

**DISTRIBUCIÓN DE LA DIVERSIDAD GENÉTICA DE DIOMATE (*Astronium graveolens*
Jacq) EN EL BOSQUE SECO TROPICAL DE COLOMBIA**

**MAESTRIA EN MANEJO, USO Y CONSERVACION DEL BOSQUE
UNIVERSIDAD DISTRITAL FRANCISCO JOSE DE CALDAS**

ANJULY TATIANA MORILLO PAZ

Director: EVERT THOMAS

**TRABAJO DE GRADO
Presentado como requisito parcial para optar al título de
MAGISTER EN MANEJO, USO Y CONSERVACION DEL BOSQUE**

Bogotá, Agosto de 2018

*Al ángel que cuida mis pasos desde el cielo, Campo Paz.
A mi maestra de independencia, libertad y aventura, Luz Portillo.
A mi mayor fuente amor y apoyo, Lucy y Carlos.
A mi cómplice y mi mejor ejemplo de tenacidad, Juanita.
A la alegría y refugio de mi vida, Lucas.*

APROBADO

EVERT THOMAS

**Científico Asociado, Conservación y Uso de los Recursos Genéticos Forestales en
Latinoamérica**

Bioversity International

Director

Evaluador 1

Evaluador 2

TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN	7
ABSTRAC	8
INTRODUCCIÓN	9
MÉTODOS	12
Área de Estudio	12
Extracción de ADN	13
Amplificación de Microsatélites	14
Análisis de datos moleculares	15
Representación cartográfica de parámetros genéticos.....	16
Determinación de idoneidad de nicho actual y pasado	17
RESULTADOS	18
Patrones de diversidad de <i>A. graveolens</i>	18
Estrucutra genética de poblaciones de <i>A. graveolens</i>	21
Idoneidad de nicho actual.....	24
Idoneidad de nicho pasado	25
DISCUSIÓN	26
Conclusiones y recomendaciones.....	31
BIBLIOGRAFÍA	33
ANEXOS	38

LISTA DE TABLAS

Tabla 1 Número de Individuos de <i>Astronium graveolens</i> colectados en el Bosque seco Tropical de Colombia.....	12
Tabla 2 Marcadores microsatélites para la especie <i>Astronium urundeuva</i> (Caetano et al., 2005) utilizados para la caracterización molecular de <i>Astronium graveolens</i>	14
Tabla 3 Media y desviación estándar de parámetros genéticos obtenidos para las 10 poblaciones de <i>A. greveolens</i> de áreas de BsT en Colombia, determinados a partir de marcadores moleculares de tipo SSR.	19

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Relación de número de alelos identificados para cada marcador microsatélite.	15
Figura 2 Media de parámetros genéticos obtenidos para las 10 poblaciones de <i>A. greveolens</i> de áreas de BsT en Colombia, determinados a partir de marcadores moleculares de tipo SSR.	19
Figura 3. Representación espacial de los parámetros genéticos identificados para las poblaciones de <i>A. graveolens</i> , sobre las capas de idoneidad de nicho actual (Verde oscuro) y la distribución histórica del BsT Colombiano (Verde Claro).	20
Figura 4. Valores de Delta K para diferentes escenarios de grupos genéticos identificados en los datos, según la metodología de Evanno <i>et al</i> (2005).....	21
Figura 5. Participación de los individuos de cada población en el número de grupos genéticos inferidos (K=3).....	22
Figura 6 Representación espacial de grupos genéticos identificados para las poblaciones de <i>A. graveolens</i> , sobre las capas de idoneidad de nicho actual (Verde oscuro) y la distribución histórica del BsT Colombiano (Verde Claro).	23
Figura 7 Análisis de Correspondencia (AC) para las 10 poblaciones de <i>A. graveolens</i> evaluadas...	24
Figura 8. Modelo de distribución de idoneidad de nicho pasado para <i>A. graveolens</i> :	26

CAPÍTULO 1: DISTRIBUCIÓN DE LA DIVERSIDAD GENÉTICA DE DIOMATE (*Astronium graveolens* Jacq) EN EL BOSQUE SECO TROPICAL DE COLOMBIA

RESUMEN

El ecosistema del Bosque Seco Tropical hace parte de la lista roja de ecosistemas de Colombia debido a su grado de vulnerabilidad y a los procesos de fragmentación y degradación a los que se encuentra sometido. La degradación de este ecosistema representa también la pérdida de la diversidad genética intra e inter específica especies que lo conforman, dificultando la ejecución de actividades de conservación y restauración con bases genéticas adecuadas que permitan la respuesta de los ecosistemas a los cambios ambientales. En este estudio evaluamos la distribución de la diversidad y estructura genética de *Astronium graveolens*, una especie representativa del ecosistema de Bosque seco Tropical, en 10 poblaciones localizadas en remanentes de este ecosistema en Colombia. La información de diversidad genética fue obtenida a partir de marcadores moleculares microsátélites y fue comparada con la distribución espacial del ecosistema en el presente y en el pasado (Último Máximo Glacial (LGM) y Holceno medio (MH)). Encontramos que las poblaciones tienden a conformar tres grupos genéticos. Las poblaciones localizadas en la región Caribe presentan los mayores rangos de diversidad. La población localizada en Guamo, Bolívar además de presentar altos valores de diversidad, presenta altos niveles de endogamia. Las proyecciones de nicho en pasado y la identificación de alelos localmente comunes permiten entender posibles procesos de expansión y sugieren que las poblaciones de Chicamocha albergan la diversidad genética que dio origen a las actuales poblaciones de *A. graveolens* en la región Caribe. La mayoría de las poblaciones muestreadas mostraron valores de heterocigosidad cercanos a las expectativas de Hardy-Weinberg. Sin embargo, la población de Guamo se convierte en una población relevante para procesos de conservación y restauración debido a sus altos valores de endogamia y su importancia por albergar altos niveles de alelos localmente comunes. Los valores más bajos de diversidad están asociados a áreas con menor

cobertura de nicho, como lo son las poblaciones del Valle de Cauca, dónde incluso en periodos pasados (LGM y MH) la idoneidad de nicho se presenta en fragmentos pequeños respecto a los identificados en la región Caribe.

Palabras Clave: Bosque Seco Tropical; Conservación, *Astronium graveolens*; Diversidad genética; Marcadores Microsatelites; Modelación de Nicho.

ABSTRACT

The Tropical Dry Forest is currently included in the Colombian ecosystems' red list due to its vulnerability and ongoing processes of fragmentation and degradation. The degradation of this ecosystem is accompanied by a loss in the genetic diversity of tree species contained in it, limiting opportunities for the implementation of conservation and restoration programs that embrace genetic diversity to enhance the capacity of ecosystems to adapt to environmental changes. We studied the genetic diversity and structure of *Astronium greveolens*, a representative species of the Tropical Dry Forest ecosystem, in 10 local populations located in remnants of this ecosystem in Colombia. The genetic diversity information was obtained from molecular microsatellite markers and it was compared with the modeled spatial distribution of the ecosystem in the present and past (Last Glacial Maximum (LGM) and mid-Holocene (MH)). We identified three genetic groups in the populations. The populations located in the Caribbean region presented the highest diversity ranges. The population located in Guamo, Bolívar in addition to holding high diversity showed evidence of inbreeding. Patterns in habitat suitability under past climates and richness of locally common alleles might explain possible processes of expansion and suggest that the Chicamocha populations harbor the genetic diversity that gave rise to the current *A. graveolens* populations in the Caribbean region. Most of the populations sampled showed heterozygosity scores close to the Hardy-Weinberg expectations. However, the positive values of inbreeding coefficient found at the Guamo population together with its importance for harboring high levels of locally common alleles, suggest this is a

priority area for conservation and restoration effort. The lowest diversity values are associated with areas with lower niche coverage, such as the “Valle del Cauca” populations, where even in past periods (LGM and MH) the niche suitability is presented in small fragments compared to those identified in the Caribbean region.

Keywords: Tropical Dry Forest; Conservation; *Astronium graveolens*; Genetic diversity; Microsatellite markers; Suitability modelling.

INTRODUCCIÓN

El ecosistema de Bosque seco Tropical (BsT), originalmente cubría en Colombia cerca de nueve millones de hectáreas, ubicadas principalmente en la región Caribe y en los valles interandinos de los ríos Magdalena y Cauca entre los 0 y 1000 m de altitud (Pizano *et al.*, 2014). Sin embargo, debido al desarrollo histórico de actividades antrópicas y bajos niveles de conservación de sus remanentes, actualmente sólo se conserva el 8% de éste ecosistema, por lo cual se considera como un ecosistema en estado crítico (CR) en la Lista Roja de Ecosistemas de Colombia -Versión 2,0 ((Etter *et al.*, 2015, 2008; Pizano *et al.*, 2014). Uno de los aspectos más críticos de los bosques de estos ecosistemas es que se encuentran localizados en fragmentos dispersos en paisajes transformados, que en regiones como la del valle del Río Cauca presenta fragmentos de tamaño promedio de 6 hectáreas (Arcila-Cardona *et al.*, 2007; Pizano *et al.*, 2014).

La fragmentación de los bosques y la pérdida de hábitat disminuyen el tamaño de las poblaciones arbóreas efectivas y aumenta su aislamiento genético en el espacio debido a los efectos que se pueden producir sobre procesos de dispersión o polinización entre relictos (Vinceti *et al.*, 2004). La reducción del tamaño poblacional puede conducir a la pérdida aleatoria de genes o pérdida de heterocigosidad generando cambios importantes en la estructura genética del rodal de bosque, lo cual a su vez puede generar la disminución de la capacidad general de las poblaciones para adaptarse a cambios en el ambiente o incluso su extensión, siendo la diversidad genética un factor relevante para la estabilidad y resiliencia de los ecosistemas (Bozzano *et al.*, 2014; Loo, 2011; Moritz *et al.*, 2001). Sin embargo,

la pérdida de hábitat en el BsT y los cambios ambientales no tienen el mismo efecto entre las diferentes especies que lo conforman y la respuesta de cada especie para mantenerse puede estar influenciada por el estado de su diversidad genética, su respuesta a procesos de fragmentación, tamaño poblacional y hábitat a nivel histórico (Thomas et al., 2014b). Conocer tendencias históricas de la distribución del hábitat en combinación con la diversidad genética puede ayudar a comprender de manera objetiva el origen y la distribución de los diversos grupos genéticos dentro de las especies, ya que la estructura genética de las poblaciones es diferente para aquellas que comenzaron con una pequeña cantidad de fundadores, o como resultado de un cuello de botella respecto a las especies ampliamente extendidas que se han reducido a pequeñas poblaciones dispersas (Loo, 2011). En este sentido, el estudio de los aspectos históricos permite la comparación de las tendencias de distribución actuales con las pasadas y comprobar si se está produciendo diferenciación de poblaciones que puedan generar un incremento o disminución de la diversidad genética comprometiendo la supervivencia de la población o la especie (Jiménez, 2000).

