



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

IMPACTO DE LA FORMACION DE LA PENINSULA  
DE BAJA CALIFORNIA SOBRE LA ESTRUCTURA  
GENETICA DE BURSERA HINDSIANA.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

B I O L O G O

P R E S E N T A :

JESUS VARGAS GARCIA



DIRECTOR DE TESIS:  
DR. JUAN SERVANDO NUÑEZ FARFAN  
DR. FRANCISCO ELIZANDRO MOLINA FREANER

MEXICO, D.F.

2000

FACULTAD DE CIENCIAS  
SECCION ESCOLAR

279071



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

**MAT. MARGARITA ELVIRA CHÁVEZ CANO**  
Jefa de la División de Estudios Profesionales de la  
Facultad de Ciencias  
Presente

Comunicamos a usted que hemos revisado el trabajo de Tesis: "Impacto de la formación de la península de Baja California sobre la estructura genética de Bursera hindsiana."

realizado por Jesús Vargas García.

con número de cuenta 8319735-2 , pasante de la carrera de Biólogo

Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio.

Atentamente

Director de Tesis

Propietario Dr. Juan Servando Núñez Farfán

Co-director

Propietario Dr. Francisco Elizandro Molina Freaner *Francisco E. Molina F.*

Propietario Dr. Luis Enrique Eguiarte Fruns *Luis Enrique Eguiarte Fruns*

Suplente Dr. Jorge Arturo Gonzalez Astorga *Jorge Arturo Gonzalez Astorga*

Suplente Dr. Eduardo Morales Guillaumin *Eduardo Morales Guillaumin*

FACULTAD DE CIENCIAS  
D.F. A.M.



*Edna María Suárez Díaz*

Consejo Departamental de Biología Dra. Edna María Suárez Díaz  
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA

**Para Emilio**

**Para Juan Carlos  
Donde quiera que este**

## AGRADECIMIENTOS

Ai Dr. Juan Nuñez Farfán, director de esta tesis, por darme la oportunidad de crecer y por todas sus enseñanzas.

Al Dr. Francisco Molina, por su paciencia y por mostrarme la belleza del desierto sonoreño.

Al Dr. Eguiarte, a Jorge G. Astorga y a Lalo Morales por sus comentarios que sin duda ayudaron a mejorar este trabajo.

A todos los compañeritos del laboratorio, en especial al buen Pedro Luis y a Fornoni por el apoyo incondicional.

A mi madre, por su fortaleza, a mi padre, por su dedicación, a Rafael, a Esther, Angeles, David, Francisco, Adrián, Rocío por ayudarme a ver las cosas de manera positiva, aunque todo fuera mal.

A las ausencias que marcaron mi vida y que a veces me llenan.

Finalmente a Claudin, por su amor, su apoyo y por ser el contrapeso que me equilibra.

Este trabajo fue realizado con el apoyo económico otorgado por DGAPA proyecto PAPIIT IN-211997.

## INDICE

	Resumen	i
	Abstract	ii
1	Introducción	1
	1.1 <i>Bursera</i> en el Desierto Sonorense	4
	1.2 Región y Especie de estudio	7
	1.3 Origen de la Península de Baja California	8
	1.4 Ambiente Físico en el Desierto Sonorense	11
	1.5 Familia <i>Burseraceae</i>	13
2	Objetivos e Hipótesis	14
3	Métodos	
	3.1 Especie y Colecta	17
	3.2 Procedimiento electroforético	19
	3.3 Análisis de Datos	
	3.3.1 Estructura genética	20
	3.3.2 Distancia e Identidad genética	23
	3.3.3 Relaciones genéticas y Flujo génico	24
4	Resultados	
	4.1 Análisis genético	25
	4.1.2 Estadísticos de Wright y de Weir y Cockerham	28
	4.1.3 Tasa de entrecruzamiento	30
	4.1.4 Distancia e Identidad genética	30
	4.1.5 indicadores de Flujo genético	33
5	Discusión	35
6	Conclusiones	41
7	Literatura citada	42
8	Acerca de la técnica de Electroforesis	51
9	Apéndice 1 Actividad Enzimática	52
10	Apéndice 2 Frecuencias Alélicas	53
11	Apéndice 3 Sistemas y Enzimas	54

## Resumen

En el presente estudio se analizaron los niveles y patrones de variación genética en 9 poblaciones de *Bursera hindsiana* (Burseraceae) en el Desierto Sonorense, en el contexto de la historia geológica de la región y de las hipótesis sobre el origen de la especie.

El análisis de la estructura genética se realizó con datos de diez loci. La variación genética encontrada es similar a la reportada para especies con características de historias de vida semejantes. La heterocigosis promedio ( $H_e$ ) fue de 0.297 y los polimorfismos ( $P$ ) de 0.90. El valor de  $f$  (0.118) indica la existencia de endogamia, la cual podría deberse a tamaños poblacionales efectivos pequeños. La diferenciación genética es de alrededor del 16% ( $\theta = 0.169$ ), aunque no existe un patrón geográfico de diferenciación ni aislamiento por distancia. La distancia genética promedio entre poblaciones es de 0.09. Esto podría deberse a que el flujo génico es alto y complejo. El índice de fijación promedio para todas las poblaciones no es significativamente diferente de cero, por lo que las poblaciones están en equilibrio entre deriva génica y migración.

Se sugiere un patrón de origen y colonización de *B. hindsiana* distinto al propuesto por Cody y colaboradores, quienes sugieren que la especie se pudo haber originado en Baja California y posteriormente ha colonizado la costa Sonorense a través del puente formado por las islas del norte del Golfo de California. Es posible que la especie haya experimentado expansiones recientes en su distribución por los efectos del último periodo glacial.

**Abstract.**

In the present study, the levels and patterns of genetic variation were studied in nine populations of *Bursera hindsiana* (Burseraceae) in the Sonoran Desert, in the context of the region and the hypothesis about the origin of the species.

The analysis of the genetic structure was done with data from ten loci. The genetic variation found is similar to that which has been reported for species with similar life history characteristics. The average heterocigocity ( $H_e$ ) was 0.292 and the polimorphisms ( $P$ ) was 0.90. The value of  $f$  (0.118), indicates the existance of inbreeding, this may be due to small sized effective populations.

The genetic differentiation is around 16% ( $\theta = 0.169$ ), although there doesn't exist a geographic pattern of differentiation nor a distance isolation. The average genetic distance among the populations is 0.09, This could be because the genetic flow is high and complex. The populations are in equilibrium between genetic drift and migration.

A pattern of origin and colonization is suggested for *B. hindsiana* different to that proposed by Cody and colaborators, who imply that the species could not have originated in Baja California and has consecuently colonized the Sonoran coast through the bridge of islands on the northern part of the Gulf of California. It's possible that the species has undergone recent expansions in the distribution brought on by the effects of the last glacial period.



## INTRODUCCIÓN

La genética de poblaciones es una herramienta poderosa para comprender el proceso evolutivo. Su aplicación ha sido exitosa en diferentes problemas evolutivos y en biología de la conservación, usando diferentes marcadores genéticos. (Wright 1978; Eguiarte 1990; Avise 1994). En particular se considera que la diferenciación genética entre poblaciones de una especie es el resultado de la interacción entre la selección natural, la deriva génica y el flujo génico, (Wright 1978; Eguiarte 1986; Slatkin 1987, 1994; Eguiarte et al. 1993).

Varios factores ecológicos contribuyen a la divergencia entre poblaciones, de los cuales la estructura geográfica de la especie juega un papel esencial, según lo indica la evidencia empírica (Linhart y Grant 1996). Sin embargo hay una ausencia de estudios que hayan determinado claramente la divergencia genética de las poblaciones a través del tiempo (Karl y Avise 1992; Bermingham y Lessios 1993; Linhart y Grant 1996; Weller et al. 1996). Esta ausencia se debe, principalmente, a la dificultad de conocer el momento de origen de las poblaciones (ver ejemplo en Hossaert-McKey et al. 1996). Además, aún cuando la divergencia genética podría ocurrir en pocas generaciones o años (*Lathyrus sylvestris*, Hossaert-McKey et al. 1996) ésta podría ser pequeña en este intervalo de tiempo para organismos muy longevos, cuya diferenciación podría tomar millones de años (Bermingham y Lessios 1993). No obstante, ni el aislamiento temporal o espacial son garantía de diferenciación genética (Godt y Hamrick 1991; Eguiarte et al. 1993; Álvarez-Buylla y Garay 1994; Weller et al. 1996), ya que factores ecológicos como la migración, los sistemas reproductivos y aspectos demográficos de las poblaciones, como tasas de natalidad, mortalidad, diferencias en viabilidad y componentes reproductivos entre otros, pueden afectar la magnitud de la diferenciación (Slatkin, 1985, 1987, 1994; Hartl y Clark, 1989).

Los procesos de especiación han sido analizados más en animales que en plantas, y se han enfocado al análisis de los mecanismos de aislamiento reproductivo más que a la determinación del cambio morfológico y genético que

acompaña al proceso de formación de especies (Otte y Endler 1989; Rice y Hoestert 1993). La diferenciación genética es la parte inicial del proceso de diversificación que culmina con la formación de las nuevas especies (Hartl y Clark 1989). De esta manera, con base en el estudio de la diferenciación genética y sus patrones se pueden establecer los primeros pasos en el entendimiento del proceso y los mecanismos que determinan la especiación.

