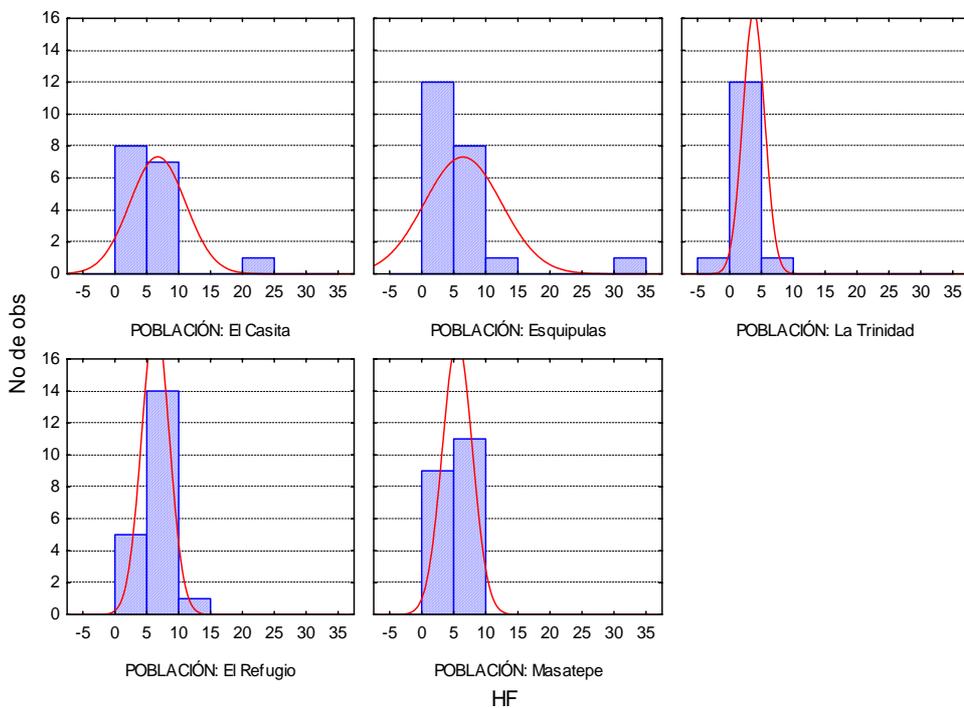


Figura 8. Altura del fuste (HF) en las cinco poblaciones muestreadas de *C. odorata* L.

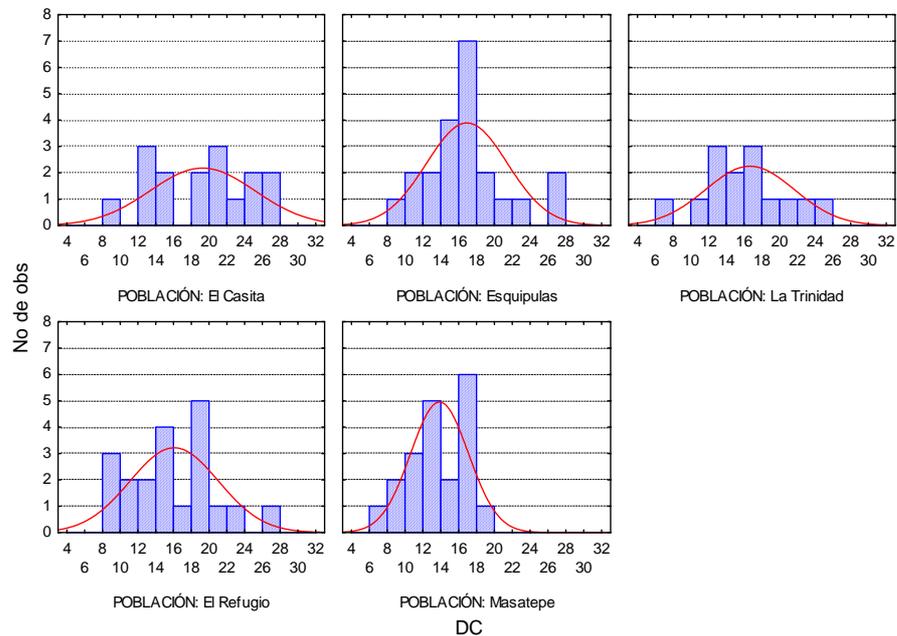


Figura 9. Diámetro de la cobertura (DC) de las cinco poblaciones muestreadas de *C. odorata* L.

Para determinar el grado de asociación existente entre las 4 variables bajo estudio, se realizó un análisis de correlación simple. En la Tabla 3, se observa que todos los índices de correlación son positivos y estadísticamente significativos ( $P \leq 0.001$ ). Las variables más correlacionadas son diámetro de la cobertura (DC) y diámetro a la altura del pecho (DAP) con un índice de 0.566, seguido por 0.476 la correlación entre DC y altura de la planta (HP); este resultado se debe a que un árbol que presenta mayor cobertura foliar realiza más fotosíntesis por lo cual produce más madera, lo que se expresa directamente en DAP y HP.

Tabla 3. Correlación simple entre 4 variables de *Cedrela odorata* L.

|     | DAP           | HP            | HF     | DC |
|-----|---------------|---------------|--------|----|
| DAP | 1             |               |        |    |
| HP  | 0.424*        | 1             |        |    |
| HF  | 0.069*        | 0.061*        | 1      |    |
| DC  | <b>0.566*</b> | <b>0.476*</b> | 0.124* | 1  |

\* $P \leq 0.001$

DAP: diámetro a la altura del pecho, HP: altura de la planta, HF: altura del fuste, DC: diámetro de cobertura

---

A diferencia de este estudio, se reportan otros que analizan características morfológicas de *C. odorata* L. basados sólo en semillas, frutos y plántulas.

Un estudio realizado por Álvarez (1999), comparó semillas y frutos de árboles de fuentes semilleras de una procedencia del Pacífico y otra del Atlántico de Costa Rica, encontrándose que existen variaciones entre las dos procedencias y aún entre ellas. Las diferencias encontradas son significativas tanto que los frutos del Atlántico eran más pequeños pero con mayor cantidad de semillas que los del Pacífico. La comparación del coeficiente de variación de ambas procedencias para cinco variables distintas proporcionan datos que van del 10 al 54%: para el peso del fruto la mayor variación se encuentra para las procedencias del Atlántico, pero para la longitud del fruto, diámetro del fruto, número de semillas desarrolladas y peso de semilla desarrollada, la mayor variación se encuentra en el Pacífico.

En un estudio realizado por Navarro *et al.*, (2001), de características morfológicas con plántulas de *C. odorata* de 10 poblaciones pertenecientes a dos tipos de hábitat (mésico y seco), distribuidas por toda Costa Rica, con el fin de examinar las relaciones entre la variación cuantitativa y el sitio de origen de la población, encontraron que las plántulas de áreas secas eran distintas de las de áreas mésicas ya que las semillas de poblaciones en áreas secas fueron 43% más pesadas y las plántulas fueron 61% más altas y 117% mayores en diámetro, y con las hojuelas 39% más largas y 81% más anchas. Estas diferencias pueden estar relacionadas a un crecimiento rápido en la zona seca para tomar ventaja de la disponibilidad de humedad en el ciclo de vida temprano. En su estudio ellos señalan que estos resultados pueden indicar una especiación incipiente en *C. odorata* en Costa Rica.

Rodríguez *et al.*, (2001), determinaron morfometrías sólo de frutos de *C. odorata* L., en un área natural de México, tomando en cuenta 5 variables: peso, largo ancho,

---

potencial de producción de semillas, eficiencia en producción de semilla. De acuerdo al coeficiente de variación, los frutos variaron más en cuanto al peso y su eficiencia en la producción de semilla, mientras que fueron más homogéneos en cuanto al ancho y potencial de producción de semilla.

Las variables ancho-peso de frutos y ancho-largo de frutos fueron las que presentaron mayor grado de asociación, lo que significa que el peso, largo y ancho de los frutos no se relacionan con el potencial y eficiencia para producir semillas, esto quiere decir que el tamaño de los frutos no influye con la cantidad de semillas que pueden producir, esto puede deberse a que los árboles contienen un carácter genético que se manifiesta en la producción de frutos de diferentes tamaño, lo que determina su contenido de semillas. Ellos citan que esto ha sido también observado por Owens (1973), en especies de pino principalmente.

Navarro *et al.*, (2002a), reportan estudios de variabilidad genética comparando marcadores morfológicos en *C. odorata* L., de dos áreas distintas como el realizado por Navarro y Vásquez (1987), que a diferencia de este estudio, utilizaron las características de semillas y plántulas de progenies de las zonas secas (Pacífico) y húmedas (Atlántico) de Costa Rica y Nicaragua, encontrando una fuerte diferenciación entre procedencias de ambas zonas en cuanto al largo, ancho y área de superficie de las semillas, y del altura, diámetro y largo de las raíces de las plántulas.

Estos autores reportan otros estudios que han encontrado un mayor peso de las semillas en árboles de poblaciones de las áreas secas que las húmedas (Sorenson, 1983; Toval & Puerto, 1985; Loopstra & Adams, 1989; Sorenson *et al.*, 1990; Wright *et al.*, 1992). El crecimiento temprano de las plántulas pueden (Toval & Puerto, 1985; Sorenson *et al.*, 1990; Wright *et al.*, 1992) o no pueden (Sorenson, 1983; Loopstra y Adams, 1989; Román Jiménez, 1996; Li, 1998), ser mayores en las poblaciones de áreas seca.

---

Alderete *et al.*, (2005), hicieron un análisis exploratorio morfológico de semillas de árboles de dos estados de México, basado solamente en 3 variables: peso, ancho y largo de semillas, encontrando valores promedios de 0.017 g, 2.60 cm y 3,64 mm respectivamente. Las diferencias significativas entre los árboles evaluados encontradas por análisis de varianza, les permite pronosticar la posible existencia de diferencias en cuanto al crecimiento y desarrollo de las plántulas que por ende expresaría variación. Ellos citan que sus resultados coinciden con las diferencias significativas obtenidos en otras especies forestales por Ramos-Suárez, *et al.*, (2003), en *Pinus jasicana*, Castillo *et al.*, (2004) en *Pinus patula* y Márquez-Ramírez (2005) en *Quercus oleoides*.

En este estudio no se analizó características morfológicas reproductivas de frutos y/o semillas solamente parte vegetativas

## 5.2. Análisis de Datos RAPDs

Puesto que los cebadores a partir de los cuales se obtiene los datos moleculares RAPDs amplifican marcadores al azar y se encuentran dispersos en todo el genoma, gran parte del cual no codifica para la síntesis de proteínas, se desconoce si estos marcadores están asociados con un gen en particular en contraste con las características morfológicas o bioquímicas que son producto de la expresión genética, pero estos datos permiten conocer la situación de la variabilidad y su cuantificación en las poblaciones en particular y en el conjunto de todas las poblaciones, así como también las distancias genéticas entre ellas (Dávila *et al.*, 2003).