Astronium graveolens es una especie forestal conocida en Colombia como diomate o gusanero, perteneciente a la familia Anacardeaceae y representativa del ecosistema de BsT en Colombia (Bernal et al., 2014). Esta especie hace parte de la “Estrategia Nacional de Conservación de Plantas” – ENCP para la región del Caribe colombiano y se ha reportado entre las de mayor índice de Valor de Importancia en regiones como Santander, Caribe y Valle del río Magdalena (Pizano et al., 2014; Carrillo-fajardo, 2007; Olascuaga-Vargas et al., 2016, Carbonó-Delahoz et al, 2010; Medoza, 1999). Es una especie dioica, con pequeñas flores que se presentan con mayor frecuencia en épocas secas y que se polinizan por la acción de insectos, principalmente por avispa del género *Plebia* (Collevatti et al., 2000; Gómez et al., 2013). Presenta frutos pequeños con alas que son los sépalos persistentes del cáliz transformados, por lo cual su sistema de dispersión a través del viento le facilita su propagación y flujo genético. Adicionalmente, se presentan registros de dispersión efectiva por fauna (principalmente loros y roedores), siendo una especie dominante en etapas tempranas de sucesión de

ecosistemas de bosque seco (Bernal et al., 2014; MAPFORGEN, 2013; Marin and Flores, 1993; Pérez and Aguilar, 2014; Schwarcz et al., 2010; Villaseñor-Sánchez et al., 2010) La especie es reconocida por su comercial, artesanal y cultural (Hernández et al., 2014; Marin and Flores, 1993). Por lo anterior, consideramos importante conocer estado de diversidad genética y nicho histórico de *Astronium graveolens* con el fin de contar con bases para su uso y conservación.

Debido a la importancia ecológica de *A. graveolens* en el ecosistema de BsT podría considerarse esta especie como prioritaria para el desarrollo de actividades de conservación y restauración de estos ecosistemas. Dentro de las actividades de restauración ecológica, es necesario contar con suficiente diversidad genética para asegurar el potencial de adaptarse a los cambios y condiciones en el futuro (Thomas et al., 2014b). Acorde con lo anterior, es necesario identificar fuentes semilleras con abastecimiento de semillas basado en combinación de datos genéticos y evaluaciones ecogeográficas como una herramienta eficiente en la conservación y restauración del BsT, que integre en su análisis la diversidad alfa y beta de las especies.(Thomas et al., 2014b).

En ese sentido, el objetivo de este estudio fue evaluar la distribución de la diversidad genética de Diomate (*Astronium graveolens* Jacq) en el Bosque Seco Tropical de Colombia con el fin de proponer áreas prioritarias para la conservación y fuentes semilleros. En primer lugar, se caracterizó la diversidad genética de *A. graveolens* en el rango actual de distribución de la especie en el BsT de Colombia. En segundo lugar, evaluamos la distribución del nicho de *A. graveolens* en condiciones actuales y la comparamos con cambios en la idoneidad de nicho pasada, para mejorar nuestro entendimiento sobre la distribución actual de la diversidad genética de la especie. Con base en nuestros hallazgos, se identifican áreas de alta diversidad, que pueden ser consideradas como fuentes semillas y zonas de conservación *in situ* de las poblaciones de *A. graveolens*, además de criterios claves para guiar la selección del material de siembra con adecuada diversidad genética o susceptible a perderse por efectos del cambio climático global.

MÉTODOS

Área de Estudio

La diversidad genética de *A. graveolens* se evaluó a partir de un muestreo en remanentes de BsT presentes en las principales regiones de Colombia. Estas zonas según la descripción biogeográfica realizada por el IAvH (2014) para el BsT de Colombia corresponden a la Región Caribe (Santa Marta, Sucre y Bolívar), Región Norandina (Santander), Región del Río Magdalena (Huila), Valles interandinos del Río Cauca (Antioquia y Valle del Cauca).

Se obtuvo el material vegetal de hojas jóvenes de un total de 96 individuos provenientes de diez localidades en las cuatro regiones de BsT (Tabla 1). Para la colecta, se tuvo en cuenta una distancia de separación de 50 a 100 metros entre individuos, con el fin de evitar la colección de individuos directamente emparentados (Gonzalez, 2014). El tejido foliar colectado se almacenó en sílica gel hasta el su procesamiento en laboratorio.

Tabla 1 Número de Individuos de *Astronium graveolens* colectados en el Bosque seco Tropical de Colombia

Departamento	Municipio	Localidad	Código de identificación	No. de individuos	Coordenada*	
					x	y
		Desierto de la Tatacoa – sector Villavieja	TATsp17	10	-75.13408333	3.430833333
Huila	Villavieja	Villavieja				
Bolívar	Guamo	Guamo	GUAsp17	10	-74.89097222	10.01875
Sucre	Coloso	Coloso	COLsp17	9	-75.34513889	9.531333333
		Cañón del Chicamocha	CHIsP17	9	-72.98808333	6.819722222
Santander	Aratoca	Aratoca				
Bolívar	Zambrano	Zambrano	ZAMsp17	10	-74.89430556	9.901416667
		Zona de Amortiguamiento PNN Tayrona	ZATsp17	9	-74.11491667	11.28452778
Magdalena	Santa Marta	Mamancana	MAMsp17	9	-74.20672222	11.14197222
Antioquia	La pintada	La Pintada	PINsp17	10	-75.62038889	5.728083333

Departamento	Municipio	Localidad	Código de identificación	No. de individuos	Coordenada*	
					x	y
	Santa Fé de Antioquia	Cotove - Santa Fe de Antioquia	COT-SFE sp17	12	-75.81343706	6.533147516
	Ituango	Ituango	ITUsp17	9	-75.68486111	7.089472222
Total individuos colectados				96		

*La ubicación geográfica corresponde un punto aleatorio en la localidad de muestreo

Extracción de ADN

Con base en el protocolo de Doyle and Doyle (1990) se extrajo el ADN de las muestras foliares colectadas para cada individuo de las diez localidades de la siguiente manera. Se cortaron en pedazos aproximadamente 0,05 gr de tejido seco por individuo en tubos “Eppendorf” de 2 ml y fue molido en el “Tissue Lyser II” (QUIAGEN), usando perlas de Zirconita. Sobre el tejido pulverizado se agregó una solución de Buffer CTAB (NaCl, EDTA, Tris HCL, CTAB, PVP), SDS al 10% y Proteinasa K. La solución se mezcló con la ayuda de una punta y un Vortex VX 200 (Labnet). Una vez la mezcla estuvo homogénea se llevó a baño maría por 20 minutos a 65°C, mezclando frecuentemente. Posteriormente, se realizó un lavado con CTAB 10%, NaCl 5% y Cloroformo Isoamilico (1:10). La solución se mezcló por inversión durante 5 minutos y se llevó a una centrífuga 5415 D (Eppendorf) por 15 min a 12 rpm. Se retiraron 700 µl de sobrenadante a un tubo de 1.5 ml y se agregó una unidad de isopropanol frío. La mezcla se dejó actuar por 1 hora y se llevó a centrífuga durante 20 min. El pellet obtenido en la base de los tubos se lavó una o dos veces con etanol al 70% y con posterior centrifugación por 5 minutos. Finalmente, el pellet se dejó secar para eliminar los residuos de etanol y se diluyó con TE 1:10 con 2 µl de ARNasa por muestra. Para permitir a acción de la ARNasa se dejaron las muestras a 37°C durante una hora y se llevaron a refrigeración a 4°C para su almacenamiento.

Para la visualización de resultados se realizó electroforesis en gel de agarosa al 2% en cámara Horizon 20-25 (LABRECO) utilizando tinción con SYBR® Safe (Invitrogen). Los resultados fueron

observados con luz UV. La cuantificación de ADN se realizó con un lector de multi-detección Synergy Biotek® (BioTek), obteniendo concentraciones de ADN en un rango de 70 a 1800 ng/ul. A partir de estas concentraciones el ADN se llevó cada muestra a una concentración de 10ng/ul para la amplificación con marcadores moleculares mediante PCR.

Amplificación de Microsatélites

A partir del ADN diluido se realizaron pruebas de amplificación con los microsatélites diseñados por Caetano (2005) para *Astronium urundeuva* (Tabla 2). Para la visualización de los marcadores microsatélite se utilizó el marcador universal M13 con marcador de fluorescencia de tres diferentes colores: amarillo (NED), verde (VIC), y azul (FAM). Para permitir la hibridación de los microsatélites con el marcador M13 y con el ADN de *A. graveolens* se utilizó un perfil térmico estándar con dos temperaturas de hibridación, incluyendo en el mix BSA 3% y/o formalmida al 2.5%. La amplificación por PCR fue realizada en termociclador Eppendorf Mastercycler con un ciclo inicial de 2min a 95°C seguido por 15 ciclos de 30 seg a 94°C, una etapa de hibridación con ciclos de 30 seg a 65°C y 30 seg a 72°C y con una etapa final de 35 ciclos de 15 seg a 94°C, 15 seg a 50°C y 45 seg a 72°C.