Una oportunidad para estudiar la diferenciación genética, es aprovechar el conocimiento de eventos geológicos de edad conocida, tal como el origen de un río o el cambio en su curso, el origen de islas, de una península o los cambios de superficie terrestre producidos por cambios en el nivel del mar ( Karl y Avise 1992; Avise 1994; Weller et al. 1996).

Aunque un evento histórico de edad conocida nos permite analizar la divergencia genética entre poblaciones aisladas, tal fenómeno no siempre impone una barrera al flujo genético para organismos sumamente móviles, como los animales, o plantas con dispersión de polen y semillas a larga distancia (Slatkin 1987, 1994). No obstante, dependiendo del tipo de barrera y su magnitud, tanto poblaciones de plantas como animales disminuirán el contacto genético con sus conespecíficos, y ésto puede reflejarse en las frecuencias de los genes y probablemente en la divergencia morfológica.

La magnitud y el ritmo de la divergencia genética son promovidos, entre otros factores, por la historia de eventos de extinción y recolonización de poblaciones, la historia de vida del organismo, el sistema de cruzamiento y variables demográficas (Slatkin 1985, 1987, 1993, 1994; Eguiarte et al. 1993; Harrison y Hastings 1996; McCauley 1991; Hamrick y Godt 1996). Ejemplos de cómo estos elementos afectan la estructura genética indican que las especies colonizadoras, autógamas y con tiempo generacional corto, muestran mayor diferenciación poblacional que las plantas de entrecruzamiento y longevas (Eguiarte 1990; Hamrick y Godt 1996). Por otro lado, el recambio poblacional (extinción-recolonización), afecta la diferenciación (Slatkin 1987; McCauley 1991; Harrison y Hastings 1996); por ejemplo, si a partir de una extinción local hay

recolonización por muchos individuos, es equivalente al flujo génico y no se esperaría diferenciación. Por el contrario, si la colonización de nuevas poblaciones involucra a muy pocos migrantes, se esperaría diferenciación aleatoria entre ellas (Slatkin 1987, 1993, 1994, Núñez-Farfán et al 1996). De manera alternativa a este escenario, la selección natural podría promover diferenciación geográfica siempre y cuando la migración no sea tan intensa para reducir el efecto selectivo, o bien si los migrantes tienen menor adecuación (Haldane 1924).

Existen muy pocos estudios sobre los patrones de variación genética en especies de plantas mexicanas (Eguiarte y Nuñez-Farfán, comunicación personal). Estos estudios son muy importantes, ya que los programas de conservación de la biodiversidad cuentan con recursos limitados. Por lo que sería muy importante generar información sobre los niveles y patrones de variación genética, ya serían una herramienta indispensable para conocer las causas de la biodiversidad en México y para proponer el desarrollo e implementación de planes y programas de conservación adecuados (Eguiarte et al. 1992; Ellstrand y Elam 1993; Hamrick et al. 1991; Karron 1991).

Aunque es difícil detectar diferenciación poblacional a través del tiempo, el conocimiento de los patrones de aislamiento por distancia permite inferir el estado de equilibrio entre flujo génico y deriva génica, entre pares de poblaciones, y de esta manera estimar indirectamente el tiempo de divergencia de las poblaciones, asumiendo que conocemos la tasa evolutiva del marcador.

Estudios previos han tratado de discernir cual es el efecto de eventos históricos como la fragmentación poblacional en los que la separación espacial incide en la estructura genética. En *Rhizophora mangle* (Nuñez-Farfán et al 1996), encontraron que la divergencia temporal entre poblaciones de la costa del Pacífico mexicano y las poblaciones de la costa del Golfo de México no reflejan claramente la divergencia genética entre poblaciones de ambas costas, quizás debido a que los marcadores genéticos (isoenzimas), utilizados no son sensibles

para detectar la discontinuidad genética esperada o a que posiblemente su tasa de evolución sea lenta. En otros estudios se ha comparado la resolución con marcadores más específicos, como en el caso de *Cassostrea virginica*, donde se comparó análisis genéticos a partir de isoenzimas y partir de ADN mitocondrial y ADN nuclear con la técnica de RFPLs (Karl y Avise 1992). Con el análisis de isoenzimas, no se detectó discontinuidad genética entre poblaciones del Atlántico de Norteamérica y las del Golfo de México, mientras que con el análisis de ADN sí se detectó discontinuidad.

En un estudio previo con *Bursera microphylla*, cuya distribución coincide con los límites del desierto Sonorense, se analizó la relación que guardan las poblaciones continentales y peninsulares de acuerdo a la composición de triterpenos, encontrándose una mayor afinidad norte – sur, afinidad inexistente entre poblaciones este – oeste; es decir, poblaciones separadas por el Golfo de California (Mooney y Emboden 1968). En este sentido, la mayor variabilidad en contenido de triterpenos se encontró en poblaciones continentales y menor variabilidad en poblaciones de Baja California.

Recientemente, en el estudio genético de *B. microphylla*, a partir de isoenzimas, se encontró que no hay un patrón de aislamiento por distancia, las relaciones filogenéticas entre poblaciones no muestran un patrón geográfico sencillo. Aunque la diferenciación genética no es grande en general, es más notable en poblaciones de Baja California entre sí, que entre las poblaciones de Sonora. Esto indica que la divergencia genética es reciente (Hernández 1999).

### ***Bursera* en el desierto Sonorense**

El género *Bursera* está ampliamente distribuido en México (Toledo 1982). Se encuentra en ambientes húmedos de selvas tropicales (selva alta perennifolia y subperennifolia), hasta ambientes de matorral xerófito (pasando por ambientes intermedios). El género *Bursera* concurre fundamentalmente en ambientes áridos, en particular en la selva baja caducifolia; se ha propuesto que es en la cuenca del

río Balsas donde se originó la dispersión del género en la región central de México, y para el norte del país la región noroeste (McVaugh y Rzedowsky 1965; Kohlmann y Sánchez-Colón 1984).

En la Península de Baja California concurren seis especies del género *Bursera*, cuatro de la sección *Bullockia*, *B. hindsiana* junto a *B. epinnata* y *B. cerasifolia* consideradas especies cercanas y *B. laxiflora*, además dos de la sección *Bursera*, *B. microphylla* y *B. fagaroides*, estas especies también están presentes en la costa de Sonora y en Islas del mar de Cortéz (Turner et al. 1995).

Para algunos autores *B. hindsiana*, *B. cerasifolia* y *B. epinnata* son un complejo de especies cuyas diferencias se dan en el número de foliolos (Wiggins 1980; Turner et al. 1995; Johnson 1992): así *B. cerasifolia* tiene hojas unifoliadas, glabras y brillantes y es endémica de la región de los Cabos en Baja California Sur; *B. epinnata* posee diferencias pequeñas e indistinguibles con *B. hindsiana*, por lo se ha considerado como sinonimia (Johnson 1992). su distribución esta restringida a la Península de Baja California. Rzedowski y Kruse han concluido que las hojas unifolioladas es un carácter derivado en el género *Bursera*, quizás como respuesta adaptativa a hábitats xéricos. Para el presente estudio se trabajo con *B. hindsiana* en *sensu stricto*.

*B. hindsiana* se extiende desde la región de Los Cabos (B.C.S) 23° N, a más allá de los 31° de latitud en la Península de Baja California, en altitudes que van desde el nivel del mar como en San Felipe, Bahía de los Angeles, B. C. N. y Bahía Concepción, B. C. S., entre otras localidades, hasta 600 y 800 metros s.n.m. en la Sierra de la Laguna, B. C. S. En la costa Sonorense se localiza entre los 28° y 30°N, restringida en zonas costeras, a muy poca elevación. En resumen, se tiene una amplia distribución en la península de Baja California, a excepción de una pequeña porción del norte y muy reducida en la costa de Sonora (Kohlman y Sánchez-Colón 1984; Turner et al. 1995) (Fig. 1). *B. hindsiana* concurre en climas áridos y cálidos marítimos, principalmente.

A pesar de ser un género que se encuentra ampliamente distribuido en el desierto Sonorense y en general, en México, poco se conoce de sus

características y atributos ecológicos. Con base en estudios genéticos utilizando isoenzimas se ha podido determinar la estructura genética de dos especies de *Bursera*, *B. cuneata* y *B. microphylla* (Del Valle 1996; Hernández 1999). En estos estudios se detectó un 14 % y un 18 % de diferenciación genética entre poblaciones respectivamente, con valores altos de endogamia. La situación de *B. hindsiana* puede ser similar a alguno de estos casos.

La distribución del género *Bursera* en Baja California puede estar subordinada tanto a la historia geológica de la región como a factores climáticos. La historia comprende, a grandes rasgos, eventos de transgresiones y separación de la Península desde aproximadamente 11 millones de años (ma), como resultado de la actividad en las fallas tectónicas en la región (Larson 1968; Moore 1968; Lindsay 1983). Se sabe que durante el Mioceno y Holoceno las glaciaciones restringieron la expansión de especies de plantas tropicales, en este sentido, el desierto Sonorense es de formación reciente por lo que las especies de origen tropical son producto de una dispersión anterior a la formación del desierto seguida de una posterior adaptación a la condición de aridez actual.