### 5.2.1. Diversidad Genética

Para cuantificar los niveles de diversidad genética presente en las poblaciones por separado, se usó los índices de diversidad génica ( $H_e$ ) de Nei (1973), y diversidad de Shannon, C.; Weaver, W. (1949), ( $H_o$ ). En la tabla 4 se observa que  $H_e$  varió de 0.289

a0.323 con una media de 0.303 y  $H_o$  variaron de 0.436 a 0.479, con una media de 0.454. Se calcularon correlaciones de Pearson entre las estimaciones derivadas de estos parámetros.  $H_e$  resultó estar correlacionada fuerte y significativamente con  $H_o$  ( $r=0.990$ ,  $P < 0.001$ ). Observando ambos parámetros, la diversidad total más baja la exhibió la población de Esquipulas, mientras que la más alta se encontró en La Trinidad.

**Tabla 4.** Parámetros de variación genética, diversidad génica de Nei ( $H_e$ ) e índice de Shannon ( $H_o$ ) para las cinco poblaciones analizadas

| Población     | N            | $N_e$        | P            | $H_e$        | $H_o$        |
|---------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| Volcán Casita | 1.821        | 1.499        | 82.05        | 0.295        | 0.440        |
| Esquipulas    | 1.872        | 1.490        | 87.18        | <b>0.289</b> | <b>0.436</b> |
| Masatepe      | 1.910        | 1.489        | 91.03        | 0.292        | 0.444        |
| El Refugio    | 1.910        | 1.541        | 91.03        | 0.316        | 0.474        |
| La Trinidad   | 1.885        | 1.559        | 88.46        | <b>0.323</b> | <b>0.479</b> |
| <b>Media</b>  | <b>1.880</b> | <b>1.516</b> | <b>87.95</b> | <b>0.303</b> | <b>0.454</b> |

N: número medio de alelos por locus,  $N_e$ : número efectivo de alelos por locus, P: Porcentaje de loci polimórficos,  $H_e$ : diversidad génica,  $H_o$ : índice de Shannon sobre loci.

El estudio de Tijerino (2009), del cual se tomó la base de datos RAPDs para estos análisis, reportó usando solamente el índice de diversidad génica de Nei (1978), con el programa informático TFPGA 1.3 (Miller, 1997), que también la menor diversidad génica la presentó Esquipulas (0.295) y la mayor La Trinidad (0.333) con una media de 0.311.

El índice de Shannon fue utilizado por Gillies *et al.*, (1997), en un estudio de marcadores RAPDs en poblaciones costarricenses, que incluyó material de dos regiones diferentes del país adaptadas a distintas condiciones ambientales (Pacífico Norte y Atlántico/Pacífico Sur) reportando niveles máximo de 1.897 en una población en el Pacífico Norte con gran número de meses secos, y un mínimo de 1.181 en una población en el Atlántico con gran cantidad de lluvia. Los datos RAPDs de *C. odorata* generados y analizados por Tijerino (2009), que son los mismos utilizados por este estudio no incluye poblaciones del Atlántico de Nicaragua, por las razones expuestas en Materiales y Métodos.

---

### 5.2.2. Partición de la Variación

Se utilizó también el índice de Shannon para calcular el  $H_o$  promedio de cada una de las poblaciones ( $H_{pop}=0.454$ ) y el  $H_o$  en todo el conjunto de las muestras en todas las poblaciones ( $H_{sp}=0.524$ ), para cuantificar la partición de la variación dentro de las poblaciones  $H_{pop}/H_{sp}= 0.8664$  y entre poblaciones  $(H_{sp} - H_{pop})/H_{sp}= 0.1336$ .

En este estudio el índice de Shannon asignó el 13.36% del total de la variación a entre poblaciones, mientras que el 86.64% del total de la variación se debe a diferencias entre individuos dentro de las poblaciones. Basil (2007), señala que según Houle (1992), la existencia de mayor variación dentro de las poblaciones que entre las poblaciones, sugeriría la posibilidad de una alta heredabilidad e indicaría la existencia de variabilidad genética aditiva disponible y por lo tanto una mayor habilidad para responder a la selección.

Contrario a lo obtenido en éstos análisis con poblaciones nicaragüenses, el estudio de Gillies *et al.*, (1997), en poblaciones costarricenses usando el índice de Shannon obtuvieron mayor valor interpoblacional (55%) que intrapoblacional (45%) (no así para el Análisis Molecular de la Varianza cuyos resultados fueron lo contrario). Ellos justifican estos resultados debido a que analizaron poblaciones pertenecientes a dos zonas distintas (seca y húmeda) de Costa Rica.

En el estudio de Tijerino (2009), reporta que de sus análisis de la partición de la variación a partir del índice de Nei, el estadístico  $G_{st}=6.9\%$  que obtuvo resultó al igual que en este estudio menor la variación entre las poblaciones y mayor dentro las poblaciones (93.1%). En su estudio ella reporta que los valores  $G_{st}$  son aún mayores en dos estudios realizados, uno en 2 grupos de poblaciones de *C. odorata* costarricense con AFLP ( $G_{st}= 0.98$ ) y el otro con ADN de cloroplasto ( $G_{st}= 0.96$ ) en poblaciones Mesoamérica (México, Guatemala, Honduras, Nicaragua, Costa Rica y Panamá).

Tijerino (2009), señala que el hecho de que todas las poblaciones nicaragüenses muestreadas en su estudio (que son las mismas utilizadas en estos análisis) sean de la Región del Pacífico, puede explicar el obtener entre las poblaciones un bajo valor  $G_{st}$ , si se compara con los estudios de Cavers y colaboradores cuyas muestras son de distintas poblaciones mesoamericanas, y de dos ecotipos diferentes en el caso de las poblaciones costarricenses, y además con mayor distanciamiento geográfico entre ellas.

Al comparar también los análisis de la partición de la variación de este estudio con los obtenidos con AMOVA por Tijerino (2009), con estos mismos datos RAPDs, resultó un valor similar entre poblaciones (13.81%), que confirma que la mayor variación se encontró dentro de las poblaciones (86.19%). Estos resultados concuerdan con lo señalado por Hamrick (1990), citado por Enrech (2000), que basado en la variación a nivel molecular, las plantas maderables perennes de larga vida y de fecundación cruzada tales como *C. odorata*, deben mostrar mayor diversidad dentro que entre las poblaciones.

En sus análisis de AMOVA Tijerino (2009), reporta que resultados similares de mayor variación dentro de las poblaciones se presentan en estudios de *C. odorata* con RAPD por Gillies *et al.*, (1997b), y AFLP por De la Torre *et al.*, (2008) y Cavers *et al.*, (2003), aunque a diferencia de su estudio, los resultados se obtuvieron analizando poblaciones de diferentes regiones por lo que éstos presentan además datos de variación entre grupos o zonas analizadas.

### 5.2.3. Relaciones Filogenéticas

Tijerino (2009) reporta que los valores del grado de diferenciación entre pares de poblaciones permiten conocer las relaciones en cuanto a la menor o mayor

diferenciación existente entre ellas. De esta manera ella señala que el menor grado de diferenciación entre las poblaciones de *C. odorata* analizadas en su estudio se presentó en Masatepe y Esquipulas ( $\Phi_{st}=0.062$ ) con una distancia geográfica de 97.8 Km y el mayor valor entre La Trinidad y El Casita ( $\Phi_{st} =0.241$ ) con una distancia de 83.1 Km (Anexo, Tabla 9).

Estos resultados de la matriz de valores pareados de  $\Phi_{st}$  fueron facilitados por Tijerino (2009) para estimar en este estudio a partir de estos datos, la distancia genética de Nei (1978), y con los valores de esta distancia realizar posteriormente un análisis de agrupamiento Neighbour-joining y un análisis de coordenadas principales.

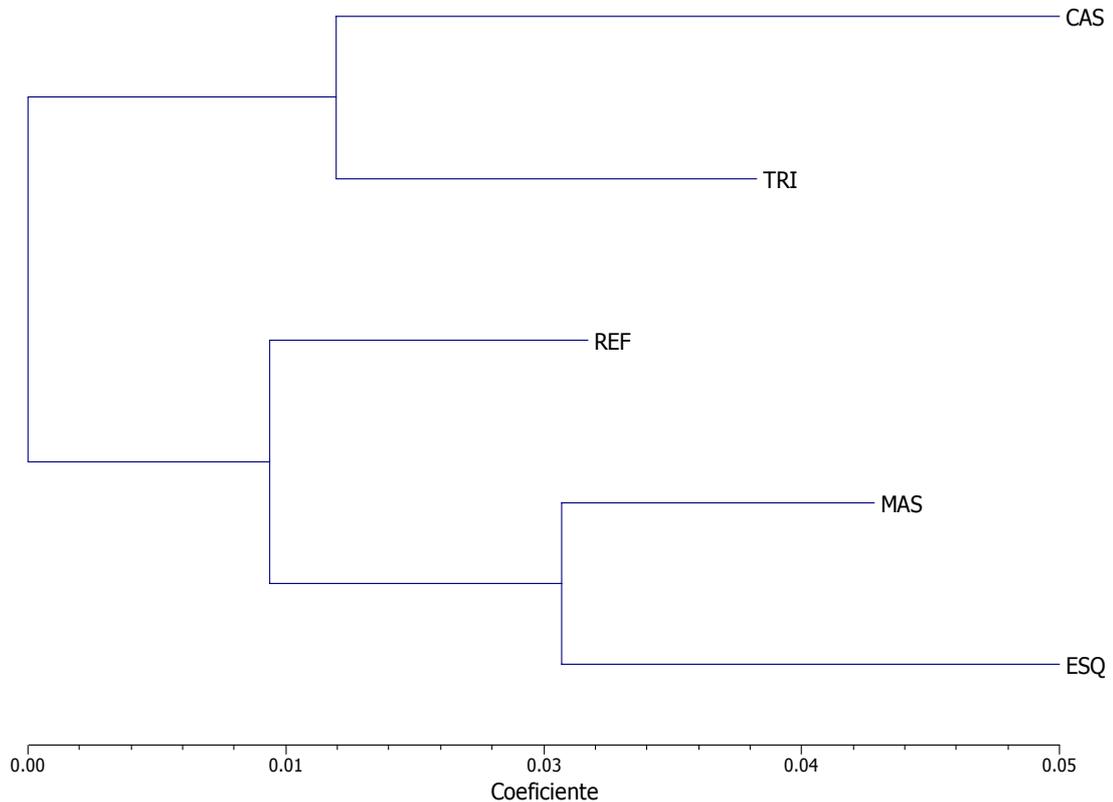
**Tabla 5.** Medidas insesgadas de Nei (1978) de Identidad Genética (arriba de la diagonal) y diversidad genética (debajo de la diagonal)

|     | CAS   | ESQ   | MAS   | REF   | TRI   |
|-----|-------|-------|-------|-------|-------|
| CAS | ****  | 0.909 | 0.901 | 0.912 | 0.941 |
| ESQ | 0.096 | ****  | 0.958 | 0.943 | 0.899 |
| MAS | 0.104 | 0.043 | ****  | 0.953 | 0.925 |
| REF | 0.092 | 0.058 | 0.049 | ****  | 0.942 |
| TRI | 0.060 | 0.106 | 0.078 | 0.060 | ****  |

Volcán Casita (CAS), Esquipulas (ESQ), Masatepe (MAS), El Refugio (REF), La Trinidad (TRI).