La lectura de los productos de PCR se realizó por detección laser de fluorescencia en un secuenciador ABI PRISM 3730 (Applied Biosystems) con un marcador estándar, GeneScan-139 500LIZ (Applied Biosystems) en la Universidad de Cornell (Ithaca, New York). Los genotipos fueron medidos y anotados con base en los picos de lectura usando el programa GeneMapper V.4.0. (Applied Biosystems) para la obtención de la matriz de datos generada a partir del tamaño en pares de bases (pb) de cada alelo

Tabla 2 Marcadores microsatélites para la especie *Astronium urundeuva* (Caetano et al., 2005) utilizados para la caracterización molecular de *Astronium graveolens*

Nombre del marcador	SECUENCIA 5' – 3'	Tamaño (pb)
AgP1	Auru.J185-F TAGGCATAAAACTTGTTAC Auru.J185-R GTCTCTTGACATCAATGG	181
AgP2	Auru.D200-F TTCACCACAGGTTTGC	195

	Auru.D200-R	TAGTGAGCAACGACGAGAGC	
AgP3	Auru.B209-F	CACATTAACCTCCTAATTACAAGG	184 – 208
	Auru.B209-R	AAGCATGTGTATGACAGCTC	
AgP4	Auru.A392-F	GCAAGAAATAAAAGAATCAGATG	179 – 201
	Auru.A392-R	GTGTAACAGCCCACAGTATCAG	
AgP5	Auru.C072-F	ATGCATCTAGCTTGCTCTTTC	150 -186
	Auru.C072-R	TTAACTGTCGGGGGTTTCG	
AgP6	Auru.D167-F	TGTTGTTACGAGAGAAGGCAG	108 – 120
	Auru.D167-R	TACCCTACGTGTTATCCATCTG	
AgP7	Auru.D282-F	TTGAAAGTGGTGTCAATTAAGC	185 – 248
	Auru.D282-R	CATTTGACCATAGACAAGAGC	
AgP8	Auru.D094-F	CACATTTGAAAAATGCTAGGG	108 – 120
	Auru.D094-R	ATGGTGATGGGGAAACTCTC	
AgP9	Auru.E062-F	CAAATTGCCGTCTGGGC	80 – 90
	Auru.E062-R	GGATCGGATTCAGCGGG	

El marcador AgP5 no mostró amplificaciones para la especie *A. graveolens* por lo que se descartó. También se descartó el marcador AgP9 pues fue monomórfico para la especie. En contraste, los marcadores restantes presentaron polimorfismos entre 80 y 100%. Los marcadores AgP2 y AgP1 son los más polimórficos (>15 alelos) con coeficientes de diferenciación genética (F_{st}) de 0,90 y 0,84 respectivamente (ver figura 1).

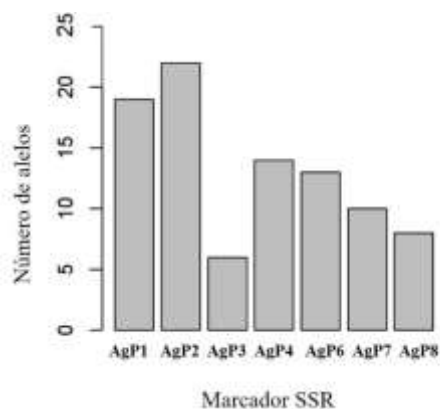


Figura 1 Relación de número de alelos identificados para cada marcador microsatélite.

Análisis de datos moleculares

A partir de los patrones de bandas obtenidos para los marcadores microsatélites se realizaron los análisis de estructura genética mediante el programa Structure 2.3.4 (Pritchard et al., 2000) a partir

del método bayesiano. Este método permite estimar la probabilidad de pertenencia de cada individuo a los grupos genéticos identificados en los datos (Peña, 2010). Para cada población, se calculó el número promedio de alelos observados (N), riqueza alélica (N_a), el índice de Shanon (I), la heterocigosidad observada (H_o) y esperada (H_e) bajo el equilibrio de Hardy-Weinberg (Nei, 1973) utilizando el software GeneAIEx 6.5 (Peakall and Smouse, 2006). Se realizaron análisis genéticos complementarios como F_{ST} (Nei, 1973), AMOVA y Análisis de Correspondencias (AC)(Excoffier et al., 1992), los cuales se llevaron a cabo en el software R3.4.3 con los paquetes Adegenet y Poppr versión 2.0.2 (Kamvar et al., 2014).

Representación cartográfica de parámetros genéticos

Para visualizar la distribución geográfica en la diversidad de *A. graveolens*, se realizaron vecindarios circulares de 10 minutos de diámetro (18 km en el Ecuador) a una resolución espacial de 30 segundos, siguiendo a Thomas *et al.* (2012). En las zonas de superposición entre vecindarios, los parámetros de diversidad genética se calcularon como si los árboles de ambas poblaciones muestreadas formaran parte de una población reproductora efectiva. Los cálculos de los parámetros genéticos que se incluyeron en la representación cartográfica del nicho en el tiempo presente, fueron los obtenidos para evaluar la diversidad genética de las poblaciones (N_a , I , H_o , H_e). La modelación de nicho pasado fue analizada con el parámetro genético de alelos localmente comunes (ALC), ya que la variación ecogeográfica de las especies puede estar vinculada a estos alelos, permitiendo identificar una fracción importante de los recursos genéticos base de la especie y permitiendo entender el origen de los diferentes grupos genéticos.

Los valores para cada parámetro fueron sometidos a una corrección de sesgo muestral para su visualización sobre la cartografía. Para ello, los parámetros genéticos se calcularon como los valores promedio obtenidos para 1000 submuestras del tamaño mínimo de muestra de 8 árboles por celda de la cuadrícula. Todos los mapas fueron editados en el software ArcMap 10.2.

Determinación de idoneidad de nicho actual y pasado

La modelación del nicho de *A. graveoles*, se construyó a partir de una base de datos de 293 coordenadas de presencia de la especie en zonas de BsT en Colombia. Estos registros incluyen las coordenadas de los 96 individuos colectados en este estudio. Los registros restantes (197 coordenadas) corresponden a los resultados de una búsqueda de datos principalmente en: (1) el Sistema de Información sobre Biodiversidad de Colombia (SIB – www.sibcolombia.net), (2) registros complementarios obtenidos en el herbario de la Universidad Nacional de Colombia (biovirtual.unal.edu.co) y (3) Red de Expertos de Bosque Seco tropical de Colombia.

Se llevó a cabo una modelación de nicho en presente y pasado con un conjunto de 10 modelos de nicho en el software R utilizando el paquete BiodiversityR (Kindt & Coe, 2005); con las funciones “ensemble test” y “ensemble raster” disponibles en la versión 2.3-6, siguiendo el protocolo implementado en Thomas *et al.* (2014a). Los modelos usados fueron: (1) Máxima entropía (MAXENT), (2) árboles de regresión ‘boosted’ (BRT, con implementación gradual), (3) random forests (RF), (4) modelos lineares generalizados (GLM, con etapas de selección de variables explicativas), (5) modelos aditivos generalizados (GAM, con etapas de selección de variables explicativas), (5) splines de regresión adaptativa multivariante (MARS), (6) árboles de regresión (RT), (7) redes neuronales artificiales (ANN), (8) análisis discriminante flexible (FDA), (9) máquina de soporte vectorial (SVM) y (10) los algoritmos BIOCLIM.

La modelación de nicho permite identificar la distribución de áreas idóneas para la especie en los escenarios pasado y presente a partir de lo cual se realizó la comparación con los parámetros de diversidad genética.

Las calibraciones del modelo para las proyecciones climáticas en el LGM y del Holoceno medio se realizaron con una resolución de 2,5 y 0,5 minutos respectivamente, utilizando las capas climáticas de WorldClim (Hijmans, 2012) como variables explicativas. Las variables utilizadas en la calibración del modelo para el periodo pasado fueron bio2, bio3, bio4, bio7, bio8, bio15, bio18 y bio19. La

capacidad de los algoritmos para modelar proyecciones pasadas fue evaluada mediante los valores calibrados del Área Bajo la Curva (cAUC) y la comparación de estos con un modelo geográfico nulo resultante de 20 repeticiones (Hijmans, 2012), por medio de las pruebas de Mann-Whitney.

Los modelos con valores de cAUC significativamente más alto que el modelo nulo se mantuvieron en el ensamble usado para las proyecciones. Seguidamente, se calcularon los valores calibrados y no calibrados del AUC para todas las posibles combinaciones de los modelos retenidos. El conjunto con los valores más altos de cAUC (0,65) se obtuvo para los modelos MAXent, GBM, GLM y FDA, por lo cual se consideraron como los más apropiados para proyectar los escenarios de las condiciones climáticas pasadas.

RESULTADOS

Patrones de diversidad de *A. graveolens*

Siete de los nueve marcadores moleculares SSR utilizados para la especie *A. urundeuva* permitieron evaluar la diversidad genética de *A. graveolens* y presentaron polimorfismos entre 80 y 100%. El marcador AgP5 se descartó por no presentar amplificaciones para la especie *A. graveolens*. El marcador AgP9 se presentó monomórfico para la especie, por lo cual también fue descartado. Los marcadores AgP2 y AgP1 fueron los más polimórficos (>15 alelos) con coeficientes de diferenciación genética (F_{st}) de 0,90 y 0,84 respectivamente.

Los resultados de los parámetros genéticos determinados con los siete marcadores moleculares (Figura 2, Anexo 1) muestran que la población con mayores valores de diversidad genética corresponde a la localizada en Guamo, Bolívar (GUA), para la que se registran los más altos valores para cuatro de los parámetros de diversidad evaluados (Riqueza alélica, índice de Shannon, Heterocigosidad esperada y corregida). Sin embargo, también presenta un valor elevado de endogamia (0.3) para esta población, respecto a las demás poblaciones evaluadas. Seguido a esta, se encuentran las poblaciones de la zona amortiguadora del Parque Nacional Natural Tayrona,

Magdalena (ZAT) y el Cañón del Chicamocha en Santander (CHI) que presentan altos valores en los parámetros de heterocigosidad e índice de Shannon.