Una explicación de la distribución actual del género *Bursera* en el desierto Sonorense y en particular de la distribución disyunta de *B. hindsiana* (Fig. 1), supone que se debió a la separación de la península y la formación del mar de Cortéz, donde se fragmento la distribución y se hizo evidente una barrera geográfica importante que restringió el flujo génico. En el transcurso de esta separación paulatina, cabe esperar que se hayan desencadenado procesos de diferenciación que involucra a todas las especies provenientes de ambientes tropicales y subtropicales que experimentaron presiones selectivas diferenciales, lo cual generó adaptación en ambientes locales, (Cody et al. 1983; Turner et al. 1995).

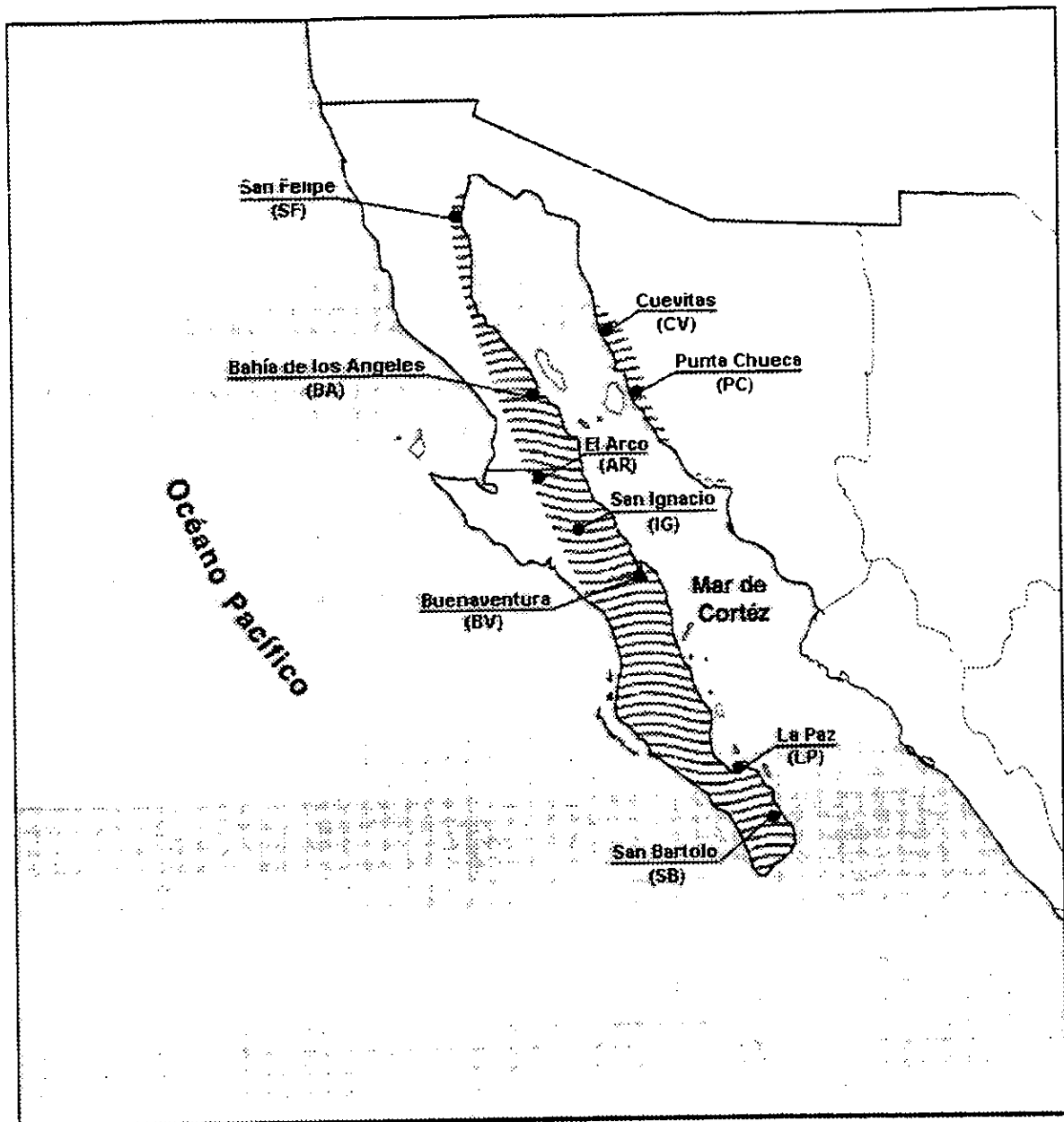


Fig. 1 Distribución de *B. hindiana* y poblaciones colectadas (mod. de Kohlman y Sanchez-Colón 1984)

### Región y Especie de estudio

La Península de Baja California, incluida dentro del Desierto Sonorense, se originó hace 5-10 ma., como resultado de las interacciones tectónicas entre la Placa del Pacífico y la Placa Continental Americana. La separación de la

península y la creación del Golfo de California, transformó profundamente la geografía de lo que hoy es el noroeste de México. Datos recientes indican que la Península, la cual estuvo unida a la principal masa terrestre de lo que es hoy México a la altura de Jalisco y Nayarit, se desplaza con dirección NNW en aproximadamente 4 cm por año (T. Calmus, UNISON, Comunicación Personal). Dicho desplazamiento ha dado origen a una separación espacial de especies, marcando una barrera geográfica importante que reduce el flujo genético dentro de poblaciones de especies particulares, con esta peculiar distribución disyunta, esta barrera puede no ser tan grande para organismos con una dispersión de semillas y polen a gran distancia.

El género *Bursera* ha sido descrito como poligamodioico, es decir, dioico en su origen pero que puede presentar modificaciones en su sistema de cruce. En particular, *B. hindsiana* es básicamente una especie dioica, y su distribución abarca prácticamente todo el desierto Sonorense, excepto el límite norte, donde las condiciones de extrema aridez y bajas temperaturas en invierno restringen su presencia (Johnson 1992).

### **Origen de la Península de Baja California**

La península de Baja California se ha formado por la separación oblicua de la placa del Pacífico y la placa de Norteamérica, dando origen al Golfo de California que es un brazo del Océano Pacífico de entre 100 a 150 kilómetros de ancho. En el sur, el margen continental se conjuga con la ruptura de región de los Cabos con la Bahía que formaba en conjunto con las Islas Mariás y el continente. En esta región se presenta uno de los pocos casos en el mundo de la formación reciente de una cuenca oceánica. En este caso, la cuenca se formó a partir de una falla que separa la parte continental de la Baja California. Su origen está ligado a la evolución de la placa tectónica del Pacífico. Hace 38 - 30 (ma), la Placa del Pacífico inicia un ligero movimiento hacia el oeste respecto a la placa de Norteamérica (Lonsdale 1989). Hace aproximadamente 30 ma comenzó el



contacto entre la placa Pacífico y la de Norteamérica, e inicia la actividad de la Falla de San Andrés. Entre 30 y 20 ma el movimiento de las placas Pacífico y Norteamérica se acelera a 5 centímetros por año (García 1996); el eje del Golfo de California es sísmicamente activo porque el límite norte se encuentra en franca relación con el sistema de fallas de San Andrés.

Este es un sistema complejo de fallas, formado por ejes de extensión en el límite de la placa del Pacífico y la placa de Norteamérica y entre la placa de Norteamérica y la placa Rivera que se ubica en la boca del Golfo. En el Golfo persiste el movimiento de separación y en la actualidad es semejante al de hace 20 ma (Fig. 2).

Se considera que la parte sur de Baja California tiene una relación estrecha con la región continental que ocupa ahora el estado de Nayarit y Jalisco, en el noroeste de México. Esto se debe a que en el pasado reciente (entre 4 y 10 ma.), antes de la separación, la península constituía parte de la región continental (Moore 1968), en contacto con el estado de Michoacán, Guerrero e islas cercanas al continente que comparten el tipo de vegetación de selva baja (Johnston 1924).

En la Península de B. C. ha ocurrido una diversificación vegetal que ha dado origen a endemismos, tanto de Cactáceas como de Burseras (*B. cerasifolia* es endémica de la península). Resulta interesante notar que varias especies comparten un patrón de distribución similar al de *B. hindsiana*, lo que supone una historia común (Shreve & Wiggins 1964; Wiggins 1980; Turner et al. 1995). Se ha sugerido que la presencia de varias especies, entre ellas *B. hindsiana*, en islas cercanas a la península de Baja California y a Sonora, se debe a la migración por dispersión de semillas, de poblaciones originarias de las costas más cercanas (Cody et al. 1983). La dispersión de semillas se da por aves secundariamente frugívoras como *Vireo vicinor* (Bates 1992). *V. vicinor* es específico de *B. microphylla*, pero se desconoce su importancia como dispersor de *B. hindsiana*. Aún cuando existe cercanía entre las islas con ambas costas, no es bien conocida la efectividad de la dispersión, pues en algunas islas intermedias, tanto en la boca del Golfo como en la parte norte, no se encuentra *B. hindsiana*.