Los análisis de agrupamiento Neighbour-joining, de mayor o menor proximidad genética entre las poblaciones de *C. odorata* obtenida de la matriz de distancia genética de Nei (1978) (Tabla 5), se representa gráficamente en un dendrograma (Figura 10), donde las poblaciones se separan en 2 grupos diferentes en variación génica, uno formado por El Refugio que agrupa a las poblaciones que están más relacionadas Masatepe y Esquipulas quienes mostraron el menor valor de diferenciación, es decir, la mayor proximidad genética y el otro ubica a las dos poblaciones restantes, La Trinidad y

El Casita que presentaron el mayor grado de diferenciación, lo que permite establecer con estos análisis que estas son las poblaciones que presentan mayor variabilidad.



Coefficiente de correlación cofenética es de 0.95

Volcán Casita (CAS), Esquipulas (ESQ), Masatepe (MAS), El Refugio (REF), La Trinidad (TRI),

**Figura 10.** Análisis Neighbour-joining mostrando las relaciones genéticas de 5 poblaciones de *C. odorata* : utilizando marcadores RAPDs: Árbol obtenido a partir de las distancias genéticas de Nei (1978).

De los resultados de los niveles de diversidad genética presente en las poblaciones por separado, tanto de  $H_e$  (Nei, 1973) como de  $H_o$  (Shannon, C.; Weaver, W. 1949). La diversidad total más baja la exhibió la población de Esquipulas, mientras que la más alta se encontró en La Trinidad, las cuales en el dendrograma se presentan en los grupos de menor y mayor diferenciación genética respectivamente.

---

En el estudio de Tijerino (2009), el dendrograma obtenido con estos valores moleculares usando la matriz de distancias genéticas de Reynolds *et al.*, (1983), las poblaciones de El Refugio, Masatepe y Esquipulas también formaron un solo grupo, con la diferencia que juntos con estas poblaciones se agrupó El Casita y de manera aislada se presentó la población de La Trinidad.

Colin (2006), citado en Hedrick (2000), afirma que las similitudes o diferencias en la variación entre poblaciones puede ser el resultado de muchos factores. El que dos poblaciones sean similares puede deberse a una separación reciente, al flujo génico entre ellas, poca deriva génica o a presiones de selección semejantes que hayan afectado a loci similares en ambas poblaciones. Por otra parte, si dos poblaciones son diferentes se puede deber a que esas poblaciones se separaron hace mucho tiempo y ya no presentan flujo génico entre ellas, también se puede deber a que la deriva génica ha generado grandes diferencias o posiblemente a que haya diferentes presiones selectivas entre las dos poblaciones.

Para evaluar la consistencia de los agrupamientos representados en el dendrograma se determinó el valor de la correlación entre la matriz de los valores cofenéticos de los datos de similitud y la misma matriz de similitud. El coeficiente de correlación cofenética mide la correlación entre las interdistancias en el dendrograma y las interdistancias en la matriz de distancia sobre la que se aplicó el procedimiento.

En este estudio el dendrograma obtenido puede ser considerado consistente con la matriz original ya que el valor del coeficiente de correlación de Mantel entre la matriz original y la cofenética del dendrograma fue de 0.95 ( $P > 0.001$ ). Según Zambrano *et al.*, (2003), estos valores pueden ser interpretados como muy bueno basado en la siguiente escala:

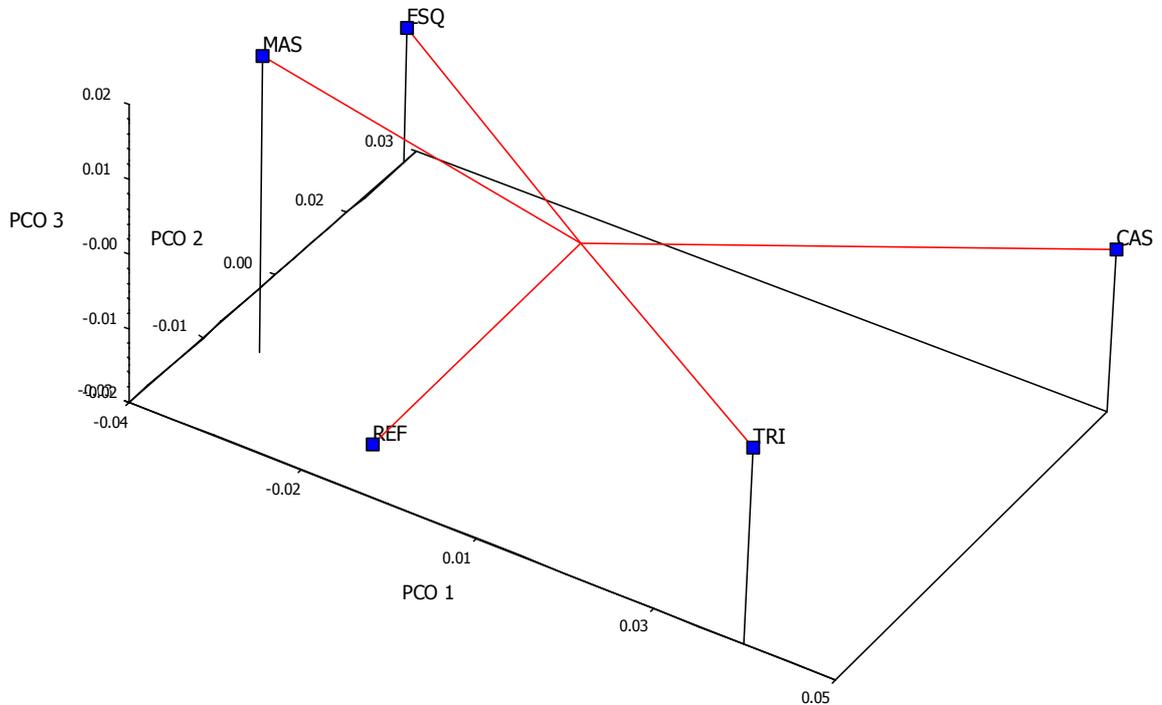
- 
- Mayor de 0.9 = muy bueno
  - 0.9 a 0.8 = bueno
  - 0.8 a 0.7 = pobres
  - Menores de 0.7 = muy pobre

Por lo tanto, el valor obtenido permite un grado de confiabilidad muy alto, es decir, el dendrograma representa la matriz de similitud original de una manera confiable y que el método de agrupamiento crea poca distorsión del árbol respecto de la matriz original de similitud.

Las distancias de Nei (1978), también en se usaron para realizar un análisis de coordenadas principales para obtener un diagrama en tres dimensiones que muestra las agrupaciones formadas por las poblaciones (Figura 11), que confirma el agrupamiento observado en el dendrograma, ya que se forman los mismos dos grupos que con el análisis de neighbour-joining.

El análisis de coordenadas principales es utilizado para mostrar las relaciones definidas por distancias o similitudes en un espacio de baja dimensión para obtener interpretable en dimensión reducida. Como los valores se ordenan en forma decreciente los primeros ejes (coordenadas principales) explican la mayor cantidad de variación (Balzarini *et al.*, 2006).

El diagrama tridimensional de coordenada principales (Figura 11), apoya los resultados obtenidos en el dendrograma (Figura 10), de que las poblaciones de La Trinidad y El Casita forman un grupo distinto a las poblaciones restantes, ya que estas poblaciones se posesionan en una misma coordenada (PCO1) distante de El Refugio (PCO2) y de Masatepe y Esquipulas (POC3). El hecho de que la primera coordenada principal retiene a las poblaciones de La Trinidad y El Casita, significa que éstas son las que describen la mayor variabilidad, con respecto a las otras poblaciones.



**Figura 11.** El diagrama del análisis de coordenadas principales obtenido de la matriz de distancias genéticas de Nei (1978) entre 5 poblaciones de *C. odorata* L. Volcán Casita (CAS), Esquipulas (ESQ), Masatepe (MAS), El Refugio (REF), La Trinidad (TRI).

### 5.3. Análisis Comparativos entre Datos Morfológicos y RAPDs

A continuación puede verse las distancias geográficas, morfológicas y genéticas en las Tabla 6, 7 y 8, respectivamente (debajo de la diagonal). La razón por la cual estas distancias fueron convertidas a distancias euclidianas fue para tener las mismas unidades de medida a la hora de hacer las comparaciones entre los datos generados por los tres tipos de distancia.

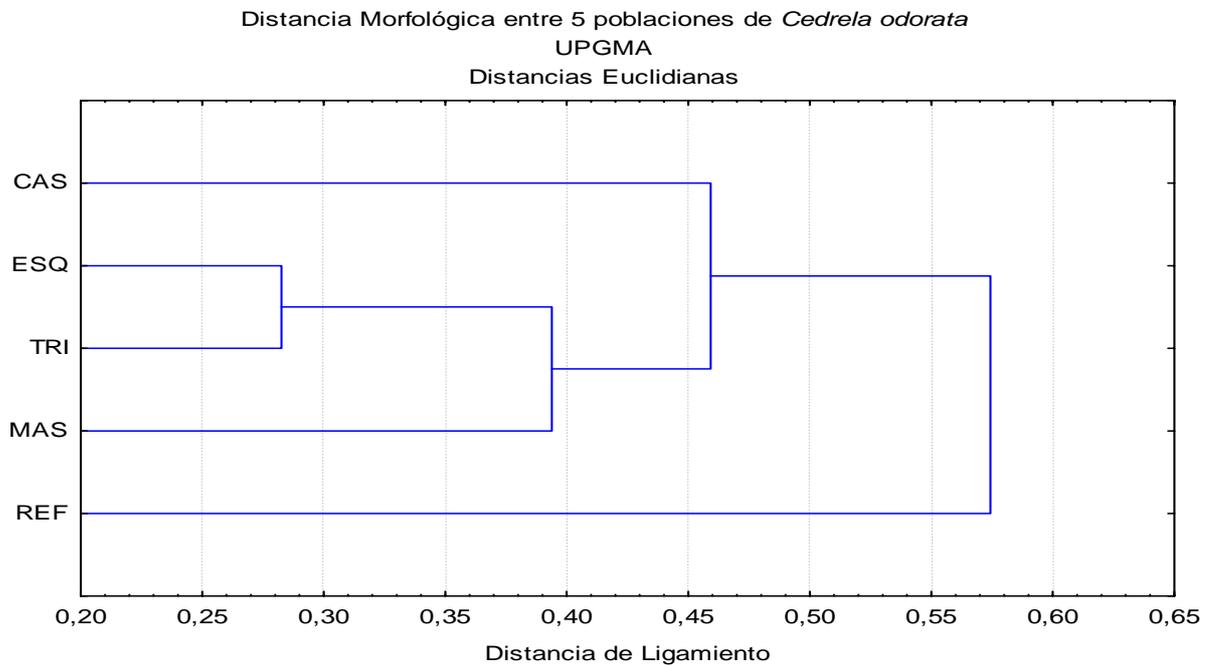
En la Tabla 6, se aprecia que la mayor distancia morfológica se presentó entre las poblaciones de El Refugio y La Trinidad (0.656); mientras que la menor distancia se observó entre Esquipulas y La Trinidad (0.283)

**Tabla 6.** Distancias morfológica entre poblaciones *C. odorata* (arriba de la diagonal) y distancia euclidiana estimadas a partir de las morfológica (debajo de la diagonal)

|     | CAS   | ESQ          | MAS      | REF          | TRI      |
|-----|-------|--------------|----------|--------------|----------|
| CAS | ****  | 0.000073     | 0.000006 | 0.000006     | 0.000011 |
| ESQ | 0.468 | ****         | 0.330075 | 0.312405     | 0.111399 |
| MAS | 0.450 | 0.468        | ****     | 0.278345     | 0.126029 |
| REF | 0.599 | 0.546        | 0.497    | ****         | 0.428214 |
| TRI | 0.460 | <b>0.283</b> | 0.319    | <b>0.656</b> | ****     |

Volcán Casita (CAS), Esquipulas (ESQ), Masatepe (MAS), El Refugio (REF), La Trinidad (TRI)

En la Figura 12 puede observarse la agrupación generada a través de las distancias morfológicas convertidas a distancias euclidianas, donde se genera un gran grupo compuesto por cuatro poblaciones (Casita, Esquipulas, La Trinidad y Masatepe); mientras que El Refugio difiere genéticamente de ese grupo.