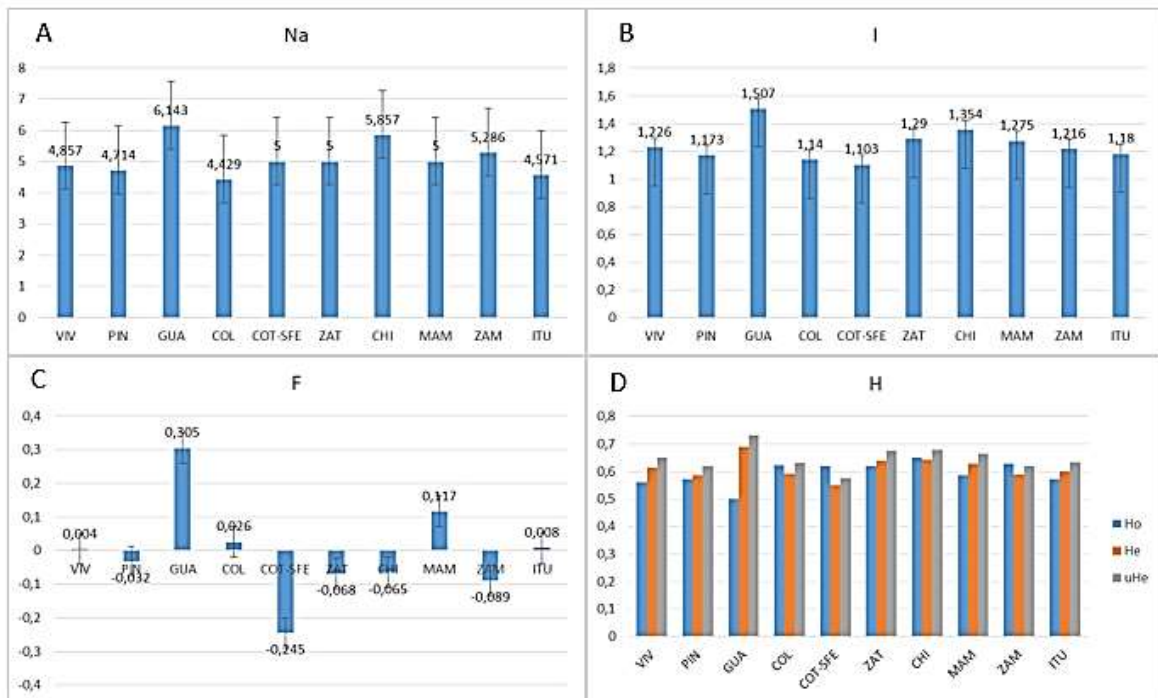


Figura 2 Media de parámetros genéticos obtenidos para las 10 poblaciones de *A. graveolens* de áreas de BsT en Colombia, determinados a partir de marcadores moleculares de tipo SSR. A: Na (Riqueza alélica promedio). B: I (Índice de diversidad de Shannon) C: F (Coeficiente de endogamia por locus). D: Ho (Heterocigosidad observada), He (Heterocigosidad esperada), uHe (Índice corregido de Heterocigosidad). Poblaciones: TAT (Desierto La Tatacoa sector Villavieja - Huila), PIN (Pintada - Antioquia), GUA (Guamo - Bolívar), COL (Coloso - Sucre), COT-SFE (Cotové, Santa Fé - Antioquia), ZAT (Zona de amortiguamiento del Parque Nacional Tayrona - Magdalena), CHI (Cañón del Chicamocha - Santander), MAM (Mamancana - Magdalena), ZAM (Zambrano - Bolívar), ITU (Ituango - Antioquia)/

Respecto a la distribución espacial, la mayor diversidad se presenta en la zona norte de Colombia en las regiones Caribe y Santander (Figura 3). Mientras que el valle del río Cauca concentra poblaciones con bajos niveles de diversidad. Esta distribución no varía al representar la corrección de sesgo muestral, Para el caso de la riqueza alélica, se encontró que esta corrección permite ver con mayor claridad el bajo nivel de diversidad para la población COT-SFE (Figura 3A y 3B). La población de Cotove, Santa Fé (COT-SFE) presenta el índice de endogamia más bajo y la población de Antioquia

Zambrano, Bolívar (ZAM) presenta uno de los más bajos índice de heterocigicidad (Figura 2 y Figura 3). Por otro lado, en el sur, en el sector del Valle del Magdalena (Huila) se presentan valores medios para los parámetros de heterocigicidad y riqueza alélica (Figura 3).

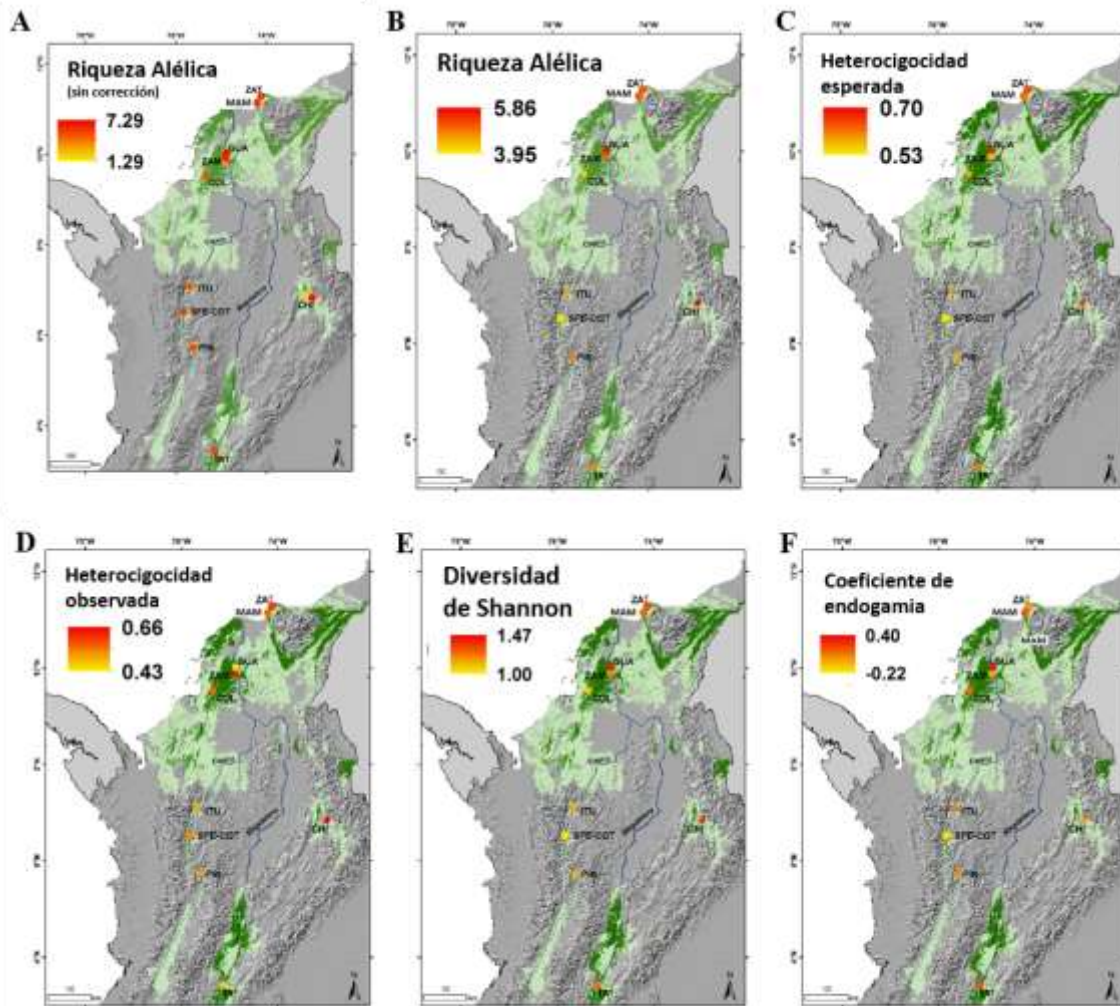


Figura 3. Representación espacial de los parámetros genéticos identificados para las poblaciones de *A. graveolens*, sobre las capas de idoneidad de nicho actual (Verde oscuro) y la distribución histórica del BsT Colombiano (Verde Claro). A Riqueza alélica (sin corrección de sesgo muestral); B Riqueza alélica (con corrección de sesgo muestral); C Heterocigicidad esperada (con corrección de sesgo muestral); D Heterocigicidad observada (con corrección de sesgo muestral); E Índice de diversidad de Shannon (con corrección de sesgo muestral); F Coeficiente de Endogamia (con corrección de sesgo muestral). TAT (Desierto La Tatacoa sector Villavieja - Huila), PIN (Pintada -Antioquia), GUA (Guamo - Bolívar), COL (Coloso - Sucre), COT-SFE (Cotové, Santa Fé - Antioquia), ZAT (Zona de amortiguamiento del Parque Nacional Tayrona -

Magdalena), CHI (Cañón del Chicamocha - Santander), MAM (Mamancana - Magdalena), ZAM (Zambrano - Bolívar), ITU (Ituango - Antioquia)

La diversidad genética de las poblaciones de *A. graveolens* presentó una importante varianza dentro de las poblaciones (Análisis de Varianza Molecular - AMOVA 96% / Fis= 0,147 – p=0,000). En contraste, entre las poblaciones se encontró una baja diferenciación genética (la varianza se encuentra en un 4% (AMOVA Fst=0,023 – P=0,001) lo cual coincide con el bajo coeficiente de endogamia.

Estructura genética de poblaciones de A. graveolens

A pesar de la mediana diferenciación genética, fue posible identificar grupos genéticos mediante el análisis bayesiano. Las proporciones de mezcla determinadas con el programa STRUCTURE reportan soporte estadístico para la conformación de 3 grupos (K=3) (Figura 4). La asignación de los individuos en los diferentes grupos genéticos fue mixta para la mayoría de las poblaciones (Figura 5), lo que implica que en cada una de las las poblaciones existe algún grado de influencia de los tres grupos genéticos con excepción de la población GUA, que no tuvo relación con el grupo 3 (azul).

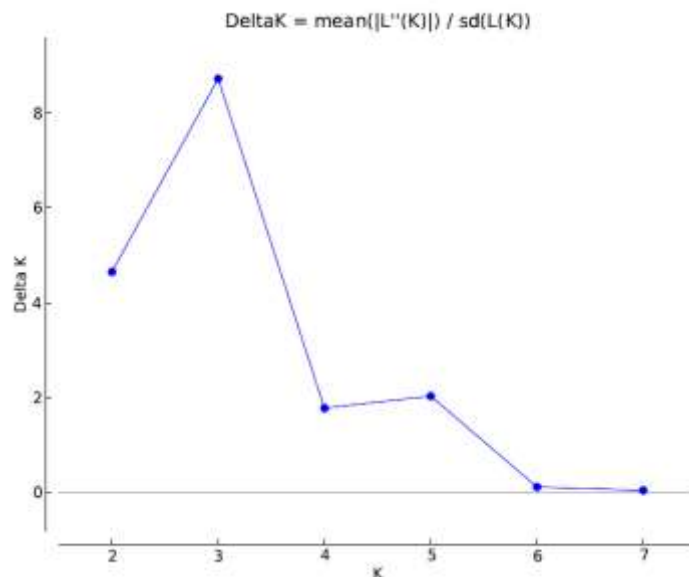


Figura 4. Valores de Delta K para diferentes escenarios de grupos genéticos identificados en los datos, según la metodología de Evanno *et al* (2005) (Según este grafico la estructura genética más idónea consistiría en tres grupos genéticos (K=3).