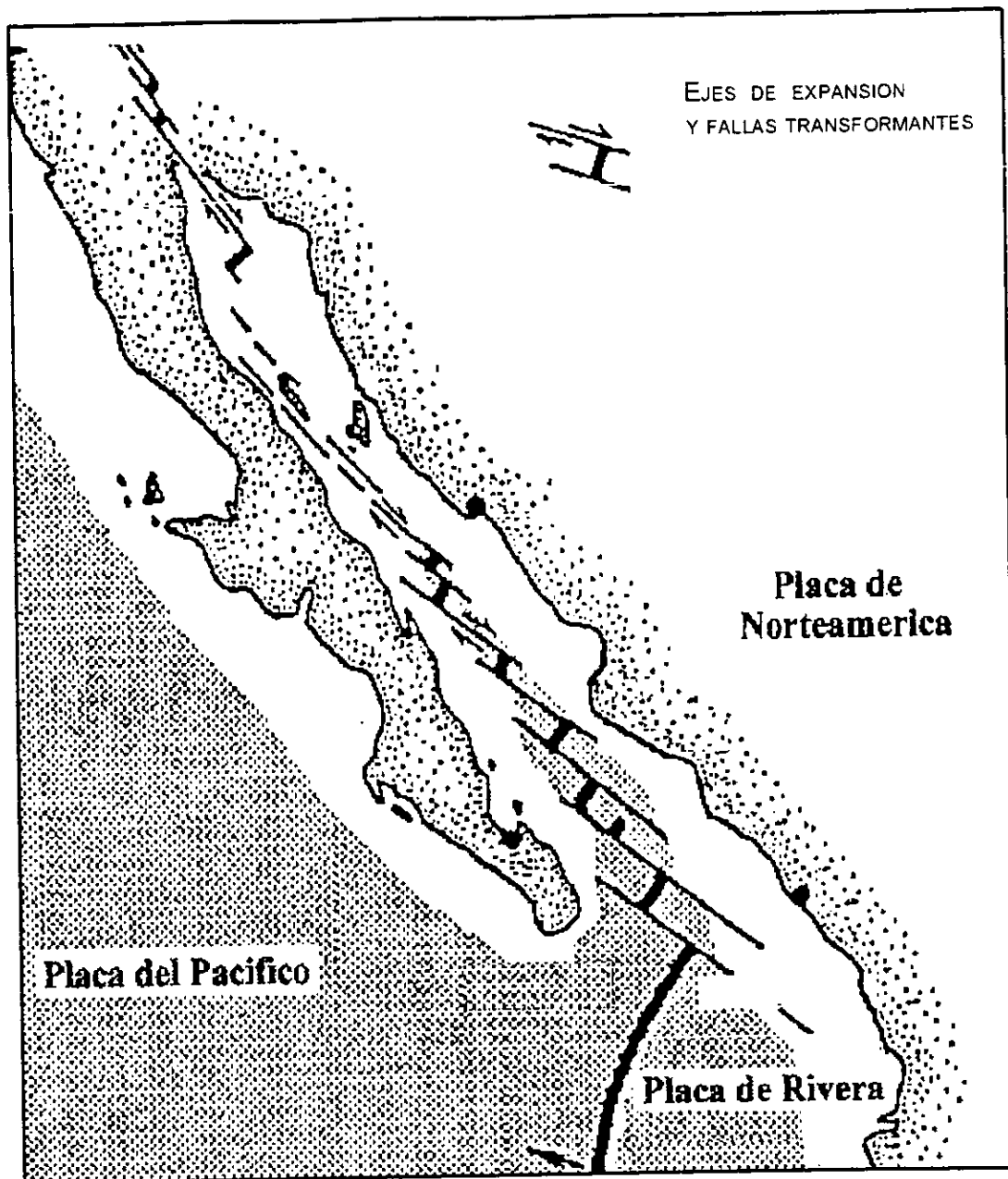


Fig. 2 Fallas y ejes transformantes entre las placas de Norteamérica, Pacífico y Rivera (mod. de García 1996)

La presencia restringida de *B. hindsiana* en la costa sonorenses puede deberse a varios factores, como eventos de extinción y recolonización local provocadas recientemente por las fluctuaciones climáticas de los últimos 20 mil años, ya que periodos glaciares e interglaciares se sucedieron, modificando la composición de la vegetación en regiones de Baja California, como San Fernando

y Cataviña, así como en la Sierra Bacha, Sonora (Anderson y Van Devender 1995; Peñalba y Van Devender 1998).

Por otra parte, en la costa baja de Sonora, al sur de Guaymas no hay evidencia de poblaciones ancestrales de *B. hindsiana*, no obstante, en la seiva baja de Nayarit, Sinaloa y Sonora podrían encontrarse entidades filogenéticamente más cercanas a *B. hindsiana*. En una filogenia molecular a partir de ADN nuclear, se ubican en el mismo clado, junto a *B. hindsiana*, a *B. stenophylla*, *B. penicillata*, que tienen una distribución meridional (Sonora, Sinaloa, Nayarit), y *B. infernidialis* y *B. palmeri*, cuya distribución abarca la zona centro del país (Becerra y Venable 1999). En este estudio no se incluye a *B. cerasifolia*, ni a *B. eppinata*.

Durante la expansión geográfica de *B. hindsiana* es probable que algunos procesos de diferenciación dieran origen a *B. cerasifolia*, especie endémica de la región de Los Cabos en Baja California Sur.

### **Ambiente físico en el desierto Sonorense**

En la caracterización de las condiciones físicas asociadas al ambiente y en particular para la temperatura, esta está fuertemente influenciada por la elevación, latitud, proximidad y exposición al océano, principalmente. En general, las zonas más cálidas en verano dentro del desierto Sonorense se encuentran en la intersección de Sonora y Baja California, es decir, en la cabeza del Golfo, debido a las barreras montañosas. En la costa del Pacífico la temperatura desciende debido a la variación de las propiedades térmicas de la corriente fría descendente de la región norte, lo cual incide directamente en la temperatura promedio de verano. Pero las condiciones en invierno son contrastantes, pues es en la porción norte donde disminuye drásticamente la temperatura, llegando a varios grados bajo cero.

Las condiciones climáticas en la península de B.C. y la zona adyacente continental son esencialmente las mismas, baja precipitación pluvial y un verano

extremadamente caluroso. Cualquier diferencia entre Baja California y las islas es resultado de la superficie y elevación, en interacción con el efecto atenuante del agua. Las islas Angel de la Guarda y Tiburón tienen un patrón climático más semejante a la península y a la costa de Sonora respectivamente que entre sí, aunque las diferencias no son notables (Lindsay 1983). Muchos de estos lugares reciben probablemente entre 100 y 150 mm de lluvia por año, pero con baja predictibilidad; en algunos lugares a veces no hay precipitación por varios años (García 1973; Comisión Nacional del Agua 1998), (Tabla 1).

En la tabla 1 puede apreciarse las diferencias en el régimen de lluvia entre dos fracciones de B.C. Así, para la región norte la precipitación invernal es mayor debido a la influencia de la corriente fría del Pacífico. La temperatura media anual es de 21° a 24 °C y en verano se incrementa a temperaturas por encima de 32 °C en promedio para el mes de junio.

Tabla 1. Precipitación media, temperatura media y máxima en promedio mensual para la Península de Baja California y Sonora

PRECIPITACION MEDIA(mm)

ESTADO	ENE	FEB	MAR	ABR	MAY	JUN	JUL	AGO	SEP	OCT	NOV	DIC	ANUAL
BAJA CALIF. N	38.1	30.3	37.5	15.3	4.3	1.2	1.4	5.2	5.8	9.2	22.7	34.1	205.1
BAJA CALIF. S	14.5	4.7	2.3	1.0	0.6	1.0	19.3	41.7	52.0	18.5	5.9	14.0	175.5

TEMPERATURA MEDIA MENSUAL (°C)

CAPITAL	ENE	FEB	MAR	ABR	MAY	JUN	JUL	AGO	SEP	OCT	NOV	DIC	ANUAL
MEXICALI. B.C. N	12.3	14.8	17.1	20.7	24.6	29.5	33.1	32.5	29.7	23.8	17.1	12.8	22.3
LA PAZ. B.C.S.	17.9	18.6	19.6	21.8	23.8	26.2	28.9	29.3	28.7	26.3	22.5	19.2	23.6
HERMOSILLO. SON.	16.6	18.1	20.1	23.7	27.2	31.8	32.6	31.5	31.0	27.2	21.0	17.0	24.8

TEMPERATURA MAXIMA PROMEDIO (°C)

CAPITAL	ENE	FEB	MAR	ABR	MAY	JUN	JUL	AGO	SEP	OCT	NOV	DIC	ANUAL
MEXICALI. B.C.N	20.4	23.2	25.8	29.7	34.1	39.4	41.7	40.9	38.7	32.8	25.5	20.9	31.1
LA PAZ. B.C.S.	23.5	25.1	27.1	30.1	33.1	35.1	36.4	36.1	35.1	32.9	28.6	24.8	30.7
HERMOSILLO. SON.	23.6	25.7	27.8	32.1	35.7	39.6	39.2	38.2	37.8	34.6	28.5	24.1	32.2

Datos proporcionados por la Comisión Nacional del Agua para el periodo comprendido entre 1941 - 1997.

En ciudades como Mexicali y Hermosillo se presentan temperaturas de más de 39 °C. Un aspecto climático relevante con relación a la fenología de las plantas es la distribución estacional de las lluvias. En el norte del golfo los patrones de lluvia son parecidos al clima mediterráneo, con lluvias importantes en invierno. El 20% de la precipitación anual ocurre en los meses de verano. Más al sur, tanto en la península, el golfo y costa de Sonora, la incidencia de lluvias en verano se incrementa al 40% y 50% de la precipitación anual respectivamente (Lindsay 1983). Las lluvias de verano son importantes para arbustos de origen tropical o subtropical de los generos *Euphorbia*, *Jatropha* y *Bursera*, así como para un grupo importante de efimeras de verano y plantas anuales.