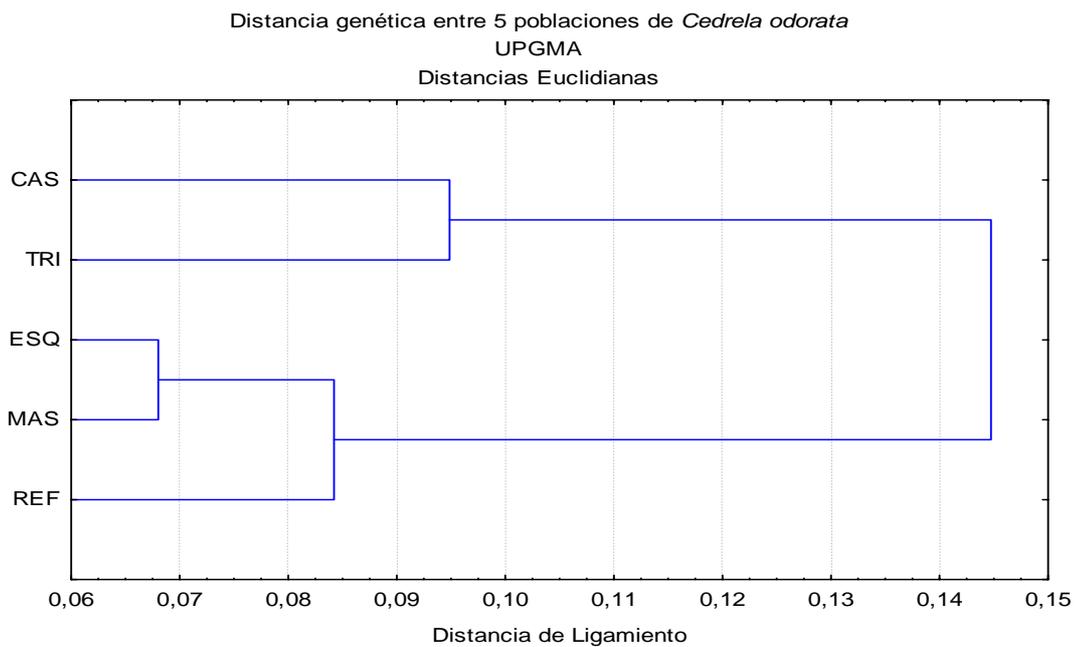
**Figura 12.** Dendrograma generado por el método de ligamiento UPGMA con las distancias euclidianas obtenidas de los datos morfológicos. Volcán Casita (CAS), Esquipulas (ESQ), Masatepe (MAS), El Refugio (REF), La Trinidad (TRI).

En tabla 7 se observan las distancias euclidianas obtenidas de las distancias genéticas de Nei (1978). El dendrograma (Figura 13) obtenido con estas distancias agrupa a las poblaciones en dos grupos similar al dendrograma obtenido con las distancias genéticas de Nei (Figura 10).

**Tabla 7.** Distancias genética de Nei (1978) entre poblaciones *C. odorata* (arriba de la diagonal) y distancias euclidianas estimadas a partir de la genéticas (debajo de la diagonal)

|     | CAS   | ESQ          | MAS          | REF   | TRI   |
|-----|-------|--------------|--------------|-------|-------|
| CAS | ****  | 0.096        | 0.104        | 0.092 | 0.060 |
| ESQ | 0.159 | ****         | 0.043        | 0.058 | 0.106 |
| MAS | 0.163 | <b>0.068</b> | ****         | 0.049 | 0.078 |
| REF | 0.146 | 0.094        | <b>0.074</b> | ****  | 0.060 |
| TRI | 0.095 | 0.158        | 0.135        | 0.107 | ****  |

Volcán Casita (CAS), Esquipulas (ESQ), Masatepe (MAS), El Refugio (REF), La Trinidad (TRI).



**Figura 13.** Dendrograma generado por el método de ligamiento UPGMA con las distancias euclidianas obtenidas de las distancias genéticas de Nei (1978).

Al comparar los dendrogramas de distancia genética (Figura 13) con distancia morfológica (Figura 12) se observa que las poblaciones se agrupan de manera distintas ya que en la morfológica solo El Refugio se presenta de manera aislada del resto de las poblaciones conforman un solo grupo. La Trinidad es la población que al comparar sus

distancias morfológicas euclidianas presentan los valores menores (Trinidad-Esquipulas= 0.283) y mayores (Trinidad- El Refugio =0.656). Estos valores no coinciden con los valores de distancias genéticas euclidianas obtenidas de las distancias genéticas de Nei (1978), reportados anteriormente en este estudio, ni tampoco coincide con los valores obtenido por Tijerino (2009) con las distancias genéticas de Reynolds *et al.*, (1983). Hay que tomar en cuenta que la no coincidencia de los valores pueda deberse a que solo se tomaron cuatro variables morfológicas y además está el hecho de que los valores de distancia genética fueron generados con la técnica RAPD que tiene la ventaja de que rastrea a nivel del ADN para amplificar fragmentos de tamaños variables que son utilizados como marcadores moleculares.

También se convierten las distancias geográficas a distancias euclidianas, para compararlas sólo con las distancias genética y así hacer una comparación entre estos datos con los datos no euclidianos reportados por Tijerino (2009). En la tabla 8, puede observarse que la menor distancia geográfica euclidiana está entre Masatepe y El Refugio (32.9 km); mientras que la mayor distancia fue entre Casita y Masatepe (216.0 km).

**Tabla 8.** Distancias geográficas entre poblaciones *C. odorata* (arriba de la diagonal) y distancias euclidianas estimadas a partir de las geográficas (debajo de la diagonal).

|     | CAS            | ESQ     | MAS           | REF            | TRI     |
|-----|----------------|---------|---------------|----------------|---------|
| CAS | ****           | 127.600 | 122.800       | <b>139.900</b> | 83.100  |
| ESQ | 188.714        | ****    | 97.800        | 100.400        | 53.700  |
| MAS | 216.031        | 171.149 | ****          | <b>18.300</b>  | 112.000 |
| REF | <b>228.833</b> | 177.141 | <b>32.883</b> | ****           | 122.600 |
| TRI | 140.315        | 91.881  | 198.714       | 210.353        | ****    |

Volcán Casita (CAS), Esquipulas (ESQ), Masatepe (MAS), El Refugio (REF), La Trinidad (TRI).

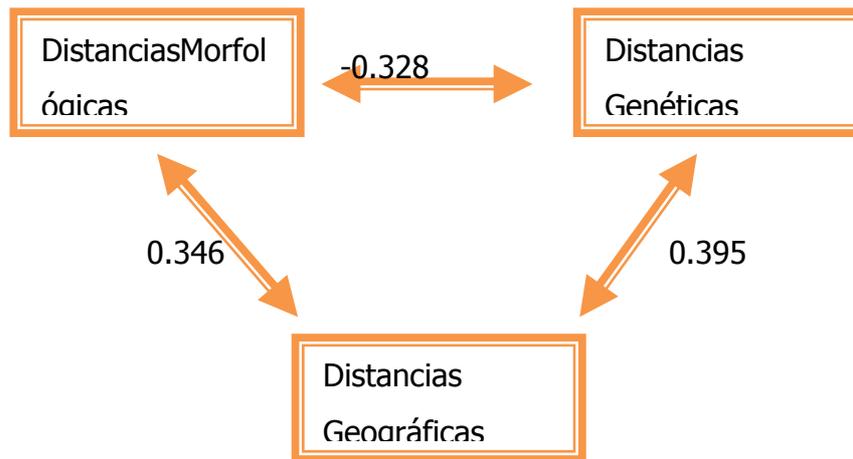
---

Al comparar los valores de distancias genéticas (Tabla 7) con distancias geográficas (Tabla 8) la población que presenta los menores valores de distancia genética es Masatepe, la cual forma un grupo en el dendrograma con Esquipulas y El Refugio (Masatepe- Esquipulas = 0.068 y Masatepe-Refugio = 0.074) y en el caso de Masatepe y Refugio son las que presentan la menor distancia geográfica (32.9), en cambio Masatepe y Esquipulas que en el dendrograma muestran la menor proximidad genética están más distanciadas geográficamente (171.14).

Estos valores usando las distancias genéticas de Reynolds *et al.*, (1983), que reporta Tijerino (2009), coincide que en el caso de Masatepe y El Refugio, aunque no tengan el valor más bajo, son las poblaciones que presentaron la menor distancia geográfica. Ella señala que estos bajos valores de distancia genética podrían indicar que aún existe flujo de genes entre estas poblaciones, las que pueden estar conectadas por árboles aislados y esparcidos entre ellas a través de los polinizadores.

En cambio las poblaciones de Casita y Trinidad que forman un solo grupo en el dendrograma son las que tienen los valores más altos de distancia genética euclidianas (Casita-Masatepe = 0.163, Casita-Esquipulas = 0.159, Casita-Refugio = 0.146 y Trinidad y Esquipulas = 0.158), y también coincide que El Casita es el que está más distanciado geográficamente (Casita-Masatepe = 216.03, Casita-Esquipulas = 188.71, Casita-Refugio = 228.83) en cambio Trinidad y Esquipulas presentan una distancia geográfica intermedia (91.88). Por el contrario Tijerino (2009), reporta con los valores de distancia genética de Reynolds *et al.* (1983), que solo La Trinidad fue la que mostró las mayores distancias genéticas (Trinidad-Esquipulas = 0.208 y Trinidad-El Casita = 0.275), a pesar de no tener La Trinidad la mayor distancia geográfica con las poblaciones de Esquipulas y El Casita. En su estudio ella explica que las distancias genéticas entre las poblaciones que no poseen las mayores distancias geográficas pueden deberse a la deriva genética, ya que al estar tan fragmentadas van quedando aisladas y se fijan alelos por el azar, diferenciándose así los alelos de una población a otra.

En la Figura 14 se puede ver la correlación existente entre cada par de matrices de distancias. Los 3 índices de correlación entre las 3 distancias fue muy bajo y estadísticamente no significativos.



**Figura 14.** Pruebas de Mantel para las poblaciones de *C. odorata* L. Los datos mostrados son valores de coeficientes de Pearson comparando las matrices apareadas de distancias genética, morfológica y espacial.