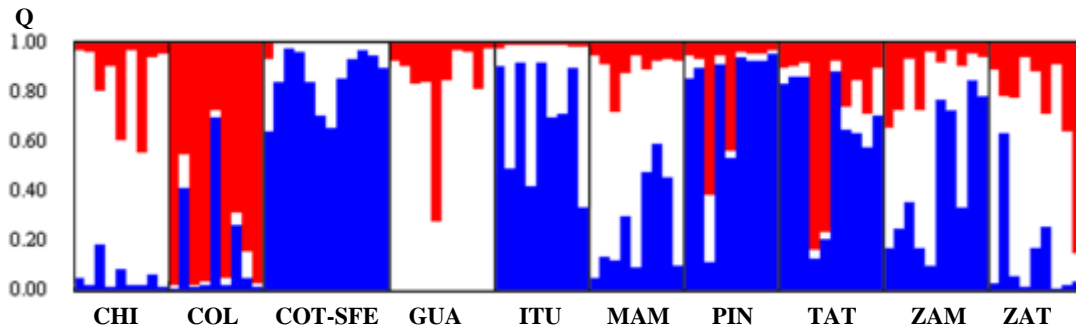


Figura 5. Participación de los individuos de cada población en el número de grupos genéticos inferidos ($K=3$). El eje vertical representa la proporción (Q) en la cual cada individuo de las 10 poblaciones hace parte del grupo 1 (rojo), 2 (blanco) o 3 (azul)

Respecto a la distribución geográfica de los tres grupos genéticos identificados (Figura 5), el grupo 1 presenta una tendencia de mayor localización en la región Caribe representado principalmente por la población Coloso (COL). El grupo 2, aunque presenta influencia en la mayor parte de las poblaciones, se localiza principalmente en la región Caribe y Santander, dónde se encuentran las poblaciones con los más altos niveles de diversidad. El grupo 3 se localizó en la zona centro y sur del país en los Valles del Magdalena y Cauca, donde los índices de diversidad se pueden considerar de medio y bajos, respectivamente. Esta distribución se puede observar de manera más clara tomando aquellos individuos que tiene una pertenencia mayor al 50% en cada grupo (Figura 5B)

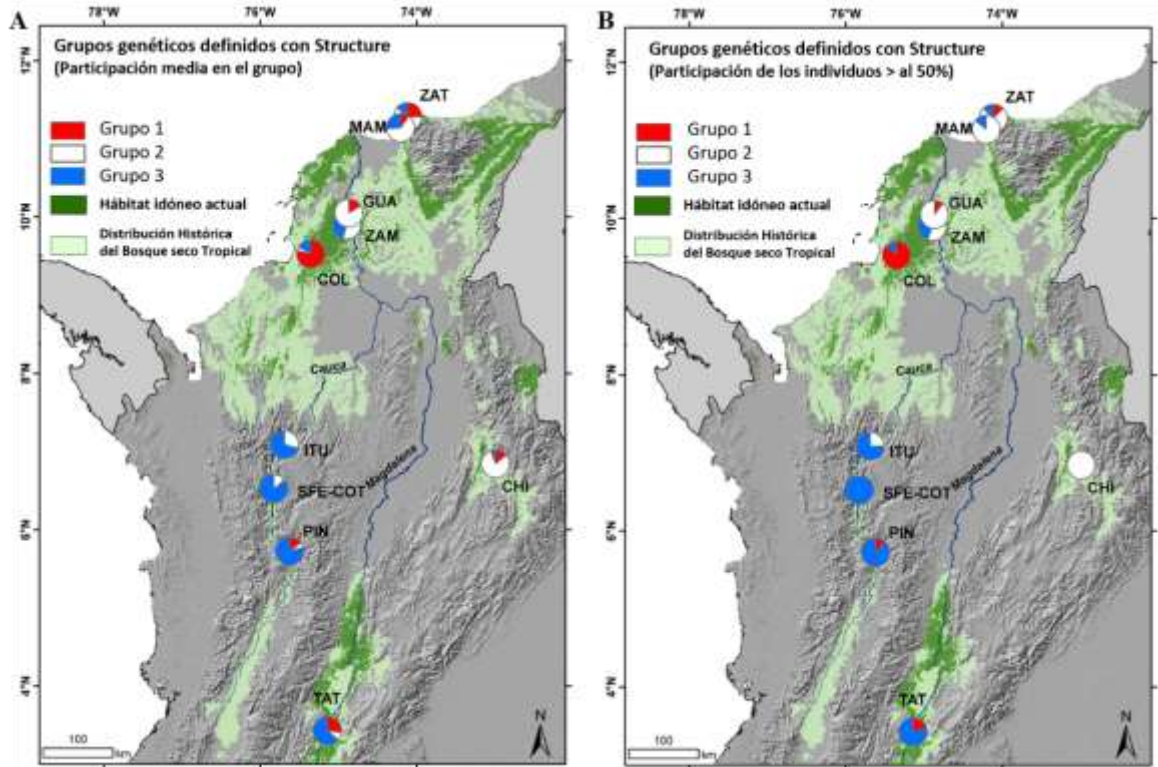


Figura 6 Representación espacial de grupos genéticos identificados para las poblaciones de *A. graveolens*, sobre las capas de idoneidad de nicho actual (Verde oscuro) y la distribución histórica del BsT Colombiano (Verde Claro). A participación media de todos los individuos en cada población a los grupos genéticos; B Individuos con una participación mayor al 50% de cada grupo genético; TAT (Desierto La Tatacoa sector Villavieja - Huila), PIN (Pintada - Antioquia), GUA (Guamo - Bolívar), COL (Coloso - Sucre), COT-SFE (Cotové, Santa Fé - Antioquia), ZAT (Zona de amortiguamiento del Parque Nacional Tayrona - Magdalena), CHI (Cañón del Chicamocha - Santander), MAM (Mamancana - Magdalena), ZAM (Zambrano - Bolívar), ITU (Ituango - Antioquia)/

Al analizar la composición alélica de las diferentes poblaciones en un plano espacial de análisis de correspondencia - CA (Figura 7), se identificó una agrupación a nivel genético para las poblaciones de Caribe (GUA, ZAT, COL, ZAM Y MAM). Para el caso de las poblaciones del Valle del Cauca (ITU, COT-SFE, PIN), estas se encuentran cercanas a la población del Valle del Magdalena (TAT). Por otro lado, la población del cañón de Chicamocha (CHI) se presenta independiente. En esta distribución de las poblaciones de *A. graveolens*, la población de CHI se encuentra aislada, mientras que en los grupos genéticos, esta población hace parte del grupo 2, estando asociada con la

poblaciones de Caribe. Asimismo, la población COL se presenta en un grupo genético diferente (grupo 1) a pesar de encontrarse en la región Caribe, sin embargo su composición alélica lo vincula a este grupo (Figura 7- Región Caribe). Finalmente, la población TAT se encuentra relacionada con las poblaciones del Valle del Cauca, tanto en los grupos genéticos (Grupo 3) como en su relación respecto a la composición alélica presentada en el CA.

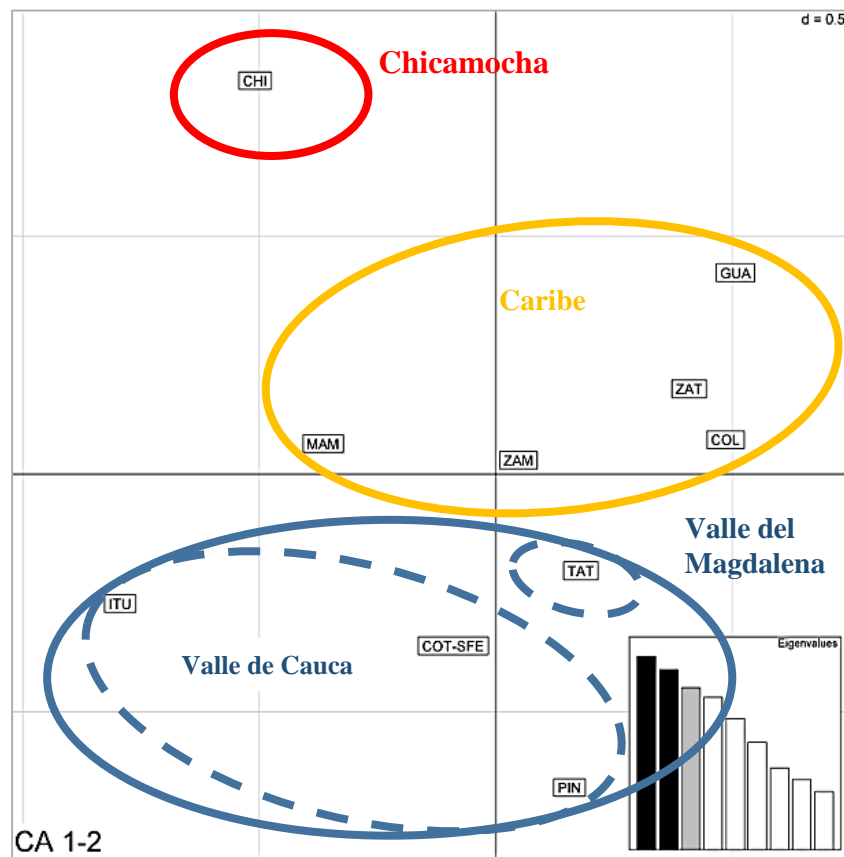


Figura 7 Análisis de Correspondencia (AC) para las 10 poblaciones de *A. graveolens* evaluadas. Eje1 representa el 17% de la variabilidad - Eje 2 representa el 16% de la variabilidad.

Idoneidad de nicho actual

La idoneidad de nicho actual para la especie *A. graveolens* con relación a la distribución histórica del Bosque seco Tropical se presenta principalmente en la región Caribe (Ver Figura 6), en zonas cercanas a la sierra Nevada de Santa Marta, donde fueron colectadas las poblaciones MAM y ZAT,

así como en zonas del bajo Magdalena de donde fueron colectadas las poblaciones COL, GUA y ZAM y en el alto Magdalena de donde proviene la población TAT. En las zonas del Valle del río Cauca, los remanentes de Bosque seco tropical son menores, al igual que la idoneidad de nicho para *A. graveolens*, lo cual coincide con los bajos niveles de diversidad en esta región.

Idoneidad de nicho pasado

Las proyecciones de idoneidad de nicho ecológico durante el máximo de la última glaciación (LGM, Last Glacial Maximum; aproximadamente hace 21,000 años) muestra que el mayor área idónea de *A. graveolens* correspondió a la región Caribe con fragmentos aislados en la región del río Magdalena. De esta forma, se observa poca presencia de nicho idóneo en los valles interandinos del río Cauca, dónde actualmente se presentan los niveles más bajos de riqueza alélica (Figura 8A). Para un periodo posterior, como lo es el Holoceno Medio (aproximadamente hace 6,000 años), la posible distribución de *A. graveolens* presentó un cambio significativo (Figura 8B), pasando de estar agrupada en la zona norte a presentar fragmentación con muy poca presencia en la región Caribe y nuevos fragmentos en el occidente de Colombia hacia la región del Chocó. En el valle del Magdalena, se mantiene la presencia de la especie en un fragmento reducido respecto al reportado para el LGM, aunque se encuentra menos distante a caribe, respecto a la distribución del nicho actual.