### **Familia *Burseraceae***

La familia *Burseraceae* está constituida por 600 especies en 20 géneros localizados en regiones subtropicales y tropicales de África, Asia, América del norte y Sudamérica. Los triterpenos y aceites aromáticos son característicos de la familia (Rzedowski en Toledo 1982). La mayor diversidad se localiza en el trópico seco del continente Africano y en México, básicamente en los bosques tropical deciduos. Son especies dominantes de este tipo de vegetación. El género *Bursera*, con aproximadamente 100 especies es básicamente un género mexicano. También se distribuye en el Caribe, el norte de Sudamérica y al Este de Brasil; en el Sur de los Estados Unidos se encuentran solo dos especies (Johnson 1992).

El tamaño de las plantas en el género va desde pequeños arbustos a grandes arboles. El tronco y ramas de algunas especies son distintivamente semisuculentas y de tronco fotosintético (Nilsen 1990), tienen corteza típica gris, roja o amarillenta. En la sección *Bursera* la corteza es exfoliante, en pequeñas tiras papiráceas durante todo el año, acentuado en temporada seca. Las hojas comúnmente compuestas son alternas sin estipulas, paripinnadas o imparipinnadas, a veces unifoliadas. Florecen al término de la temporada seca y frecuentemente antes de las hojas nuevas, las flores son 3, 4, 5-meras pequeñas

inconspicuas, fruto (drupa) pequeño con una sola semilla, de cotiledones lobulados o multilobulados. El fruto bivalvado es característico de la sección *Bullockia* y el fruto trivalvado es característico de la sección *Bursera*, ambos son dehiscentes. En la sección *Bullockia* la semilla está parcialmente cubierta (2/3) con el pseudoarilo (mesocarpo según Rzedowski) y en la sección *Bursera*, la semilla totalmente cubierta por el pseudoarilo. (Rzedowski 1979. Johnson 1992).

El género *Bursera* es de origen tropical, básicamente de selva baja caducifolia, por lo que se puede decir que *B. hindsiana* es una especie que ha venido adaptándose a ambientes secos. Estas modificaciones son entre otras la acumulación de agua en el tallo, por lo que la especie se integra en el grupo de arbustos de tallos suculentos. El corto periodo de permanencia de hojas y una tendencia a la reducción de folíolos. Por otra parte, la maduración de los frutos y en consecuencia, la producción de las semillas es lenta.

La distribución de *B. hindsiana* dentro del desierto Sonorense se concentra en regiones bajas, cerca de la costa, en superficies arenosas, mientras que en el sur de la península de Baja California, las condiciones son semejantes a las de una selva baja caducifolia, su distribución va de los 0 metros a los 800 metros s.n.m. (Turner et al. 1995). Existe un gradiente de densidad inverso al de *Bursera microphylla*, es decir, la proporción de *B. hindsiana* en el Sur del desierto Sonorense es de 8 a 1 con respecto a *B. microphylla*, situación que se invierte en Baja California norte y Sonora (Observación personal).

## **Objetivos**

Caracterizar la diversidad genética de las poblaciones de *Bursera hindsiana* del desierto Sonorense.

Determinar el nivel de diferenciación entre poblaciones en la Península y en la costa de Sonora, así como la estructura genética.

Determinar el efecto de la historia geológica en la genética de las poblaciones de *B. hindsiana*.

inconspicuas, fruto (drupa) pequeño con una sola semilla, de cotiledones lobulados o multilobulados. El fruto bivalvado es característico de la sección *Bullockia* y el fruto trivalvado es característico de la sección *Bursera*, ambos son dehiscentes. En la sección *Bullockia* la semilla está parcialmente cubierta (2/3) con el pseudoarilo (mesocarpo según Rzedowski) y en la sección *Bursera*, la semilla totalmente cubierta por el pseudoarilo. (Rzedowski 1979, Johnson 1992).

El género *Bursera* es de origen tropical, básicamente de selva baja caducifolia, por lo que se puede decir que *B. hindsiana* es una especie que ha venido adaptándose a ambientes secos. Estas modificaciones son entre otras la acumulación de agua en el tallo, por lo que la especie se integra en el grupo de arbustos de tallos suculentos. El corto periodo de permanencia de hojas y una tendencia a la reducción de folíolos. Por otra parte, la maduración de los frutos y en consecuencia, la producción de las semillas es lenta.

La distribución de *B. hindsiana* dentro del desierto Sonorense se concentra en regiones bajas, cerca de la costa, en superficies arenosas, mientras que en el sur de la península de Baja California, las condiciones son semejantes a las de una selva baja caducifolia, su distribución va de los 0 metros a los 800 metros s.n.m. (Turner et al. 1995). Existe un gradiente de densidad inverso al de *Bursera microphylla*, es decir, la proporción de *B. hindsiana* en el Sur del desierto Sonorense es de 8 a 1 con respecto a *B. microphylla*, situación que se invierte en Baja California norte y Sonora (Observación personal).

## **Objetivos**

Caracterizar la diversidad genética de las poblaciones de *Bursera hindsiana* del desierto Sonorense.

Determinar el nivel de diferenciación entre poblaciones en la Península y en la costa de Sonora, así como la estructura genética.

Determinar el efecto de la historia geológica en la genética de las poblaciones de *B. hindsiana*.

### Hipótesis.

Para la especie se propone que el origen ocurrió en la Península y después migró hacia las islas y a Sonora, (Cody et al. 1983). Se espera que en un fenograma las poblaciones del sur de Baja California se agrupen en posiciones basales y las poblaciones del norte se agrupen en posiciones derivadas.

Si el origen ocurrió en el "continente" antes de la separación de la Península, y la dinámica tectónica fragmento la distribución de *B. hindsiana* en dos grupos, se esperaría un fenograma donde las poblaciones del continente y del sur de Baja California se agrupen de forma basal y las poblaciones del norte de la península formen otro grupo en posiciones más derivadas.

La relación que guarden entre sí las poblaciones ayudará a dilucidar el origen.

- A) La actual distribución de *B. hindsiana* en Sonora ha hecho suponer que el origen es la Península y posteriormente, por migración paso de Baja California hacia Sonora a través de las Islas, (Cody et al. 1983). Entonces, se espera una relación mayor entre poblaciones a esa latitud entre Sonora y Baja California, en un fenograma que indique la relación filogenética que guarden entre sí todas las poblaciones.
- B) Alternativamente, el origen meridional de la especie, su dispersión activa antes y después de la ruptura de la península hacia el norte hará suponer una relación estrecha de las poblaciones peninsulares entre sí, y también entre las poblaciones continentales. Esta relación habrá de estar disminuida entre poblaciones continentales y peninsulares con semejante distribución latitudinal (Fig. 3).

Si la hipótesis clásica (A) es válida, se espera mayor variación genética en Baja California y menor variación en Sonora, en cambio, en la hipótesis alternativa (B) se esperaría mayor variación genética en la porción sur de ambos lados del Golfo y menor variación en el norte si el sentido de colonización ha sido sur-norte.



Esta hipótesis alternativa no se ha propuesto con anterioridad, sin embargo, es una hipótesis plausible. Basada en que la formación del Golfo de California fragmentó la distribución de *B. hindiana*, y la ausencia de flujo génico a través del mar, donde no existen puentes terrestres como en el norte del Golfo. Dado que antes de la ruptura, la distribución era continua, se puede esperar similitud de las poblaciones de Sonora con poblaciones de la Península.