Colin (2006), cita en Wright (1943), que cuando una especie presenta una distribución geográfica se espera que las poblaciones más cercanas geográficamente también sean las más cercanas genéticamente. A este principio se le conoce como aislamiento por distancia, y nos dice que los individuos tienden a aparearse con aquellos más cercanos geográficamente de lo que se esperaría al azar, lo que significa que conforme más alejadas estén las poblaciones unas de otras, serán más diferentes genéticamente hablando. La no correlación significativa entre las distancias genéticas y las distancias geográficas presentes en cada par de población obtenida de la prueba de Mantel podría indicar que estas poblaciones no siguen un modelo de aislamiento por distancia.

En el caso de las distancias morfológicas, como se mencionó anteriormente, la cantidad de variables utilizadas en este estudio fue muy poca y solo son de

---

características vegetativa y no reproductivas, debido a esto podría ser que no se presentó correlación entre las distancias genéticas y morfológicas.

Las distancias geográficas no tuvieron correlación con las distancias genéticas ni morfológicas, puesto a que hay factores que no se tomaron en cuenta en este estudio que generalmente determinan dicha distribución, como son la altitud, temperatura, dirección del viento, tipo de hábitat, etc.

En el estudio citado anteriormente en los análisis morfológicos en dos tipos de hábitat (mésico y seco) realizado por Navarro *et al.*, (2001) con plántulas de *C. odorata* de 10 poblaciones de Costa Rica con el fin de examinar las relaciones entre la variación cuantitativa y el sitio de origen de la población, reportan que el análisis de conglomerados para los rasgos de las plántulas mostró dos grupos naturales de familias, que se correspondieron en su mayor parte con los grupos de las poblaciones regionales en grupos mésico (Atlántico y Pacífico Sur) y seco (Pacífico Norte). El análisis de conglomerado basado en el peso y el tamaño de las semillas también separó las poblaciones en los grupos climáticos mésico y seco. Con este estudio ellos sugieren que la evaluación de los mecanismos de aislamiento reproductivo entre poblaciones de las zonas mésica y seca y de las clinas en las zonas potenciales de hibridización ayudaría a probar una hipótesis de especiación incipiente en *C. odorata* en Costa Rica. A diferencia de este estudio como se ha mencionado anteriormente los datos morfológicos fueron de características vegetativas de plantas adultas y pertenecientes todas a la zona del pacífico. (Navarro *et al.*, 2002b).



## VI. CONCLUSIONES

Los valores medios de las variables morfológicas DAP, altura de la planta, altura del fuste y diámetro de cobertura fueron 87.32 cm, 20.01 m, 5.81 m, 16.37 m, respectivamente. La distribución de estas variables muestra que las poblaciones de El Casita, Esquipulas y La Trinidad son más heterogéneas, en cuanto al DAP y altura de la planta.

La variable diámetro de la cobertura, presentó las mayores correlación con el diámetro a la altura del pecho (0.566) y la altura de la planta (0.476).

Con los datos moleculares (78 loci RAPDs polimórficos), se encontró en las poblaciones por separado que la diversidad genética total más baja la exhibió la población de Esquipulas, mientras que la más alta se encontró en La Trinidad, usando tanto los índices de diversidad de Nei, ( $H_e$ ) como el de Shannon ( $H_o$ ).

También se usó el índice de Shannon para calcular en todo el conjunto de las poblaciones la partición de la diversidad encontrándose que es mayor la variación intrapoblacional (86.64%) que interpoblacional (13.36%).

El análisis de agrupamiento tanto por distancia genética de Nei, como por coordenadas principales, separan del resto de las poblaciones a La Trinidad y El Casita con la mayor distancia genética (0.060), es decir, a las poblaciones que más variabilidad genética presentan.

Al comparar con la prueba de Mantel distancias genéticas, morfológicas y geográficas los 3 índices de correlación entre las 3 distancias fue muy bajo y estadísticamente no significativo, indicando que no se encontró correlación entre estas distancias.

## VII. RECOMENDACIONES

Se recomienda continuar estudios genéticos de caracteres cuantitativos tanto vegetativos como reproductivos, y de marcadores moleculares para la formulación de estrategias de manejo y conservación genética. Estas colectas deben ser hechas de poblaciones tanto del Pacífico como del Atlántico, en áreas secas y húmedas, para representar el rango total de la diversidad presente de *C. odorata* en Nicaragua.

Que los resultados preliminares de análisis morfológico de este estudio sean una guía para que el INAFOR a través del CMG&BSF continúe realizando estimación de la variabilidad genética de bajo costo con características cuantitativas no solo en *C.odorata* sino también en otras poblaciones forestales.

Implementar programas de conservación y recuperación en las poblaciones de Masatepe y Esquipulas ya que son las poblaciones que reflejan menor variabilidad genética.

Diseñar estrategias de manejo sostenible en las poblaciones de La Trinidad y El Casita para conservar la variación genética existente del recurso cedro, ya que según los resultados de este trabajo son las poblaciones que conservan mayor variabilidad.

---

## VIII. BIBLIOGRAFÍA

Alderete Chávez, A.; Landero, N. C. y Gonzáles de la Torre, J. 2005. Variación en semillas de *Cedrela odorata* L. procedentes de los estados de Campeche y Tabasco, México. *Foresta Veracruzana* 7(002): 41-44.

Álvarez, M. 1999. Caracterización de frutos y semillas de *Cedrela odorata* L., *Tabebuia rosea*, *Alnus acuminata* y *Cupressus lusitanica*. Avances en la producción de semillas forestales América Latina: 145-150.

Amaral W.; Thomson L. y Yanchuk A. 2007. Conservación de los recursos genéticos en su ambiente natural. Conservación y manejo de los recursos genéticos forestales: visión general, conceptos y algunos métodos sistemáticos. Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos 1:1-4.

Audesirk, T.; Audesirk, G.; Byers, B. E.; Escalona, H. J. y Escalona, R. L. 2003. Biología: La vida en la tierra. Pearson Educación. México. 889 p.

Azofeifa, D.A. (2006), [en línea]. Uso de marcadores moleculares en plantas; aplicaciones en frutales del trópico. *Agronomía Mesoamericana* 17(2): 221-242. [Consulta: el 12 de abril del 2008]. Disponible en versión pdf. [http://www.di.scientificcommons.org/32441249-/reposición doay-article](http://www.di.scientificcommons.org/32441249-/reposición%20doay-article)

Balzarini, M.; Bruno, C; Arroyo, A. Di Rienzo J. (2006) [en línea]. Análisis de datos de marcadores moleculares con InfoGen. 84 p. Ed. 2006. [Consulta: el 17 julio del 2010]. Disponible en versión pdf. En biblioteca de Fac. Cs. Agropecuarias y en [www.agro.uncor.edu/~estad/posgrado](http://www.agro.uncor.edu/~estad/posgrado).

Basil, J. A. 2007. Diversidad genética en poblaciones de *Swietenia macrophylla* King (Meliaceae) en Costa Rica y Bolivia. Tesis Mag.Sci. Turrialba, Costa Rica, IICA. 80 p

Bird, L; Molinelli, J(2001) [en línea]. La Biodiversidad. [ Consulta: 21 de septiembre 2008]. Disponible en versión pdf <http://www.alianzageografica.org/leccionbiodiversidad.pdf>.

Bucci, G.; Vendramin, G.; Lelli, L. & Vicario, F. 1997. Assessing the genetic divergence of *Pinus leucodermis* Ant. endangered populations: use of molecular markers for conservation purposes. *Theoretical Applied Genetics* 95:1138-1146.

Cavers, S.; Navarro, C. & Lowe, A.J. 2004. Targeting genetic resource conservation in widespread species: a case study of *Cedrela odorata* L. *Forest Ecology and Management* 197 (1-3): 285- 294.

Charlesworth, D. & Charlesworth, B. 1999. The genetic basis of inbreeding depression.

---

GeneticalResearch74: 329-340.

Cerda Granados, D. A. 2007. Evaluación de la diversidad genética de poblaciones naturales de *Pinus tecunumani* Eguiluz & J. P. Perry de Nicaragua mediante el uso de marcadores RAPDs. Tesis, Licenciatura. León, Nicaragua. Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua. 115 p.

Cintrón, B.B. (1990), [en línea]. *Cedrela odorata* L. Cedro hembra, Spanish cedar, pp. 250-257. In: Burns R.M.H. and Barbara H. (Eds.), *Silvics of North America 2: Hardwoods*. Agricultural Handbook 654. United States Department of Agriculture, Washington, DC. Vol. 2 pp 250-257. [Consulta: el 15 de octubre del 2008]. Disponible en: <http://www.fs.fed.us/gloval/iitf/cedrelaodorata>.

Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestre), (2007), [en línea]. Decimocuarta reunión de la conferencia de la parte en la HAYA (países bajos). [Consulta 11 de abril del 2008]. Disponible: <http://www.citers.org/esp/cop/14/prop/514.p33-pdf>.

Colin, N. R. 2006. Análisis de la diversidad genética y estructura poblacional de *Agave xylonacantha* (AGAVACEAE) utilizando "Inter Simple Sequence Repeat" (ISSR) como marcador molecular." Tesis Licenciatura. México. Universidad Nacional Autónoma de México. 62 p.

Dávila, M.; Laurentín, H. & Castillo, M. A. 2003. Utilidad de marcadores RAPD en la identificación de germoplasmas de ajonjolí. *Agronomía Tropical* 53(3): 259-273.

Demey, J. R.; Zambrano, F.F. & Segovia, V. (2003), [en línea]. Relación entre la caracterización molecular y morfológica en una colección de yuca. *INTERCIENCIA*. 28(12): 684-689. [Consulta: el 17 de octubre del 2008]. Disponible en versión pdf <http://www.Scielo.org.ve/SciELO.php2Script=SC-arttext&pid=50378>

18442003001200004&ing=iso155n0878-1844.

Díaz, V. 2001. Caracterización de la diversidad genética de poblaciones naturales de *Pinus oocarpa* de Nicaragua a través de marcadores moleculares. Tesis doctoral. Alcalá de Henares, España, Universidad de Alcalá. 127 p.

Dolmus, CM.; García, I.B. 2006. Evaluación de la variabilidad genética de *Pachira quinata* del ensayo de descendencia del Centro de Mejoramiento Genético y Banco de Semillas Forestales (CMG&BSF), usando marcadores RAPDs. Tesis de licenciatura. León, Nicaragua Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua. 80 p.