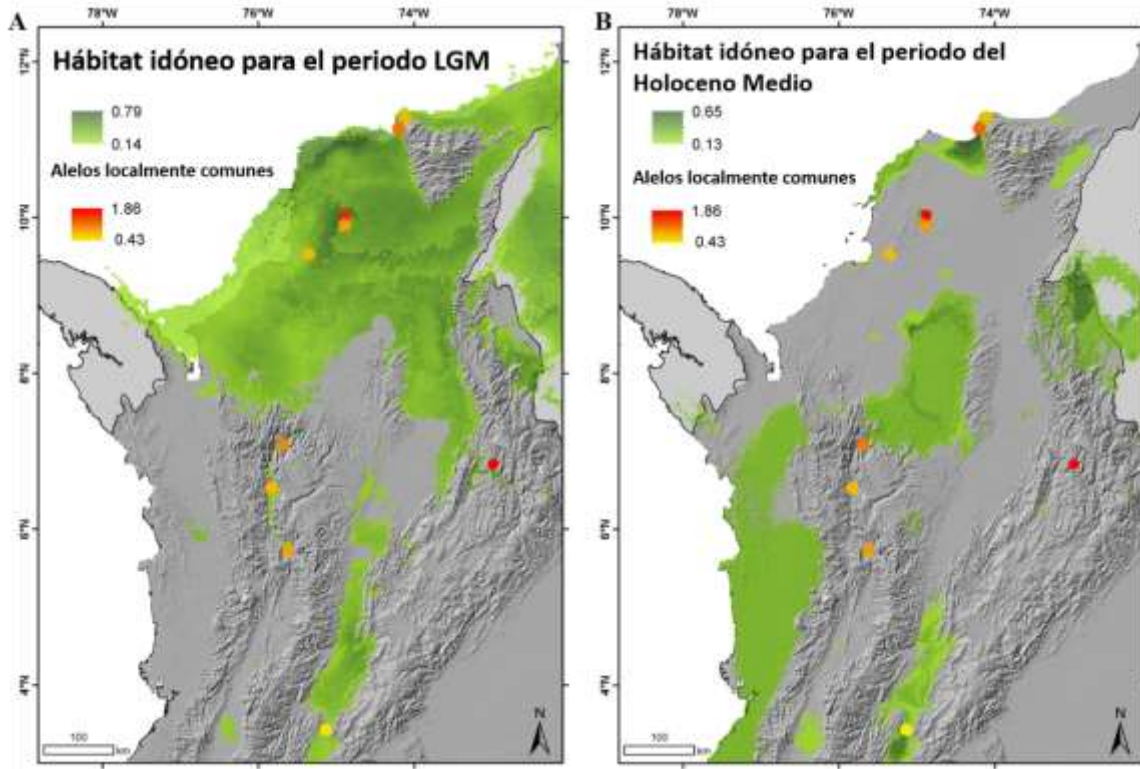


Figura 8. Modelo de distribución de idoneidad de nicho pasado para *A. graveolens*:
A. Última Máxima Glaciación (LGM, ~21,000AP) **B.** Holoceno medio (~6,000AP); en combinación con los valores de alelos localmente comunes para cada población.

La distribución histórica de la especie *A. graveolens* permite entender el posible origen para los grupos genéticos previamente identificados (Figura 6), donde poblaciones de Chicamocha y Guamo Bolívar, albergan los mayores valores de Alelos localmente comunes y una de ellas podría representar la base genética de los grupos del Caribe (Grupo 2 – Blanco Figura 6). Los alelos localmente comunes representados en el nicho en tiempo pasado de *A. graveolens* también permiten relacionar los patrones de diversidad genética con procesos de expansión, principalmente en las poblaciones del grupo 3 (azul) debido a sus bajos niveles de diversidad, lo que sugiere que su colonización en estas regiones es relativamente reciente.

DISCUSIÓN

Los rangos de diversidad genética identificados en las poblaciones de *A. graveolens* evaluadas en el BsT de Colombia son favorables, teniendo en consideración las condiciones de amenaza e

intervención de este ecosistema, así como resultados obtenidos en estudios similares para especies forestales del BsT de Colombia (Bocanegra-González et al., 2018; Pizano et al., 2014; Thomas et al., 2017). Al respecto, los niveles de riqueza alélica para *A. graveolens* (Figura 3) en general son mayores a los encontrados para poblaciones de especies forestales *Enterolobium cyclocarpum* (Thomas et al., 2017) y *Ceiba pentandra* (Bocanegra-González et al., 2018) en el BsT de Colombia.

El estudio de la especie *E. cyclocarpum* tiene una tendencia similar a *A. graveolens* en distribución de la diversidad genética. En los dos casos, se presentaron rangos superiores de diversidad en la región Caribe, para el caso de *Ceiba pentandra*, coinciden altos niveles de en las poblaciones de Chicamocha. Además, en la región Caribe se encontró una mayor área presencia de nicho para las tres especies, tanto en el presente (Figura 3) como el pasado (

Figura 8). Esta tendencia puede ser evaluada en especies de diversos rasgos que hacen parte del BsT, para establecer áreas de protección de los recursos genéticos del ecosistema en general.

Con relación a estudios a nivel genético para *A. graveolens* se han desarrollado evaluaciones con marcadores aloenzimáticos en el Bosque Atlántico de Brasil (Schwarcz et al., 2010). Aunque los parámetros no pueden ser comparados con los resultados de este estudio debido a las diferentes técnicas empleadas, los dos estudios coinciden en la identificación de altos niveles de endogamia, que para este caso se da en la población GUA (Figura 2), lo cual representa un insumo para definir medidas de manejo y conservación de recursos genéticos sobre grupos de poblaciones específicas y la identificación de zonas semilleras.

Schwarcz *et al.* (2010) señala que para *A. graveolens* estos niveles de endogamia son de difícil explicación, debido a la condición dioica de la especie y su dispersión a través del viento. Sin embargo, el mismo autor señala que la fragmentación puede tener influencia en la diversidad genética

de la especie *A. graveolens* a pesar de su capacidad de dispersión espacial. En el caso de la población GUA, es posible que una de las causas de los altos niveles de endogamia sean actividades de entresaca en la zona evaluada debido a su uso maderable o algún tipo de selección con efecto cuello de botella que pudo haber alterado los patrones genéticos de la población (Caujapé, 2006; Loo, 2011; Sankovski et al., 2000; Suárez et al., 2012; Thomas et al., 2014b), lo cual puede validarse a través del análisis de características fenotípicas. En este contexto, de las poblaciones del Caribe, las localizadas en el sector de Guamo (Tolima), no son convenientes para zonas semilleras y por el contrario requieren procesos de enriquecimiento de germoplasma que evite la pérdida de la diversidad existente.

La idoneidad de nicho fue posiblemente más estable y amplia en Caribe en periodos pasados (Pleistoceno y Holoceno,

Figura 8), aspecto que pudo favorecer la conformación y conservación de diversidad de *A. graveolens* en esta región (Figura 3). Adicionalmente, Pizzano *et al* (2014) señala la presencia de suelos de alta fertilidad derivados de arcillolitas y calcáreos en zonas del Caribe, como un factor influyente en un mayor desarrollo de parches de BsT en periodos pasados, generando un ambiente favorable para la conservación de las especies de este ecosistema en el Caribe.

Acorde con lo anterior, la región Caribe representa una zona importante para la diversidad genética de *A. graveolens*, también debido a que en esta región se encontró una mayor representación de los grupos genéticos identificados para la especie (Grupo 1 y grupo 2- Figura 5) respecto a las demás regiones dónde solo resalta la presencia de un grupo genético. En estas áreas de convergencia donde diferentes grupos genéticos se encuentran es típico observar valores genéticos más elevados, como los identificados en este estudio.

Por otro lado, los valores más bajos de diversidad están asociados a áreas con menor cobertura de nicho, como lo son las poblaciones del valle de Cauca (Figura 3, dónde incluso en periodos pasados (LGM y Holoceno Medio,

Figura 8) la idoneidad de nicho se presenta en fragmentos pequeños respecto a los identificados en la región Caribe, siendo consecuente con la afirmación de Schwarcz *et al.* (2010), sobre el efecto de la fragmentación en la diversidad de *A. graveolens*. Es importante tener en cuenta que los parches que se presentan en los valles interandinos obedecen a condiciones climáticas, de suelos y geológico, que varían respecto a las condiciones dadas en regiones como Caribe y Santander, dónde el BsT presenta una mayor representatividad principalmente en periodos pasados (Pizzano *et al.*, 2014). Este aporte realizado a partir de estudios de nicho en el pasado ha permitido también entender la estructura genética en poblaciones de especies forestales de diferentes ecosistemas neotropicales como *E. cyclocarpum* (Thomas *et al.*, 2017b), *Ceiba pentandra* (Bocanegra-González *et al.*, 2018), *Bertolletia excelsa* (Thomas *et al.*, 2015), *Nothofagus nervosa* y *Nothofagus obliqua* (Marchelli *et al.*, 2017), *Theobroma cacao* (Thomas *et al.*, 2012) y en especies gramíneas (parientes silvestres de arroz) (Thomas *et al.*, 2017c).

Las poblaciones presentaron una diferenciación genética media (Figura 5) con una mayor diversidad al interior de las poblaciones (Anexo 2 – AMOVA). Resultados similares se han encontrado en otras especies forestales características del BsT como los realizados por Torezan *et al.*, (2005) en *Aspidosperma polyneuron*, en la región atlántica de Brasil y *C. pentandra* en Colombia (Bocanegra-González *et al.*, 2018) dónde alrededor del 93,45% de la variabilidad se encontró dentro de los individuos.

A pesar de lo anterior, los resultados del análisis de cluster permitieron identificar grupos geográficamente coherentes con tres tendencias de agrupamiento (Figura 5). Estas tendencias relacionan con la idoneidad de nicho para periodos pasados, siendo los cambios entre la

glaciación y el holoceno medio un buen indicador de la conformación de los grupos genéticos identificados y sus niveles de diversidad, que como se mencionó anteriormente, son mayores grupos de la región Caribe (Figura 7 y

Figura 8) y menores para los valles del Cauca y Magdalena. Las relaciones entre los grupos genéticos podrían deberse a la capacidad de dispersión de la especie a través del viento o a posibles intervención de grupos faunísticos consumidores de las semillas de la especie, teniendo en cuenta que en los periodos pasados (LGM) las distancias entre los fragmentos de Magdalena y Cauca con los de Caribe fueron menores a los que se observan en la actualidad (Collevatti et al., 2000; Villaseñor-Sánchez et al., 2010).