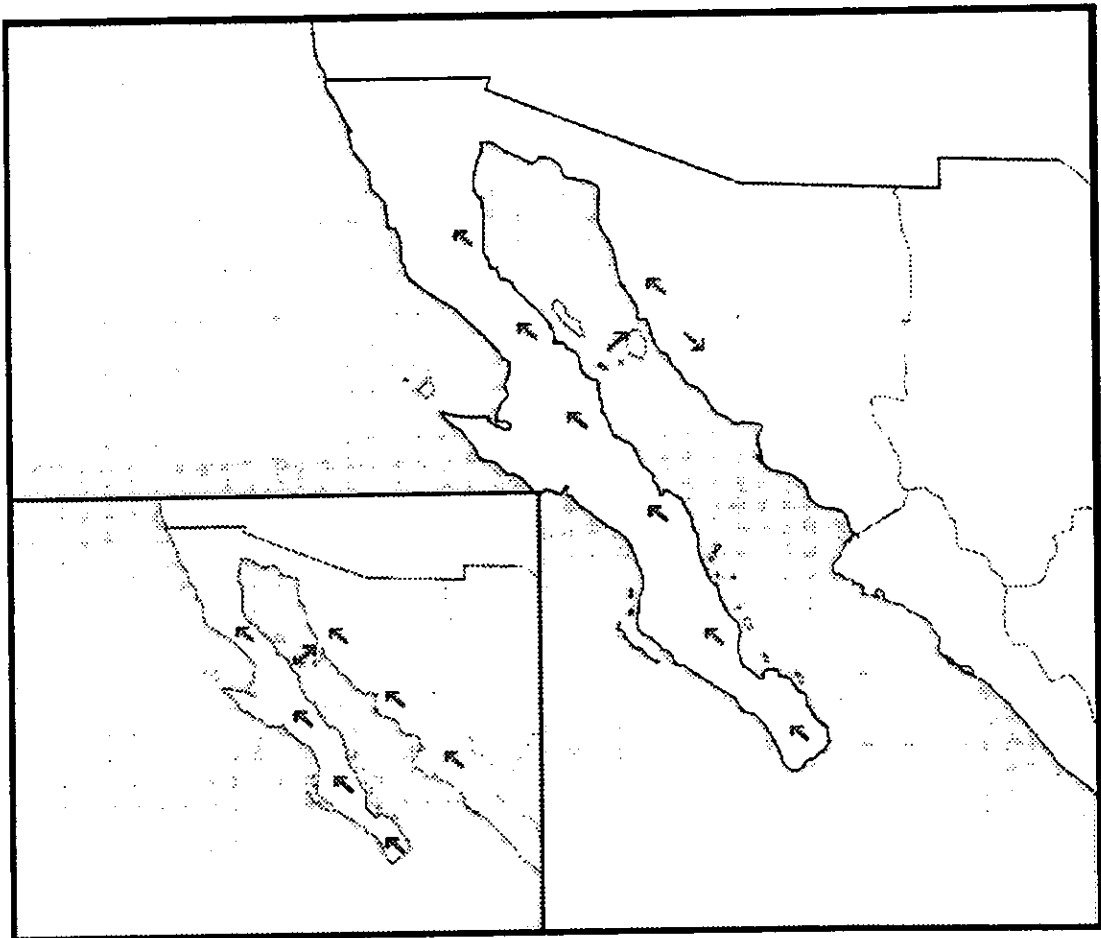


Fig. 3 Hipótesis ilustradas

## METODOS

### Especie

*Bursera hindsiana* (Benth.) Engler, en A. y C.DC. Monogr. Phan 4:58 1883.

Copal, copalillo, torote prieto, red elephant tree.

Puede presentarse en forma de grandes arbustos o pequeños árboles de 3 a 5 metros de altura con troncos multirrameados de color gris-rojo, tallos en los crecimientos pubescente o a veces glabro de color café oscuro. Hojas de 3 o 5 foliolos, o unifoliolados ovados u obovados o ampliamente lanceolados, de filos suaves pubescentes, aterciopelados por los dos lados, márgen irregularmente crenado, ráquis alado. Presenta flores blancas en pocas panículas de 1 a 5 cm (8) de largo o flores solas, florece de agosto a octubre. Frutos bivalvados rojos y verdes de apariencia semejante a una manzana en miniatura; semillas de 7 a 8 mm de longitud, negras y cubiertas 2/3 partes con el pseudoarilo de color naranja. Las plántulas presentan cotiledones trilobulados. Se le localiza en laderas, rocas y arroyos en zonas desérticas como la costa de Sonora, de Guaymas a la punta de Puerto Lobos, en muchas islas del Golfo de California y en la mayor parte de Baja California.

Localidad tipo: Bahía de Magdalena, Baja California Sur, México (Johnston 1924). Ampliamente distribuida pero no abundante en el área del Golfo de California, principalmente en tierras bajas, arroyos y en la cercanía de zonas costeras.

### Colecta

La colecta se llevó a cabo a partir del día 9 de Octubre de 1996 en el estado de Sonora. Se colectaron las poblaciones de Punta Chueca y Cuevitas. Posteriormente se colectaron las poblaciones de la península de Baja California, iniciando con la población de San Ignacio, San Buenaventura, La Paz y San

Bartolo en Baja California Sur, y las poblaciones de El Arco, Bahía de los Angeles y San Felipe en Baja California Norte (Tabla 2).

En cada localidad se realizó una colecta de hojas jóvenes de cada uno de 50 individuos. El material fue conservado en primera instancia con hielo y después con nitrógeno líquido para su traslado a la Ciudad de México. En el Instituto de Ecología, UNAM. En el Laboratorio de Genética Ecológica y Evolución, se conservó el tejido colectado dentro de un ultracongelador (REVCO) a  $-70^{\circ}\text{C}$ .

La elección de los lugares de colecta fue resultado de la revisión de material herborizado en el Herbario del Instituto de Biología (MEXU) y de la distribución para la especie publicada en Turner et al. 1995. La morfología de los ejemplares es uniforme y las localidades cubren todo lo largo de la península desde los  $31^{\circ} 16' \text{N}$  a los  $23^{\circ} 41' \text{N}$ .

Tabla 2. Localidades y ubicación geográfica de las poblaciones de *B. hindsiana* estudiadas.

CLAVE	LOCALIDAD	ESTADO	LATITUD	LONGITUD	P. PROM
PC	PUNTA CHUECA	SONORA	28° 59.12'	112° 05.48'	87.9 mm
CV	CUEVITAS	SONORA	29° 42.01'	112° 32.06'	87.9 mm
SF	SAN FELIPE	B.C.N	31°16.80'	114° 58.68'	55.4 mm
BA	B. DE LOS ANGELES	B.C.N	28° 58.09'	113° 39.14'	59.5 mm
AR	EL ARCO	B.C.N	27° 59.62'	113° 27.58'	119.8 mm
IG	SAN IGNACIO	B.C.S	27° 19.06'	112° 48.76'	93.8 mm
BV	BUENAVENTURA	B.C.S	26° 38.09'	111° 49.91'	112.6 mm
LP	LA PAZ	B.C.S	24° 12.01'	110° 17.94'	185.0 mm
SB	SAN BARTOLO	B.C.S	23° 41.30'	109° 43.91'	326.0 mm

Posición geográfica obtenida por GPS con 4 satélites de resolución  
Precipitación promedio anual entre 7 a 12 años de registro (García 1973).

## Procedimiento electroforético

Para el análisis genético de las poblaciones de *B. hindsiana* se utilizó la técnica de electroforesis horizontal en geles de almidón hidrolizado al 11 y 12%. Se utilizó el tejido colectado para obtener un homogeneizado de cada individuo, macerando con un buffer de extracción; en este caso el buffer que dio mejores resultados fue el utilizado para *Abies* (ver apéndice 3), ya utilizado con buenos resultados en *B. cuneata* (del Valle 1996).

Con estos antecedentes se probaron 6 sistemas de buffer y 20 enzimas. Para este análisis se utilizaron nueve enzimas, con once loci, diez de ellos polimórficos, con un patrón de bandeo de resolución aceptable para su interpretación en todas las poblaciones (Tabla 3).

La población de El Arco fue utilizada como marcador de corrimiento para las demás poblaciones y con ello estandarizar las lecturas

**Tabla 3. Enzimas y Sistemas Electroforéticos**

Sistema	Locus				
Sistema C de Maíz Stuber et al. 1988	LAP	PGI-1	PGI-2	RUB	GOT
Sistema D de Maíz Stuber et al. 1988	AcPH-1	AcPH-2	G-6-PDH		
	SKD	APX	FEST		

## Análisis de datos

Se obtuvieron los genotipos multilocus para cada individuo de cada población de *B. hindsiana* y se elaboraron matrices de datos para ser usadas en el programa BIOSYS-1 (Swofford y Selander 1981) y en el programa Tools for Population Genetics Analysis (TFPGA) (Miller 1997) y obtener, en primera instancia, las frecuencias alélicas para cada locus por población. A partir de esta información es

posible calcular los estimadores que permiten evaluar la variación genética dentro y entre poblaciones.

### Estructura genética

Para analizar la variabilidad genética de las diferentes poblaciones se obtuvo la proporción de loci polimórficos  $P$ :

$$P = x/m, \quad \text{donde } x \text{ es el número de loci con más de 1 alelo}$$

y  $m$  es el número total de loci analizados

Puesto que la probabilidad de encontrar más de un alelo (con bajas frecuencias) en un locus se incrementa con el tamaño de muestra se debe determinar un criterio para decidir si un locus es polimórfico o no. Por lo tanto, para que un locus sea considerado polimórfico el alelo más frecuente no debe exceder el 95%, (i.e. el alelo más común no excede la frecuencia de 0.95). Este criterio fue seguido en este trabajo.

La heterocigosis promedio esperada por población ( $\bar{H}$ ) se obtuvo de la siguiente manera:

$$H = 1 - \sum_{i=1}^n p_i^2, \quad \text{donde } p_i \text{ es la frecuencia de los alelos del locus } i. H \text{ toma valores}$$

que van de cero, cuando no hay variación genética, a uno, cuando todos son heterocigos (Hedrick 1983).

El número de alelos promedio por locus se obtuvo como:

$$n_a = \sum \frac{n_i}{m}, \quad \text{donde } n_i \text{ es el número de alelos observados en el locus } i, \text{ y } m \text{ es el}$$

número de loci bajo análisis.

Para describir la estructura genética de las poblaciones de *B. hindiana* se estimó el índice de fijación ( $F$ ), los estadísticos  $F$  de Wright ( $F_{it}$ ,  $F_{is}$  y  $F_{st}$ ), y los estadísticos propuestos por Weir y Cockerham ( $F$ ,  $f$  y  $\theta$ ).

El coeficiente de endogamia ( $F$ ) mide la reducción de la heterocigosidad dentro de una población, respecto a la heterocigosis esperada en equilibrio Hardy-Weinberg. Una población está en equilibrio cuando no está presente ninguna fuerza evolutiva y las frecuencias genotípicas en un locus dado, están en relación directa con las frecuencias genotípicas esperadas bajo un asociación aleatoria de los alelos de dicho locus. El equilibrio de H. W. implica panmixia al nivel de análisis genéticos y se espera que las frecuencias alélicas y genotípicas permanezcan estables y no cambian de generación en generación. En poblaciones donde los apareamientos entre parientes son comunes, las frecuencias genotípicas no se encuentran en las proporciones esperadas, sino que existen menos heterocigos de los esperados. En este contexto la endogamia se define como la probabilidad de que un individuo en una población posea genes idénticos por descendencia, lo cual significa que sus progenitores sean consanguíneos (Wright 1978).