- 
- Dvorak, W.D. 2001. Situación del Programa de Mejoramiento Genético Forestal en el Banco Nicaragüense de Semillas y Oportunidades de Desarrollo Futuro. Asistencia Técnica del USDA. 40 p.
- Enrech, X. 2000. Una década de Aplicación del Método RAPD: Alcances y límites en el estudio de relaciones genéticas en plantas. *Acta Científica Venezolana* 51: 197–206.
- Erlich, HA; Gelfand, D; Sninsky, J. 1991. Recent Advances in the Polymerase Chain Reaction. *Science* 252: 1643-1650.
- Farmer, R.H. 1972. Handbook of hardwoods. 2nd edition. Her Majesty's Stationary Office, London.
- FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación) / PNUMA (Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente). 1984. Conservación de los recursos genéticos de los peces: problemas y recomendaciones. Informe de la Consulta de Expertos sobre los recursos genéticos de los peces. *FAO Doc. Téc. Pesca*, (217):42 p.
- Flores, C. 1990. Caracterización de brinzales de *Cedrela odorata* L, en las áreas inundables cercanas a Cocha Cashu Rio Manu. Tesis para optar el título de Ingeniero Forestal. UNALM-Perú.
- Frankham, R.; Ballou, J.D. & Briscoe, D. 2002. Introduction to Conservation Genetics. Cambridge University Press, United Kingdom. 617 P.
- Franco, T. & Hidalgo, R. 2003. Análisis estadístico de datos de caracterización morfológica de Recursos Fitogenéticos. Boletín técnico No. 8. Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos (IPGRI), Cali, Colombia. 89 p.
- Fontdevila, A. & Moya, A. 1999. Introducción a la genética de poblaciones. Madrid, España. Síntesis. 349 p.
- Forrest, G. (1994). Biochemical markers in tree improvement programmes. *Forestry Abstracts* 55(2):123-153.
- Forest Resources Assessment (FRA). 2000. [en línea]. Bibliografía comentada: Cambios en la cobertura forestal, Nicaragua Roma, ITA, FAO. 51 p. [Consulta 23 Mayo 2008]. Disponible en [www.fao.org/forestry/webview/media?mediaId=4037&langId=1](http://www.fao.org/forestry/webview/media?mediaId=4037&langId=1)
- Galván, E. 1966. Selección y estudio de las características de la flor, la hoja y la mazorca, útiles para la identificación y descripción de cultivares de cacao. Tesis Mag. Sci. Turrialba, Costa Rica. IICA. 97 p.
- Galván, O. 1996. Análisis comparativo de crecimiento de *Cedrela odorata*, *Swietenia macrophylla*, *Amburana cearensis* en fajas de enriquecimiento y viales de extracción. Tesis para optar el título de Ingeniero Forestal. Universidad Nacional Agraria La Molina-Peru.
-

---

García Roa, M. 2003. *Estado de la diversidad biológica de los árboles y bosques en Nicaragua*. Documentos de Trabajo: Recursos Genéticos Forestales. RGF/49S Servicio de Desarrollo de Recursos Forestales, Dirección de Recursos Forestales, FAO, Roma. (Inédito).

Gillies, A.C.M.; Cornelius, J.P.; Newton, A.C.; Navarro, C.; Hernández, M. & Wilson, J. 1997. Genetic variation in Costa Rican populations of the tropical timber species *Cedrela odorata* L., assessed using RAPDs. *Molecular Ecology* 6: 1133-1145.

González, M.A. & Sosa, P. 2002. La Palmera Canaria (*Phoenix canariensis*): Diversidad Genética e Hibridación. *Medio Ambiente CANARIAS* N° 23. s.p.

Guido, D.J. 2005. Estudio preliminar y de la diversidad genética entre 16 procedencias de *Sabal mexicana* Mart. del Pacífico de Nicaragua, aplicando la técnica RAPD. Tesis de Licenciatura. León, Nicaragua. Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua. 68 p.

García Roa, M. 2003. *Estado de la diversidad biológica de los árboles y bosques en Nicaragua*. Documentos de Trabajo: Recursos Genéticos Forestales. RGF/49S Servicio de Desarrollo de Recursos Forestales, Dirección de Recursos Forestales, FAO, Roma. (Inédito).

Huertas, M.J. 2004. Curso Sobre Técnicas En Biotecnología. CNU, UNAN-León, Nicaragua.

IPGRI, (Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos); Cornell University. (2003), [en línea]. Tecnologías de marcadores moleculares para estudios de diversidad genética de plantas: Módulo de aprendizaje. Sitios de secuencia etiquetada (Microsatélites, SCAR, CAPS, ISSR) . [Consulta 22 Mayo del 2008. Disponible en versión pdf [http://www.ipgri.cgiar.org/training/Unit10-1/MolMarkers\\_es/PDF/VOL1/IV.4.STS.pdf](http://www.ipgri.cgiar.org/training/Unit10-1/MolMarkers_es/PDF/VOL1/IV.4.STS.pdf).

INRENA (Instituto Nacional de Recursos Naturales). (2005), [en línea]. Nuestro Planeta Peligra .Lima, Peru. [Consultado 21 noviembre 2008]. Disponible en: [http://www.inrena.gob.pe/escolares/planeta/pag13\\_18.html](http://www.inrena.gob.pe/escolares/planeta/pag13_18.html).

Jara, L. F. (1998) , [en línea]. Selección y manejo de fuentes semilleras en América Central y República Dominicana. Turrialba, C.R. : CATIE. Proyecto de Semillas Forestales, 85 p. [Consultado: el 31 de Enero 2011]. Disponible en: <http://books.google.com/books?id=LtEOAQAIAAJ&printsec=frontcover&dq=seleccion+y+manejo+de+fuentes+semilleras+en+america+central+y+republica+dominicana&source=bl&ots=cT7jYhLPqb&sig=UxuzarshExCJ6aDvPxxiYr-5uw&hl=es#v=onepage&q&f=false>.

Landa, A. 2005. Manejo de recurso genético forestal. Manual de práctica. Instituto Genética Forestal .17p.

---

LINDO, E. 2007. Validación de una medida cultural y uso de Micorriza para el manejo integrado de plagas de Cedro y la Caoba, CMG&BSF, 2006-2007. Monografía, Licenciatura. León, Nicaragua. Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua. 66 p.

Mantel, N. 1967. "The detection of disease clustering and a generalized regression approach". *Cancer Res.* **27**:209-220.

Martínez, V.H. & Ochoa, S.N. 2010. Avances de la genética forestal en México. Tesis para optar el título de Ingeniero en Restauración Forestal. Texcoco, México. Universidad Autónoma de Chapingo, 187 p.

Markert, C.L. and Moller, F. (1959) [en línea]. Multiple form of enzymes: Tissue ontogenetic and species specific patterns. *Poc. Natl. Acad. Sci. (USA)* **45**: 753 -763.

Namkoong, G. & Koshy, M.P. 2001. Application of Genetic Markers to Forest tree species. Draft report to IPGRI of the project Developing Decision-making Strategies on Priorities for Conservation and Use of Forest Genetic Resources. s.p.

Navarro, C. & Hernández, G. 2001. Como introducir cedro (*Cedrela odorata*) y caoba (*Swietenia macrophylla*) dentro de cafetales: consejos prácticos para promover sistemas agroforestales. *Agroforestería en las Américas*: **8**(30): 52-54.

Navarro, C. 2002a. Genetic resources of *Cedrela odorata* L. and their efficient use in Mesoamerica. PhD thesis. University of Helsinki, Finland.

Navarro, C.; Ward, S. & Hernandez, M. 2002b. The tree *Cedrela odorata* (Meliaceae): A morphologically subdivided species in Costa Rica. *Rev. Biol. Trop.* **50** (1): 21-29.

Navarro, C.; Montagnini, F. & Hernandez, G. 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** (2-3): 217-227.

Nebauer, S.G.; Del Castillo-Agudo, L.; & Segura, J. 1999. RAPD variation within and among natural populations of outcrossing willow-leaved foxglove (*Digitalis obscura*). *Theoretical Applied Genetics* **98**: 985-994.

Nei, M. 1987. *Molecular Evolutionary Genetics*. Columbia University Press, New York, NY, USA. s.p.

NEI, M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics* **89**: 583-590.

Nei, M., 1973. Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*: 3321-3323.

---

Nesbitt, K.A.; Potts, B.M.; Vaillancourt, R.E.&Reid, J.B. 1997. Fingerprinting and pedigree analysis in *Eucalyptus globulus* using RAPD. *Silvae Genética* 46(1): 6-11.

Otero, A.; De la Cruz; M.& Onaya, K. 1997. El Uso de los RAPDs como marcadores moleculares en plantas. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*. 60:85-117.

Orantes. G. C.; Moreno. M.R. Garrido. R.E. s.f., [en línea]. Guía para identificar y establecer rodales semilleros Fundación PRODUCE .Chiapa,A.C. [Consulta 18 de enero 2011]. Disponible en pdf [http://www.producechiapas.org/manuales\\_pdf\\_produce/guia\\_rodales\\_semilleros.pdf](http://www.producechiapas.org/manuales_pdf_produce/guia_rodales_semilleros.pdf)

Parker, P.G.; Snow, A.A.; Schug, M.D.; Booton, G.C.; & Fuerst, P.A. 1998. What molecules can tell us about populations: choosing and using a molecular marker. *Ecology* 79(2): 361 -382.

PANIC.2001.Plan Ambiental De Nicaragua 2001-2005.managua – Nicaragua

Patiño, V.F. (1997), [en línea]. Depósito de documento de la FAO. Diversidad Genética en *Swietenia* y *Cedrela*. Departamento del Montes. Roma (Italia). 58 p [Consulta: el 4 de abril del 2008]. Disponible en versión pdf <http://www.FAO.org/oo6/AD111S03.htm#ch3>.

Pennington, T.D. 1981. *Flora Neotropica*; monograph 28. Meliaceae. New York Botanic Garden, New York. 360–390.

Pennington, T.D. 2006. Comments on draft proposal to include *Cedrela odorata* in Appendix II, provided as Annex to email from Noel McGough. UK CITES Scientific Authority s. p.

Phillips, W.; Rodríguez, H.& Fritz, P. 1995. Marcadores de ADN: Teoría, aplicaciones y protocolos de trabajo con ejemplos de investigaciones en cacao (*Theobroma cacao*). Serie técnica. Informe técnico # 252. CATIE. Turrialba, Costa Rica. 183 p.

Powell, W. 1992. Plant genomes, gene markers, and linkage maps. In: Moss, J. P. ed. *Biotechnology and crop improvement in Asia*. Patancheru, India. International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics: p. 297-322.

Puertas, W.J. 1999. *Genética: Fundamentos y perspectivas*. 2 ed. McGraw-Hill Interamericana. Madrid, España. 913 p.

Rafalski, A.; Morgante, M.; Powell, W.; Andre, C.; Vogel, J.M.& Tingey, S.V. 1996. *Generating and Using DNA Markers in Plants*. In: *Analysis of Nonmammalian Genomes*. Copyright © 1996 by Academic Press, Inc.

Ramanatha, R.V.& Hodgking, T. 2002. Genetic diversity and conservation and utilization of plant genetic resources. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 68: 1-19.

---

Ramírez, H.L.A. 2003, [ en línea ].Uso de isoenzima en la caracterización deGermoplasma vegetal. Universidad del Cauca, Popayán. Facultad de ciencia Agronómicavol 1 número 80-82p. [Consulta: el 17 de octubre del 2008]. Disponible: en versión pdf

<http://www.unicauca.edu/biotecnologia/ediciones/vol1/art22.pdf>.

Reyes,N. A. &Ríos, A. J.2006. Evolución de la variación somaclonalen cinco variedades de Musa regeneradas in vitro utilizando Marcadores RAPDs(Random Amplified Polymorphic DNA). Tesis, Licenciatura. León, Nicaragua.Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua. 58 p.

Rodríguez Rivas, G.; Márquez Ramírez, J. & Rebolledo Camacho, V. 2001.Determinación del potencial y eficiencia de producción de semillas en *Cedrela odorata* L.y su relación con caracteres morfométricos de frutos. ForestaVeracruzana 3(001): 23-26.