Los resultados encontrados en este estudio sugieren que las poblaciones de Chicamocha y Cauca son los posibles centros de origen de la diversidad genética existente para *A. BsT* debido a la mayor presencia de alelos localmente comunes en estas regiones (

Figura 8). El grupo 1 (Rojo) localizado en la zona norte en la región Caribe, presentó en el periodo del Holoceno medio un aislamiento significativo, lo que pudo dar origen a su diferenciación con las poblaciones cercanas en la misma región, las cuales hacen parte del grupo 2 (blanco). Por su parte, el grupo 2 para el periodo LGM presenta una conexión con la región de Santander, lo cual explica que la población de Chicamocha (CHI) se encuentre dentro del mismo grupo que las poblaciones de Caribe. El grupo 3 (azul) localizado en la cuenca Magdalena – Cauca pudo presentar una conexión en el periodo del Holoceno medio dónde las poblaciones del valle del Magdalena pudieron alcanzar la cuenca baja para relacionarse posteriormente con las poblaciones del valle del río Cauca a través de procesos de expansión. En este sentido, la región de Chicamocha podría ser la originaria del grupo

genético 2, incluyendo las poblaciones de Caribe, al presentar los mayores registros de presencia de alelos localmente comunes. Por otro lado, las poblaciones del Cauca presentan el mayor componente de Alelos localmente comunes para el grupo genético 3 (Grupo 3, azul-Figura 6), por lo cual se puede suponer que en algún momento estas poblaciones se expandieron hacia el valle del Río Magdalena, siendo las poblaciones del desierto de la Tatacoa (TAT) resultado de esta probable expansión.

Finalmente, es importante destacar que los marcadores microsatélites reportados por Caetano *et al.*, (2005) permitieron evaluar los patrones de diversidad genética en *A. graveolens*, identificando una cantidad similar de alelos para las dos especies (entre 4 y 20). Sin embargo, valores de diversidad encontrados en *A. urundeuva* son mayores para parámetros como la heterocigosidad, (0,50 y 0,65 para *A. graveolens* y entre 0,25 y 1,00 para *A. urundeuva*), lo cual puede estar más relacionado con las condiciones propias de la especie que con las técnicas de análisis molecular. De esta manera, se puede determinar que los marcadores usados en este estudio son una herramienta adecuada para valoración de la diversidad genética de la especie, teniendo en cuenta que estudios realizados a partir de parámetros fenotípicos para la misma especie en el estado de Sao Paulo, Brasil reportan bajos niveles de diferenciación a partir de parámetros de tipo silvicultural (Araújo *et al.*, 2014).

Conclusiones y recomendaciones

Como conclusión general sobre este estudio encontramos que el análisis de la diversidad genética de *A. graveolens* en relación con su distribución geográfica en el BsT es una herramienta eficiente para identificar zonas adecuadas para la obtención de material reproductivo que garantice mantener la diversidad genética de la especie como la zona de Chicamocha, así como zonas que requieren acciones para mantener la diversidad de la especie como Guamo (Bolívar), donde las poblaciones tienen altos niveles de endogamia.

Adicionalmente, a partir de la idoneidad del nicho pasado de *A. graveolens*, es posible mejorar el entendimiento de la distribución actual de su diversidad genética. Identificando así posibles zonas de origen de la diversidad de los grupos genéticos identificados en este estudio.

Como recomendaciones de gestión para *A. graveolens* en el ecosistema del BsT de Colombia se puede tener en cuenta los siguientes puntos claves:

- Es importante tener especial atención sobre las poblaciones de la zona del Chicamocha para procesos de conservación *in situ*, debido a sus importantes particularidades como sus altos rangos de diversidad genética y su mayor presencia de alelos localmente comunes. Debido a que esta característica se presenta también en la especie *C. pentandra*, es importante contar con información sobre la diversidad genética de otras especies representativas del BsT, para definir la zona de Chicamocha como zona semillera del ecosistema.

- Poblaciones como las localizadas en el sector del Guamo (Bolívar), reflejan la posible vulnerabilidad de los recursos genéticos por acciones antropogénicas como la entresaca. Los elevados valores de endogamia en esta zona refleja la necesidad de acciones de enriquecimiento con germoplasma de alta calidad genética como los disponibles en poblaciones cercanas con bajos niveles de endogamia (Población ZAM) que permitan evitar la pérdida de la diversidad genética de esta población en el largo plazo.

-Este estudio presenta una base de información genética importante para procesos de manejo y conservación de *A. graveolens*, no obstante, es relevante a futuro complementar estas acciones con el uso de otros marcadores como por ejemplo los de tipo SNP (Polimorfismos de nucleótido único), lo que permitiría detectar valores más detallados sobre la diversidad y estructura genética de la especie así como la distribución histórica de la especie (idoneidad de nicho actual y pasado).

- Además de la identificación de zonas semilla para actividades de conservación y manejo de la especie es necesario contar también con estudios a nivel de rasgos funcionales y evaluaciones de progenie, que permitan además la evaluación de la respuesta de las poblaciones de *A. graveolens* frente a las diversas condiciones del BsT en Colombia. Para ello se recomienda coleccionar material reproductivo de las zonas evaluadas en este estudio para la evaluación de sistemas de propagación,

caracterización de progenies, respuesta y adaptación en el marco del cambio climático y posibles programas de mejoramiento que fomenten su uso ecológico y comercial.

- Finalmente es importante realizar análisis conjuntos para las especies que se encuentran asociadas a *A. graveolens* en el ecosistema de BsT de Colombia, como el realizado por Bianchini *et al* (2010), lo cual permitiría identificar si las características del nicho de la especie se encuentran dadas también por factores complementarios, como la dinámica sucesional en los diferentes relictos de BsT analizados en este estudio

BIBLIOGRAFÍA

- Araújo, D., Magno, S., Scatena, Z., Zanata, M., Moraes, E., Teixeira, L., Menezes, L., 2014. Variação genética para caracteres silviculturais em progênes de polinização aberta de 61–68.
- Arcila-Cardona, A., Osorio, A., Bermúdez, C., Chacón de Ulloa, P., 2007. Diversidad de hormigas cazadoras asociadas a los elementos del paisaje del bosque seco. *Sist. Biogeogr. y Conserv. las hormigas cazadoras Colomb.* 531–552.
- Bernal, R., Galeano, G., Rodríguez, A., Sarmiento, H., Gutiérrez, M., 2014. Nombres Comunes de las plantas de Colombia [WWW Document]. URL <http://www.biovirtual.unal.edu.co/nombrescomunes/>
- Bianchini, E., Garcia, C.C., Pimenta, J.A., Torezan, J.M.D., 2010. Slope variation and population structure of tree species from different ecological groups in South Brazil. *An. Acad. Bras. Cienc.* 82, 643–652. <https://doi.org/10.1590/S0001-37652010000300012>
- Bocanegra-González, K.T., Thomas, E., Guillemin, M.L., de Carvalho, D., Gutiérrez, J.P., Alcázar Caicedo, C., Moscoso Higueta, L.G., Becerra, L.A., González, M.A., 2018. Genetic diversity of *Ceiba pentandra* in Colombian seasonally dry tropical forest: Implications for conservation and management. *Biol. Conserv.* 227, 29–37. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2018.08.021>
- Bozzano, M., Jalonen, R., Thomas, E., Boshier, D., Gallo, L., Cavers, S., Bordcás, S., Smith, P., Loo, J., Eds., 2014. Genetic considerations in ecosystem restoration using native tree species. *State of the World's Forest Genetic Resources – Thematic Study*, FAO and Bi. ed. Roma.
- Caetano, S., Silveira, P., Spichiger, R., NACIRI-GRAVEN, Y., 2005. Identification of microsatellite markers in a neotropical seasonally dry forest tree, *Astronium urundeuva* (Anacardiaceae). *Mol. Ecol. Notes* 5, 21–23.
- Carrillo-fajardo, M., 2007. Caracterización florística y estructural del Bosque seco Tropical del

- Cerro Tasajero, San José de Cúcuta (Norte de Santander), Colombia 29, 55–73.
- Caujapé, J., 2006. Brújula para botánicos desorientados en la genética de poblaciones, Departamen. ed. Las Palmas de Gran Canaria.
- Collevatti, R.G., Schoereder, J.H., Campos, L.A.O., 2000. Foraging behavior of bee pollinators on the tropical weed *Triumfetta semitriloba*: flight distance and directionality. *Rev. Bras. Biol.* 60, 29–37. <https://doi.org/10.1590/S0034-71082000000100005>
- Doyle, J., Doyle, L., 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue.
- Etter, A., Andrade, A., Amaya, P., Arévalo, P., 2015. Estado de los ecosistemas colombianos-2014: una aplicación de la metodología de lista roja de ecosistemas. Bogotá, Colomb. From Alaska to Patagon. IUCN Red List Cont. Ecosyst. Am. Retrieved from <http://iucnrle.org/static/media/uploads/references/published-assessments/etter-et-al-2015-national-rle-assessment-final-report-colombia>.
- Etter, A., McAlpine, C., Possingham, H., 2008. A historical analysis of the spatial and temporal drivers of landscape change in Colombia since 1500. *Ann. Assoc. Am. Geogr.* 98, 2–23.
- Evanno, G., Regnaut, S., Goudet, J., 2005. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Mol. Ecol.* 14, 2611–2620.
- Excoffier, L., Smouse, P.E., Quattro, J.M., 1992. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics* 131, 479–491.
- Gómez, M., Toro, J., Piedrahita, E., 2013. Propagación y conservación de especies arbóreas nativas 360.
- Gonzalez, M., 2014. Protocolo de Colecta de Tejidos para Análisis Moleculares, Laboratorio de Genética de la Conservación.