El índice  $F$  se calcula como:

$$F = 1 - \frac{H}{2pq},$$

donde  $H$  es la heterocigosis observada en la población, y  $2pq$  es la proporción de heterocigotos esperada para cualquier par de alelos en el locus. Los valores de  $F$  positivos indican un déficit de heterocigotos y los valores negativos indican un exceso, el valor de cero indica el equilibrio Hardy-Weinberg (Hedrick 1983).

Los estadísticos  $F$  pueden estimarse jerárquicamente y conocer la contribución individual (i, local) y de las subpoblaciones (s) a la variación total (t). Así,  $H_i$  representa la heterocigosidad individual promedio observada en una subpoblación,  $F_s$  es la heterocigosidad promedio esperada en una subpoblación ideal donde los apareamientos son aleatorios, y  $H_t$  es la heterocigosidad

esperada de una población no subdividida, es decir, el total de la población ideal donde los apareamientos se realizan al azar.

El índice  $F_{is}$  mide la reducción de la heterocigosidad de un individuo debido al apareamiento no aleatorio dentro de la subpoblación en la que se encuentra, con respecto al ideal donde los apareamientos son al azar; toma valores de  $-1$  a  $+1$ , los valores negativos indican que la heterocigosis es mayor que la esperada y valores positivos cuando la heterocigosis observada es menor.

Se define como:

$$F_{is} = (\bar{H}_s - \bar{H}_i) / \bar{H}_s = 1 - (\bar{H}_i / \bar{H}_s)$$

El índice  $F_{st}$  mide la reducción de la heterocigosidad esperada de un individuo en una subpoblación con respecto a la esperada de un individuo en una población con apareamientos al azar o en equilibrio; mide los efectos de la subdivisión entre poblaciones locales y toma valores entre 0 y 1; si es cero no hay diferencias en las frecuencias alélicas y si es uno existen diferencias entre subpoblaciones.

Se define como:

$$F_{st} = (H_t - \bar{H}_s) / H_t = 1 - (\bar{H}_s / H_t)$$

El índice  $F_{it}$  indica el grado de endogamia total en la población. Es decir, la reducción de la heterocigosidad observada de un individuo en una subpoblación con respecto a la esperada, que sería una población con apareamientos aleatorios; Este estimador considera los efectos de los apareamientos no azarosos dentro de las subpoblaciones y los efectos de la subdivisión. Toma valores de  $-1$  a  $+1$  y se define como:

$$F_{it} = (H_t - \bar{H}_i) / H_t = 1 - (\bar{H}_i / H_t)$$

Estimadores insesgados similares fueron introducidos por Weir y Cockerham (1984), estos son  $f$ ,  $F$  y  $\theta$  equivalentes a  $F_{is}$ ,  $F_{it}$  y  $F_{st}$  respectivamente, con la ventaja de que pueden considerar diferentes tamaños de muestra, como poblaciones, individuos, loci analizados y número variable de alelos por locus.

El índice  $\theta$  puede tomar valores negativos, lo que significa que la estructura poblacional es tan pequeña que es difícil detectarla. Para estimar intervalos de confianza; el programa TFPGA emplea un procedimiento denominado "Jackknife" para obtener promedios de los tres indicadores y el método de remuestreo llamado bootstrap con 1000 remuestras al 95 % de los valores promedio (Miller 1997).

La estructura genética explica el modo en que se distribuye la variación genética dentro y entre poblaciones, e involucra el estudio de la variación espacial y temporal, la dispersión y movimiento de los genes.

### **Distancias e identidades genéticas**

Para obtener las distancias e identidades genéticas se utilizaron los estimadores insesgados de Nei que permiten cuantificar las diferencias entre poblaciones en su composición genética; Se definen como:

$$D = -\ln [G_{xy} / (G_x G_y)^{1/2}] ; \quad D = -\ln I$$

Donde  $I$  es la identidad y  $G_x$ ,  $G_y$  y  $G_{xy}$  son las medias de  $\sum p_i^2$ ,  $\sum q_i^2$  y  $\sum p_i q_i$  respectivamente sobre todos los loci.  $\sum p_i^2$  y  $\sum q_i^2$  son iguales a la probabilidad de que dos alelos tomados de manera aleatoria en una misma población sean idénticos por descendencia y  $\sum p_i q_i$  es igual a la probabilidad de que dos alelos, uno de cada población, sean también idénticos por descendencia. Los valores de  $D$  van de 0 a infinito.

### **Relaciones genéticas entre poblaciones**

Por medio del método de promedio aritmético, no ponderado de par-grupo (UPGMA) (Sneath y Sokal 1973), se obtienen las relaciones genéticas entre todas las poblaciones de *B. hindiana*, representado por un fenograma y utilizando para ello los valores insesgados de distancias genéticas (Nei 1972). Para comparar el fenograma obtenido por UPGMA se utilizó el programa PHYLIP (Phylogeny



Inference Package) Versión 3.5c (Felsenstein 1995) mediante el método de "Neighbor-Joining", que utiliza el consenso de las distancias genéticas obtenidas mediante el "Bootstrap" sobre las frecuencias alélicas, en este caso, con 1000 repeticiones.

El análisis UPGMA supone tasas de sustitución constantes a lo largo de las ramas del fenograma, mientras que Neighbor-joinin permite tasas desiguales de sustitución, permitiendo que no todos los linajes diverjan de la misma manera.

### Flujo Génico

Para estimar indirectamente el valor de flujo génico se utiliza el estadístico  $F_{st}$  mediante la expresión derivada por Wright:

$$F_{st} \cong 1/(4Nm+1)$$

Donde N es el tamaño de la población, m la fracción de inmigrantes a N.

Y para los valores de flujo génico entre subpoblaciones la siguiente ec.

$$Nm \cong (1/4 (1/F_{st})-1)$$

Los valores de  $Nm$  menores que 1 sugieren una fuerte diferenciación entre poblaciones, por deriva génica (Slatkin 1994), mientras que valores de  $Nm$  mayores que 1 sugieren una superpoblación cercana a la panmixia donde el flujo génico restringe a la deriva (Slatkin 1994, Hartl y Clark 1989). Para obtener información sobre el aislamiento por distancia (*sensu* Wright 1946) se relacionó el valor de  $F_{st}$  entre pares de poblaciones y la distancia geográfica entre ellas, denominada  $k$  y con el estimado de  $Nm$  de la ecuación anterior se calcula  $\hat{M}$  (Slatkin 1993). Para el caso de flujo génico en una dimensión:

$$\hat{M} = 4Nm/k$$

Mientras que para dos dimensiones  $\hat{M} = 4Nm/ k$

Para poblaciones en equilibrio entre la deriva y la migración, la relación:

$\log(\hat{M}) = a + \log b(k)$ , predice una pendiente de  $-1$  y  $-0.5$  para el flujo génico en una y dos dimensiones, respectivamente.

## RESULTADOS

La morfología de las nueve poblaciones muestreadas de *Bursera hindsiana* mostraron ser similares, de acuerdo a la previa revisión de ejemplares de herbario. Esto se comprobó el segundo año de colecta. En el verano del primer año de colecta, la foliación fue más intensa en la porción sur de Baja California. Un mismo individuo llegó a presentar hojas unifoliadas, trifoliadas y pentafoliadas. En las poblaciones al norte, donde son más importantes las lluvias de invierno, apenas tenían hojas y el poco desarrollo foliar impedía apreciar el número de foliolos. Probablemente la baja precipitación haya provocado solo la producción de hojas unifoliadas. El segundo año de colecta, se realizó cerca del invierno, por lo que las poblaciones del norte se encontraban con follaje abundante y se comprobó la similitud de características foliares con las poblaciones del sur de Baja California.

Es también importante señalar que todas las poblaciones mostraron hojas donde se aprecia el intermedio de las unifoliadas con las trifoliadas, con un lóbulo de la lámina foliar semidividido. De todas las poblaciones, sólo San Felipe, la localidad ubicada más al norte, se colectó en el segundo año.