Rohlf, F.J. 2005. NTSYS-PC: Numerical Taxonomy and Multivariate AnalysisSystem.Version 2.20.Exeter Software.New York.

Shannon, C.& Weaver, W. (1949). *The mathematical theory of communication*. University of Illinois Press, Urbana-USA.144 p.

Stevens, W. D., (2001),[ en línea]. Flora de Nicaragua. St. Louis, Missouri: Missouri Botanical Garden Press. . [Consulta: el 20 de marzo 2008]. Disponibleen: <http://www.mobot.org/MOBOT/research/nicaragua/welcome.shtml>

STATISTICA.1996. Statsoft, INC., Tulsa, USA.

Spooner, D.; Van, T. R.& De Vicente, M.C. 2005.Molecular markers forgenebank management. IPGRI Technical Bulletin No. 10. s.p.

Solís R.L.Y. Iglesias A.L.G , (2001) [en línea]. Variación en la composición isoenzimáticaen la población de pinus hartwegiilndl. Del pico de orizaba, Veracruz. Cuadernos de Biodiversidad Publicación cuatrimestral del Centro Iberoamericano de la Biodiversidad Octubre 2001. Nº 8. Año III. [Consulta: el 27 de octubre del 2008]. Disponible en versiónpdf. <http://www.va.es/es/información/biodiversidad/cuadbio08.pdf>

Soli, R.L.&Andrade,T.A. (2005), [en línea].¿Que son los marcadores moleculares?.Revista de Divulgación científica y tecnológica de la universidad Veracruzana.VolumenXVIII.Numero1.[Consulta:el28de octubre del 2008].Disponible en versión pdf

<http://www.uv.mx.cienciahombre/revista/vol18num1/articulo/molecular/index.htm>.

Surzycki, S. 2002. Basic Techniques in Molecular Cloning.Londres, ING, Spring. s.p.

Tijerino, A. 2009. Determinación de la variabilidad genética en cinco poblaciones naturales de *Cedrela odorata* utilizando la técnica de RAPD. Tesis, Licenciatura. León, Nicaragua. Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua. 89p.

Tanon, A.; Ruiz, M. & Otegui, M. 2002. Utilidad de los Marcadores Moleculares en el Mejoramiento Genético de Especies Forestales. Novenas Jornadas Técnicas Forestales. INTA-FCF-MEYRNRYT-El Dorado, Misiones, Argentina. s.p.

Watson, J.D.; Gilman, M.; Witkowski, J. & Zoller, M. 1991. Recombinant DNA. 2 ed. USA, Scientific American Books. 619 p.

Waugh, R. & Powell, W. 1992. Using RAPD markers for crop improvement. *Tibtech* 10:186-191.

Welsch, J. & McClelland, M. 1990. Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. *Nucl. Acids Research* 18 (24): 7213-7218.

Williams, L. & Ramos, E. 2000. Uso de marcadores RAPDs (Random Amplified Polymorphic DNA) para evaluar la variabilidad genética en 7 cultivares de *Jatropha curcas* L. Tesis, Licenciatura. León, Nicaragua. Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua. 61p.

Williams, J. G. K.; Kubelik, A.R.; Livak, K.J.; Rafalski, J.A. & Tingey, S.V. 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Research* 18(22): 6531-6535.

Yeh, F.C. & R.C. Yang, 2000. POPGENE Version 1.31: Microsoft Window-based Freeware for Population Genetic Analysis. University of Alberta and Center for International Forestry, Edmonton, Canada.

Zambrano, A.; Demey, J.R.; Fuenmayor, F.; Segovia, V. & Gutiérrez, Z. 2003. Diversidad Genética de una Colección de Yuca a través de Marcadores Moleculares RAPDs. *Agronomía Tropical* 53(2): 157-173.

---

## GLOSARIO

### A

**Adaptación:** Propiedad de los seres vivos que le permite subsistir y acomodarse cuando varían las condiciones del medio.

**AFLP:** Fragmento amplificado de longitud polimórfica. Es un tipo de marcador molecular que involucra la amplificación de un conjunto específico de fragmentos de restricción mediante PCR utilizando un precursor marcado.

**Aislamiento geográfico:** Imposibilidad de cruzamiento de dos o más poblaciones a causa de su separación por barrera geográficas o climáticas.

**Alogamia:** La transferencia del polen (es decir, la polinización) desde la antera de la flor de una planta al estigma de la flor de una planta genéticamente diferente. *Ver también* Polinización cruzada.

**Alozimas:** Forma electroforéticamente distinguibles de una enzima que son codificadas por distintos alelos. **Apareamiento no aleatorio:** Veases endogamia.

**Autofecundación:** Tipo de fecundación, relativamente frecuentes en los vegetales, por el que los gametos masculinos de un individuo fecunda los gametos femeninos del mismo.

### B

**Cebadores:** Secuencias flanqueadas de ADN, usados en la PCR para iniciar la amplificación.

**Codominante:** Condición en la cual el heterocigoto exhibe el fenotipo de ambos

homocigotos. Ambos alelos producen efectos detectables en condición heterocigoto.

**Coficiente de correlación cofenético.** Es una medida de que tan bien un árbol representa en dos dimensiones las relaciones multidimensionales dentro de los datos entrantes.

**Conservación:** Práctica y método que se aplica para la perpetuación de la pureza genética.

### D

**Diversidad genética:** Una medida de la variabilidad que representa la probabilidad de que dos nucleótidos, haplotipos, fragmentos de restricción o electromorfos sean distintos en una muestra de una población. Coincide con la heterocigosis esperada en una población de un organismo diploide de apareamiento al azar.

**Deforestación:** Tala de todos los árboles en un área extensa.

**Deriva genética:** Cambios en la frecuencias de los alelos a lo largo de una generación en, debido al azar exclusivamente. Los efectos son más pronunciados en poblaciones pequeñas.

### E

**Electroforesis:** Técnica para separar moléculas de diferentes tamaños y cargas, típicamente DNA ó proteínas. La muestra se pone en una matriz que generalmente es un gel.

**Endémica:** Respecto a filogenética, se refiere a planta, población o especie nativa o

propia de una región o medio ambiente particular.

**Endogamia:** Apareamientos no aleatorio entre parientes muy cercanos que comparten muchos alelos idénticos; a veces fija alelos nocivos.

**Entomofilia:** Plantas cuya polinización está asegurada por los insectos.

**Equilibrio de Hardy-Weinberg:** Estado de una población panmíctica, sometida exclusivamente a las leyes de la transmisión mendeliana, en que las frecuencias génicas y genotípicas se mantienen constantes.

**Estructura genética:** Se entiende como estructura genética de una especie a la cantidad y distribución de la variación genética dentro y entre poblaciones de dicha especie.

**Especies:** Conjunto de poblaciones naturales, real o potencialmente capaces de compartir e intercambiar entre sí un mismo acervo genético.

## F

**Fenotípico:** Carácter expresado en los individuos como resultado de la interacción genotipo medio ambiente; o sea, la presencia visual u objetiva que es susceptible de apreciación y de evaluación; o sea un caracteres cualitativos o en cuantitativo

**Fustes:** En los árboles, el tallo o tronco robusto y recto, de su base hasta las primeras ramificaciones; término de uso común por los forestales.

**Flujo de genes:** Procesos microevolutivos; los alelos entran y sales de una población inmigrando o emigrando. Contrarresta la

mutación, la selección natural y la deriva genética; también el aislamientos reproductor.

## G

**Genes:** Segmentos específicos de ADN que controlan las estructuras y funciones celulares; la unidad funcional de la herencia.

**Genotipo:** Estructura genética de un individuo; par de genes o sumas total de los de un individuo.

## H

**Hábitat:** Lugar donde vive regularmente un organismo o especie; se caracteriza por sus rasgos físicos y químicos, así como por la distribución de especies.

**Heterocigotos:** Portador de dos alelos diferentes en un locus. Cuando es usado para referirse al genotipo total, indica que los individuos tienen diferentes alelos en muchos locus. Cuando es usado para referirse a una especie, se dice que tiene baja o alta heterocigocidad con respecto a otra para indicar que la especie tiene un número relativamente alto de loci variables

**Homocigoto:** Portador de dos alelos idénticos en un locus, en muchos locus, o en la especie entera.

**Huerto Semillero:** Es un área donde se establecen y manejan fenotipos o genotipos superiores en forma extensiva y completa para obtener semillas

## I

**Isoenzima:** Cada una de las formas moleculares diferentes de una misma enzima.

**Locus:** Un sitio de un cromosoma ocupado por un gen específico; el gen mismo, en todos sus estados alélicos.

## M

**Marcadores morfológicos:** Son aquellos cuya expresión fenotípica son observadas a simple vista, generalmente asociada a caracteres como colores, formas o dimensiones expresadas en los individuos; son caracteres influenciados por el ambiente y por interacciones génicas (epistasia) por lo que es difícil de diferenciar los efectos genéticos de los efectos ambientales.

**Marcadores genéticos:** es un carácter cuantificable que puede detectar variación ya sea en una proteína o en una secuencia de ADN.

**Marcadores moleculares:** Un alelo, una banda en un gel o un carácter que sirve experimentalmente como sonda para identificar a un individuo o a alguna de sus características.

**Marcadores de ADN:** Un marcador de ADN es simplemente un punto de referencia en un cromosoma, que puede o no corresponder a un gen.

**Mejoramiento genético:** La propagación y manipulación genética mediante la hibridación o la autogamia deliberada de planta.

**Mejoramiento Forestal:** Es un proceso de identificación y desarrollo de poblaciones genéticamente superiores de especies forestales, y el uso de estas poblaciones como fuentes de semilla (u otro material propagativo) para establecer plantaciones mejoradas.

**Mutación:** Cambio hereditario en la estructura molecular del ADN. Fuente original de nuevos alelos y de la diversidad de la vida.

## N

**Nicho ecológico:** Suma total de todas las actividades y relaciones en que participan los miembros de una especie, al asegurar y emplear los recursos necesarios para sobrevivir y reproducirse.

## P

**PCR:** Técnica para la amplificación de regiones específicas de ADN por el uso de cebadores de secuencia específica y ciclos múltiples de síntesis de ADN, cada ciclo es seguido por un corto tratamiento de calor para separar hebras complementarias.

**Polimorfismo:** Porcentaje de loci variables. Se establece que un locus es polimórfico si el alelo más frecuente no supera el 95% (o el 99% queremos ser más restrictivos).

**Población:** Es un grupo de individuos que viven en una misma área geográfica y que comparten un mismo conjunto de genes.

## R

**RAPD:** (Random Amplified Polymorphic DNA): Es un tipo de marcador molecular que involucra la visualización de fragmentos de DNA de diferentes tamaños generados por PCR utilizando primarios de secuencia arbitraria y electroforesis.

## RFLP

**(Restriction Fragment Length Polymorphism):** Fragmentos de restricción de longitud polimórfica. Son uno de los marcadores

---

moleculares de mayor utilización en mejoramiento genético.

**Reproducción cruzada:** Véase alogamia.

**Rodal Semillero:** como un grupo de árboles de la misma especie, donde predominan árboles fenotípicamente aceptables y donde han sido eliminados los ejemplares morfológicamente no deseables, el cual es manejado técnicamente para aumentar la cantidad y calidad de las semillas producidas.