- Hernández, V., Malafrente, N., Mora, F., Pesca, M.S., Aquino, R.P., Mencherini, T., 2014. Antioxidant and antiangiogenic activity of *astronium graveolens* jacq. leaves. *Nat. Prod. Res.* 28, 917–922. <https://doi.org/10.1080/14786419.2014.889134>
- Hijmans, R.J., 2012. Cross-validation of species distribution models: removing spatial sorting bias and calibration with a null model. *Ecology* 93, 679–688.
- IAvH, 2014. Bosques secos tropicales en Colombia [WWW Document]. URL <http://www.humboldt.org.co/investigacion/ecosistemas-estrategicos/bosque-seco> (accessed 5.6.14).
- Jiménez, Q., 2000. Biodiversidad de Costa Rica [WWW Document]. *Atta Biodivers. Costa Rica*. URL <http://atta2.inbio.ac.cr/neoportal-web/species/astronium-graveolens> (accessed 11.7.14).
- Kamvar, Z.N., Tabima, J.F., Grünwald, N.J., 2014. Poppr: an R package for genetic analysis of populations with clonal, partially clonal, and/or sexual reproduction. *PeerJ* 2, e281.
- Loo, J., 2011. Manual de genética de la conservación Principios aplicados de genética para la conservación de la diversidad biológica. México.
- MAPFORGEN, 2013. Atlas para la Conservación de los recursos genéticos forestales [WWW Document]. *Astronium graveolens* Jacq. URL <http://www.mapforgen.org/comocitarnos.php> (accessed 11.7.14).
- Marchelli, P., Thomas, E., Azpilicueta, M.M., van Zonneveld, M., Gallo, L., 2017. Integrating genetics and suitability modelling to bolster climate change adaptation planning in Patagonian *Nothofagus* forests. *Tree Genet. Genomes* 13, 119.
- Marin, W., Flores, E., 1993. *Astronium graveolens* 311–314.
- Moritz, C., Richardson, K.S., Ferrier, S., Monteith, G.B., Stanisci, J., Williams, S.E., Whiffin, T., 2001. Biogeographical concordance and efficiency of taxon indicators for establishing

- conservation priority in a tropical rainforest biota. *Proc. R. Soc. London B Biol. Sci.* 268, 1875–1881.
- Nei, M., 1973. Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 70, 3321–3323.
- Peakall, R.O.D., Smouse, P.E., 2006. GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Mol. Ecol. Notes* 6, 288–295.
- Peña, A., 2010. Análisis de conglomerados en la identificación de estructura genética a partir de datos de marcadores moleculares Cluster analysis for identification of genetic structure. *Rev. Tumbaga* 5, 225–237.
- Pérez, R., Aguilar, S., 2014. Áboles del Parque Nacional Sarigua y las Áreas Secas de los Alrededores [WWW Document]. *Astronium graveolens* Jaqc. URL <http://biogeodb.stri.si.edu/bioinformatics>
- Pizano, C., Gacía, H., (Editores), 2014. El bosque seco tropical en Colombia, Instituto. ed. Bogotá D.C.
- Pritchard, J.K., Stephens, M., Donnelly, P., 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155, 945–959.
- Sankovski, A., Barbour, W., Pepper, W., 2000. Quantification of the IS99 emission scenario storylines using the atmospheric stabilization framework. *Technol. Forecast. Soc. Change* 63, 263–287.
- Schwarcz, K.D., Pataca, C.L., Abreu, A.G., Bariani, J.M., Macrini, C.M.T., Solferini, V.N., 2010. Genetic diversity in Atlantic Forest trees: fragmentation effects on *Astronium graveolens* (Anacardiaceae) and *Metrodorea nigra* (Rutaceae), species with distinct seed dispersal strategies. *Bot. J. Linn. Soc.* 164, 326–336. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8339.2010.01089.x>

- Suárez, A., Williams-Linera, G., Trejo, C., Valdez-Hernández, J.I., Cetina-Alcalá, V.M., Vibrans, H., 2012. Local knowledge helps select species for forest restoration in a tropical dry forest of central Veracruz, Mexico. *Agrofor. Syst.* 85, 35–55. <https://doi.org/10.1007/s10457-011-9437-9>
- Thomas, E., Alcázar, C., Loo, J., Kindt, R., 2014a. The distribution of the Brazil nut (*Bertholletia excelsa*) through time: from range contraction in glacial refugia, over human-mediated expansion, to anthropogenic climate change. *Bol. do Mus. Para. Emílio Goeldi. Ciências Nat.* 9, 267–291.
- Thomas, E., Alcázar Caicedo, C., McMichael, C.H., Corvera, R., Loo, J., 2015. Uncovering spatial patterns in the natural and human history of Brazil nut (*Bertholletia excelsa*) across the Amazon Basin. *J. Biogeogr.* 42, 1367–1382.
- Thomas, E., Gil Tobón, C., Gutiérrez, J.P., Alcázar Caicedo, C., Moscoso Higueta, L.G., Becerra, L.A., Loo, J., González, M.A., 2017. Genetic diversity of *Enterolobium cyclocarpum* in Colombian seasonally dry tropical forest: implications for conservation and restoration. *Biodivers. Conserv.* 26, 825–842. <https://doi.org/10.1007/s10531-016-1274-8>
- Thomas, E., Jalonen, R., Loo, J., Boshier, D., Gallo, L., Cavers, S., Bordács, S., Smith, P., Bozzano, M., 2014b. Genetic considerations in ecosystem restoration using native tree species. *For. Ecol. Manage.* 2020. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2014.07.015>
- Thomas, van Zonneveld, M., Loo, J., Hodgkin, T., Galluzzi, G., van Etten, J., 2012. Present spatial diversity patterns of *Theobroma cacao* L. in the neotropics reflect genetic differentiation in pleistocene refugia followed by human-influenced dispersal. *PLoS One* 7, 1–17 e47676. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0047676>
- Villaseñor-Sánchez, E.I., Dirzo, R., Renton, K., 2010. Importance of the lilac-crowned parrot in pre-dispersal seed predation of *Astronium graveolens* in a Mexican tropical dry forest. *J. Trop.*

Vinceti, B., Amaral, W., Meilleur, B., 2004. Desafios de la ordenación de los recursos genéticos silvícolas para contribuir a la subsistencia: ejemplos de Argentina y Brasil. Roma.

Muy importante. Favor utilizar las siguientes referencias en la discusión para comparar este estudio con las especies *Astronium fraxinifolium* y *Astronium urundeuva*, las cuales poseen estudios genéticos interesantes a ser citados en esta tesis:

1. De Aguiar, Ananda Virgínia et al. Determinação de parâmetros genéticos em população de gonçalo-alves (*Astronium fraxinifolium*) através das características fisiológicas da semente. *Scientia Forestalis/Forest Sciences*, n. 60, p. 89-97, 2001. Available at: <<http://hdl.handle.net/11449/66718>>.
2. Ananda Virgínia, d. A., Fernando, R. B., Mario Luiz Teixeira, d. M., & João Antonio da, C. A. (2003). Genetic variation in *astronium fraxinifolium* populations in consortium. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 3(2) doi:<http://dx.doi.org/10.12702/1984-7033.v03n02a02>
3. Caetano S, Nusbaumer L, Naciri Y. 2008. Chloroplast and microsatellite markers in *Astronium urundeuva* (Allemão) Engl. and close species of Anacardiaceae: toward the definition of a species complex? *Candollea* 63 (1): 115-130. ISSN 0373-2967
4. Leite EJ. 2002. State-of-knowledge on *Astronium fraxinifolium* Schott (Anacardiaceae) for genetic conservation in Brazil, *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* 5 (1): 63-77. ISSN 1433-8319. <https://doi.org/10.1078/1433-8319-00023>.

ANEXOS

Anexo 1. Media y desviación estándar de parámetros genéticos obtenidos para las 10 poblaciones de *A. greveolens* de áreas de BsT en Colombia, determinados a partir de marcadores moleculares de tipo SSR. **Poblaciones:** TAT (Desierto La Tatacoa sector Villavieja - Huila), PIN (Pintada -Antioquia), GUA (Guamo - Bolivar), COL (Coloso - Sucre), COT-SFE (Cotove, Santa Fé - Antioquia), ZAT (Zona de amortiguamiento del Parque Nacional Tayrona - Magdalena), CHI (Cañón del Chicamocha - Santander), MAM (Mamancana - Magdalena), ZAM (Zambrano - Bolivar), ITU (Ituango - Antioquia)/ **Parámetros:** N (número de individuos), Na (Riqueza alélica promedio), I (Índice de diversidad de Shannon), Ho (Heterocigocidad observada), He (Heterocigocidad esperada), uHe (Índice corregido de Heterocigocidad) F (Coeficiente de endogamia por locus)

Poblaciones		N	Na	I	Ho	He	uHe	F
VIV	Prom	9	4,857	1,226	0,561	0,614	0,650	0,004
	SE		0,829	0,210	0,124	0,084	0,089	0,206
PIN	Prom	9	4,714	1,173	0,571	0,586	0,621	-0,032
	SE		0,747	0,210	0,132	0,090	0,096	0,194
GUA	Prom	9	6,143	1,507	0,500	0,691	0,731	0,305
	SE		0,962	0,245	0,128	0,091	0,096	0,207
COL	Prom	9	4,429	1,140	0,623	0,593	0,630	0,026
	SE		0,751	0,165	0,149	0,070	0,075	0,252
COT-SFE	Prom	11	5,000	1,103	0,619	0,551	0,576	-0,245
	SE		1,414	0,278	0,137	0,105	0,110	0,241
ZAT	Prom	9	5,000	1,290	0,619	0,639	0,677	-0,068
	SE		0,976	0,241	0,118	0,088	0,093	0,217
CHI	Prom	9	5,857	1,354	0,651	0,641	0,679	-0,065
	SE		1,010	0,226	0,120	0,083	0,088	0,183
MAM	Prom	8	5,000	1,275	0,587	0,628	0,665	0,117
	SE		0,873	0,214	0,121	0,080	0,084	0,206
ZAM	Prom	10	5,286	1,216	0,629	0,588	0,619	-0,089
	SE		1,149	0,251	0,134	0,105	0,110	0,161
ITU	Prom	9	4,571	1,180	0,571	0,600	0,635	0,008
	SE		0,841	0,217	0,150	0,102	0,108	0,208
Todas las poblaciones	Prom		5,086	1,246	0,593	0,613	0,648	0,001
	SE		0,294	0,068	0,039	0,027	0,029	0,064

Anexo 2 Análisis Jerárquico de Varianza Molecular (AMOVA) e índices de diversidad F

Origen	GL	Suma de cuadrados	Cuadrado Medio	Componente de Varianza	% de variación	F	P valor
Entre poblaciones (Fst)	3	30,003	10,001	0,221	4%	0,023	0,001
Entre individuos (Fis)	92	502,445	5,461	5,461	96%	0,147	0,000
Total	95	532,448		5,682	100%		