## S

**Selección natural:** Proceso microevolutivo; resultado de las diferencias de supervivencias y reproducción entre los miembros de una población que se distinguen en los detalles de sus rasgos hereditarios.

## T

**Taq-polimerasa:** Es una enzima ADN polimerasa ADN dependiente termoestable.

Tiene la propiedad de restituir la doble cadena de ADN usando una cadena simple como molde a partir de un punto determinado, fijado en este caso, por el iniciador.

## V

**Variabilidad genética:** Es la variación en la composición genética de los individuos dentro de la especie o entre especies diferentes; es la variación genética hereditaria dentro de las poblaciones y entre ellas.

**Variación:** Ocurrencia de diferencias genotípicas en una población o en una especie.

**Vermífugas:** Compuesto capaz de expulsar del organismo los gusanos parásitos.

## ANEXO

Tabla 2. Matriz de datos morfológicos de 5 poblaciones de *C. odorata* L. de Nicaragua

| ACCESIÓN | POBLACIÓN  | COD | DAP    | HP    | HF    | DC    |
|----------|------------|-----|--------|-------|-------|-------|
| 1        | El Casita  | C1  | 469,00 | 24,00 | 5,00  | 27,80 |
| 2        | El Casita  | C2  | 359,00 | 31,00 | 5,00  | 28,00 |
| 3        | El Casita  | C3  | 198,00 | 17,00 | 7,00  | 15,00 |
| 4        | El Casita  | C4  | 250,00 | 17,00 | 6,00  | 20,70 |
| 5        | El Casita  | C5  | 500,00 | 27,00 | 6,00  | 25,75 |
| 6        | El Casita  | C6  | 290,00 | 30,00 | 2,5   | 18,10 |
| 7        | El Casita  | C7  | 230,00 | 24,00 | 8,00  | 19,70 |
| 8        | El Casita  | C8  |        | 28,00 | 9,00  | 23,00 |
| 9        | El Casita  | C9  | 26,10  | 16,00 | 5,00  | 8,70  |
| 10       | El Casita  | C10 | 75,12  | 24,50 | 3,50  | 13,80 |
| 11       | El Casita  | C11 | 50,93  | 17,75 | 3,50  | 13,00 |
| 12       | El Casita  | C12 | 75,44  | 19,00 | 10,00 | 14,35 |
| 13       | El Casita  | C13 | 95,49  | 32,00 | 5,00  | 21,70 |
| 14       | El Casita  | C14 | 102,18 | 10,50 | 20,50 | 20,50 |
| 15       | El Casita  | C15 | 114,59 | 23,50 | 8,50  | 24,50 |
| 16       | El Casita  | C16 | 54,11  | 14,75 | 2,00  | 12,30 |
| 17       | Esquipulas | E1  | 80,85  | 20,50 | 2,50  | 16,70 |
| 18       | Esquipulas | E2  | 71,30  | 26,00 | 6,00  | 15,40 |
| 19       | Esquipulas | E3  | 88,81  | 22,00 | 31,50 | 18,40 |
| 20       | Esquipulas | E4  | 88,49  | 21,00 | 6,00  | 27,50 |
| 21       | Esquipulas | E5  | 54,11  | 16,50 | 4,00  | 16,80 |
| 22       | Esquipulas | E6  | 46,47  | 14,00 | 4,50  | 14,50 |
| 23       | Esquipulas | E7  | 42,02  | 13,00 | 7,25  | 11,00 |
| 24       | Esquipulas | E8  | 63,66  | 13,75 | 5,00  | 16,40 |
| 25       | Esquipulas | E9  | 55,07  | 18,75 | 4,75  | 14,90 |
| 26       | Esquipulas | E10 | 60,16  | 18,75 | 3,00  | 19,30 |
| 27       | Esquipulas | E11 | 70,66  | 17,00 | 5,00  | 15,40 |
| 28       | Esquipulas | E12 | 116,18 | 15,00 | 3,25  | 16,40 |
| 29       | Esquipulas | E13 | 70,35  | 17,50 | 5,25  | 16,40 |
| 30       | Esquipulas | E14 | 90,72  | 20,25 | 8,25  | 26,80 |

|    |             |     |        |       |       |       |
|----|-------------|-----|--------|-------|-------|-------|
| 31 | Esquipulas  | E15 | 102,18 | 24,75 | 5,25  | 21,00 |
| 32 | Esquipulas  | E16 | 238,73 | 25,00 | 11,50 | 16,60 |
| 33 | Esquipulas  | E17 | 112,68 | 26,25 | 5,50  | 22,20 |
| 34 | Esquipulas  | E18 | 46,79  | 16,25 | 2,25  | 11,00 |
| 35 | Esquipulas  | E19 | 46,47  | 17,50 | 7,50  | 13,30 |
| 36 | Esquipulas  | E20 | 50,93  | 15,25 | 3,25  | 18,00 |
| 37 | Esquipulas  | E21 | 60,48  | 12,25 | 3,50  | 9,85  |
| 38 | Esquipulas  | E22 | 70,98  | 21,00 | 5,00  | 13,00 |
| 39 | La Trinidad | T1  | 56,02  | 14,75 | 4,50  | 15,80 |
| 40 | La Trinidad | T2  | 75,44  | 15,50 | 5,00  | 21,80 |
| 41 | La Trinidad | T3  | 46,15  | 18,50 | 4,00  | 17,50 |
| 42 | La Trinidad | T4  | 59,84  | 21,50 | 4,50  | 11,00 |
| 43 | La Trinidad | T5  | 51,25  | 22,50 | 4,50  | 7,50  |
| 44 | La Trinidad | T6  | 121,91 | 37,00 | 5,00  | 26,00 |
| 45 | La Trinidad | T7  | 66,84  | 28,50 | 4,00  | 15,50 |
| 46 | La Trinidad | T8  | 71,94  | 19,75 | 2,25  | 13,80 |
| 47 | La Trinidad | T9  | 68,12  | 18,50 | 1,50  | 14,00 |
| 48 | La Trinidad | T10 | 36,92  | 20,00 | 0,00  | 12,30 |
| 49 | La Trinidad | T11 | 78,94  | 20,00 | 3,00  | 17,00 |
| 50 | La Trinidad | T12 | 71,62  | 22,00 | 6,50  | 17,40 |
| 51 | La Trinidad | T13 | 71,94  | 23,00 | 2,50  | 19,20 |
| 52 | La Trinidad | T14 | 60,48  | 14,00 | 5,00  | 23,50 |
| 53 | El Refugio  | R1  | 98,36  | 20,50 | 5,25  | 22,60 |
| 54 | El Refugio  | R2  | 106,63 | 30,00 | 10,00 | 22,00 |
| 55 | El Refugio  | R3  | 48,38  | 27,00 | 6,00  | 12,80 |
| 56 | El Refugio  | R4  | 48,70  | 27,00 | 6,50  | 14,65 |
| 57 | El Refugio  | R5  | 68,12  | 21,00 | 7,75  | 16,40 |
| 58 | El Refugio  | R6  | 84,99  | 24,00 | 6,25  | 19,60 |
| 59 | El Refugio  | R7  | 77,35  | 26,00 | 8,00  | 19,20 |
| 60 | El Refugio  | R8  | 74,17  | 22,50 | 3,50  | 19,30 |
| 61 | El Refugio  | R9  | 98,68  | 26,25 | 3,00  | 20,00 |
| 62 | El Refugio  | R10 | 65,57  | 18,00 | 4,50  | 19,10 |
| 63 | El Refugio  | R11 | 36,61  | 17,50 | 8,25  | 10,00 |
| 64 | El Refugio  | R12 | 49,97  | 20,75 | 6,00  | 14,30 |
| 65 | El Refugio  | R13 | 100,59 | 20,75 | 4,25  | 26,50 |
| 66 | El Refugio  | R14 | 36,92  | 20,50 | 10,50 | 10,80 |
| 67 | El Refugio  | R15 | 40,74  | 15,50 | 9,50  | 8,70  |
| 68 | El Refugio  | R16 | 67,80  | 16,50 | 6,50  | 16,00 |
| 69 | El Refugio  | R17 | 49,97  | 15,50 | 5,25  | 15,50 |
| 70 | El Refugio  | R18 | 40,11  | 17,50 | 5,25  | 11,50 |
| 71 | El Refugio  | R19 | 38,52  | 15,50 | 6,25  | 8,60  |

|    |            |     |       |       |       |       |
|----|------------|-----|-------|-------|-------|-------|
| 72 | El Refugio | R20 | 46,47 | 16,50 | 3,50  | 12,70 |
| 73 | Masatepe   | M1  | 60,48 | 23,00 | 8,50  | 11,90 |
| 74 | Masatepe   | M2  | 35,01 | 17,50 | 5,75  | 7,60  |
| 75 | Masatepe   | M3  | 44,56 | 12,25 | 2,75  | 9,40  |
| 76 | Masatepe   | M4  | 56,66 | 16,75 | 2,50  | 12,80 |
| 77 | Masatepe   | M5  | 53,48 | 17,75 | 6,75  | 14,60 |
| 78 | Masatepe   | M6  | 54,75 | 17,00 | 3,00  | 13,50 |
| 79 | Masatepe   | M7  | 57,61 | 19,00 | 6,00  | 11,00 |
| 80 | Masatepe   | M8  | 49,66 | 16,50 | 4,75  | 12,50 |
| 81 | Masatepe   | M9  | 35,01 | 12,50 | 2,25  | 13,10 |
| 82 | Masatepe   | M10 | 61,12 | 18,00 | 5,25  | 17,90 |
| 83 | Masatepe   | M11 | 73,21 | 23,00 | 6,25  | 17,00 |
| 84 | Masatepe   | M12 | 77,35 | 18,25 | 9,50  | 18,30 |
| 85 | Masatepe   | M13 | 56,34 | 20,50 | 8,00  | 15,20 |
| 86 | Masatepe   | M14 | 54,75 | 20,00 | 5,00  | 17,80 |
| 87 | Masatepe   | M15 | 60,48 | 20,00 | 5,25  | 17,50 |
| 88 | Masatepe   | M16 | 57,93 | 17,00 | 3,75  | 16,20 |
| 89 | Masatepe   | M17 | 81,81 | 20,00 | 10,00 | 16,50 |
| 90 | Masatepe   | M18 | 59,21 | 19,50 | 3,75  | 11,00 |
| 91 | Masatepe   | M19 | 44,56 | 14,75 | 3,50  | 13,40 |
| 92 | Masatepe   | M20 | 38,20 | 15,50 | 7,50  | 8,90  |

Tabla 2. Valores de  $\Phi$ ST entre pares de poblaciones obtenidos por Tijerino (2009), a partir de datos RAPD de muestras de *Cedrela odorata*

|     | CAS   | ESQ   | MAS   | REF   | TRI   |
|-----|-------|-------|-------|-------|-------|
| CAS | 0.000 |       |       |       |       |
| ESQ | 0.081 | 0.000 |       |       |       |
| MAS | 0.154 | 0.062 | 0.000 |       |       |
| REF | 0.197 | 0.116 | 0.093 | 0.000 |       |
| TRI | 0.241 | 0.188 | 0.173 | 0.152 | 0.000 |

Volcán Casita (CAS), Esquipulas (ESQ), Masatepe (MAS), El Refugio (REF), La Trinidad (TRI).