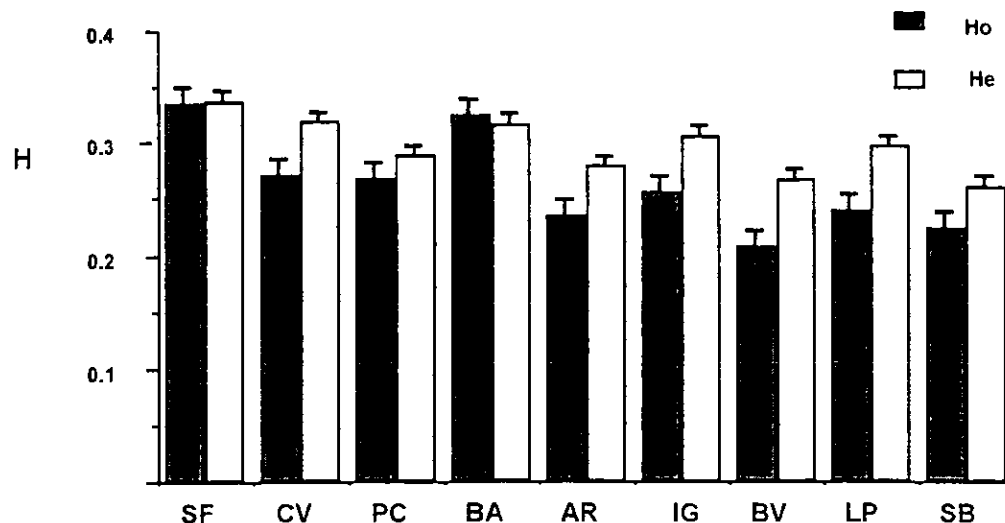
### Análisis genético

Veinte enzimas en 6 sistemas fueron probadas para la *B. hindsiana*, (ver apéndice 1), de las cuales 7 no presentaron actividad, solo nueve mostraron buena definición para su lectura: Esterasa fluorescente (FEST), Leucin aminopeptidasa (LAP), Glutamato oxaloacetato transaminasa (GOT), Glucosa 6 fosfato deshidrogenasa (G-6-PD), Ribulosa 1-5 bifosfato carboxilasa (RUB), Peroxidasa anódica (APX), Fosfoglucosa isomerasa (PGI-1 y PGI-2), y Fosfatasa ácida (AcPH-1 y AcPH-2) y Shikimato deshidrogenasa (SKD). Sólo la enzima RUB resultó monomórfica. En todos los casos, con excepción de PGI-1 y AcPh-2 hubo diferencias significativas entre poblaciones en las frecuencias alélicas. El número

promedio de alelos por locus fue de 2.35. El porcentaje de loci polimórficos fue de 90.9%. La heterocigosidad promedio esperada fue de 0.297, mientras que la observada fue de 0.262 (Tabla 4). El índice de Fijación promedio para todas las poblaciones fue de 0.106, lo que indica una deficiencia de heterocigos en los loci examinados (Tabla 5).

**Tabla 4. Medidas de variabilidad genética en *Bursera hindsiana* del desierto Sonorense, se incluye entre paréntesis el error estándar.**

Población	Tamaño promedio de individuos Por locus	Número promedio de alelos por locus	Porcentaje de loci polimórficos	Heterocigosidad Observada	Heterocigosidad promedio Esperada H-W
PUNTA CHUECA	50 (0)	2.3 (0.2)	90.9	0.269 (0.063)	0.289 (0.054)
CUEVITAS	50 (0)	2.4 (0.2)	90.9	0.271 (0.056)	0.319 (0.064)
EL ARCO	50 (0)	2.4 (0.2)	90.9	0.235 (0.041)	0.279 (0.052)
SAN IGNACIO	50 (0)	2.4 (0.2)	90.9	0.255 (0.043)	0.306 (0.048)
SAN FELIPE	50 (0)	2.3 (0.2)	90.9	0.335 (0.080)	0.338 (0.070)
BUENAVENTURA	50 (0)	2.4 (0.2)	90.9	0.207 (0.042)	0.267 (0.050)
SAN BARTOLO	50 (0)	2.4 (0.2)	90.9	0.224 (0.042)	0.261 (0.046)
LA PAZ	50 (0)	2.4 (0.2)	90.9	0.240 (0.039)	0.297 (0.052)
B. ANGELES	50 (0)	2.2 (0.2)	90.9	0.324 (0.083)	0.317 (0.064)
Promedio	50	2.35	90.9	0.262	0.297



**Fig. 4 Heterocigosidad observada y esperada promedio por población con el error estándar.**

**Tabla 5. Índices de Fijación  $F$  por locus para cada población de *B. hindsiiana***

locus	P. CHUECA	CUEVITAS	ARCO	S. IGNACIO	S. FELIPE
FES1	0.285	0.337	0.333	0.337	0.322
G6P1	-0.124	0.115	-0.052	0.017	-0.165
ACP1	0.307	0.145	0.405 <sup>*1,2</sup>	0.432 <sup>*1,2</sup>	-0.042
ACP2	-0.099	-0.190	-0.176	-0.282	-0.073
APX1	-0.042	-0.042	0.185	-0.087	0.285
SKD1	0.097	-0.127	0.078	0.214	-0.320
GOT3	0.380 <sup>*1</sup>	0.401 <sup>*1,2</sup>	0.167	0.252	0.144
LAP1	0.136	0.134	0.285	0.447 <sup>*1,2</sup>	0.251
PGI1	-0.136	-0.053	-0.042	0.204	-0.136
PGI2	-0.304	0.278	-0.092	-0.032	-0.064

Prom. 0.050 0.100 0.109 0.150 0.020

locus	BVENTURA	S. BARTOLO	LA PAZ	B. ANGELES	prom
FES1	0.558 <sup>*1,2</sup>	0.337	0.206	-0.025	0.299
G6P1	0.349	0.314	0.265	-0.275	0.049
ACP1	0.621 <sup>*1,2</sup>	0.656 <sup>*1,2</sup>	0.558 <sup>*1,2</sup>	-0.064	0.335
ACP2	-0.149	-0.042	-0.042	0.143	-0.101
APX1	-0.064	-0.163	0.185	-0.075	0.020
SKD1	-0.144	0.069	0.096	-0.496 <sup>*1,2</sup>	-0.059
GOT3	0.147	0.055	0.209	0.052	0.201
LAP1	0.167	-0.034	0.297	0.335	0.224
PGI1	0.232	-0.087	-0.075	-0.075	-0.019
PGI2	0.316	0.563 <sup>*1,2</sup>	-0.098	0.489	0.117

Prom. 0.203 0.1668 0.160 0.001 0.1066

<sup>\*1</sup>  $P = 0.005$ , <sup>\*1,2</sup>  $P = 0.0005$

En la figura 4 se muestra la heterocigosis observada promedio por población y la esperada, a excepción de Bahía de los Angeles, todas las demás son menores a la esperada, aunque no estadísticamente diferentes.

### Estadísticos $F$ de Wright y de Weir y Cockerham.

Los valores promedio estimados de los estadísticos  $F$  de Wright (1978) fueron significativamente mayores de cero, indicando que existe déficit de heterocigosis dentro de las poblaciones. El valor de  $F_{is}$  fue de 0.118 probablemente por el entrecruzamiento entre parientes, ya que *B. hindsiana* se reporta como dioica. Por otra parte, el valor de  $F_{st}$  promedio en todas las subpoblaciones fue de 0.169, indicando que las poblaciones están estructuradas, (de acuerdo a la prueba de  $\chi^2$  con la corrección de Yates para la heterogeneidad de las frecuencias alélicas, donde todos los loci resultaron significativos, excepto PGI-1 y AcPH-2). Este índice sugiere que el 16% de la variación se encuentra repartida entre las subpoblaciones y el 84% se encuentra dentro de las subpoblaciones.

De la misma manera se obtuvo el índice  $F_{it}$  para todas las poblaciones de *B. hindsiana* con valor de 0.267, que indica un valor más alto para la endogamia a nivel de individuos en cada una de las subpoblaciones (Tabla 6).

Estos valores se acercan a los valores obtenidos para la *B. cuneata* en tres poblaciones,  $F_{st} = 0.119$ ,  $F_{is} = 0.251$  y  $F_{it} = 0.320$ , aunque el valor de la  $F_{is}$  es más alto, pues el aislamiento geográfico entre poblaciones es más evidente en el caso de *B. cuneata* (del Valle 1996), donde las poblaciones son más pequeñas. En la figura 5 se aprecian los estimados de  $F$  para las dos regiones del desierto Sonorense y los valores más dispares son en el estimado para  $F_{st}$ , donde la región sur está más diferenciada, aunque estas diferencias no son estadísticamente significativas.

Tabla 6. Estadísticos  $F$  para poblaciones *B. hindsiانا* en el desierto Sonorense. Con los estimadores equivalentes de Weir y Cockerham 1984.

Locus	$F_{Ls}$	$f$	$F_{It}$	$F$	$F_{st}$	$\theta$
FES1	0.28	0.298 <sup>*1,2</sup>	0.31	0.313	0.030	0.020
G6P1	0.06	0.074	0.27	0.293	0.223	0.236 <sup>*1,2</sup>
ACP1	0.36	0.374 <sup>*1,2</sup>	0.39	0.395 <sup>*1,2</sup>	0.041	0.033
ACP2	-0.08	-0.07	-0.04	-0.03	0.045	0.041
APX1	0.02	0.037	0.51	0.547 <sup>*1,2</sup>	0.506	0.530 <sup>*1,2</sup>
SKD1	-0.08	-0.07	-0.01	-0.00	0.069	0.068
GOT3	0.20	0.216 <sup>*1,2</sup>	0.25	0.258	0.058	0.053
LAP1	0.23	0.247 <sup>*1,2</sup>	0.27	0.276	0.045	0.038
PGI1	-0.01	-0.00	-0.00	-0.00	0.012	0.003
PGI2	0.07	0.079	0.47	0.504 <sup>*1,2</sup>	0.438	0.461 <sup>*1,2</sup>
Promedio	0.109	0.118	0.253	0.267	0.162	0.169 <sup>*1,2</sup>
Error estándar		0.052		0.065		0.065
Intervalo de confianza		(0.022 - 0.214)		(0.142 - 0.385)		(0.059 - 0.300)

<sup>\*1</sup> valor significativo  $p = 0.005$  <sup>\*2</sup> valor significativo  $p = 0.0005$ . El error estándar se obtuvo mediante Jackknife en todos los loci y los intervalos de confianza al 95% se calcularon por medio de bootstrap en todos los loci.

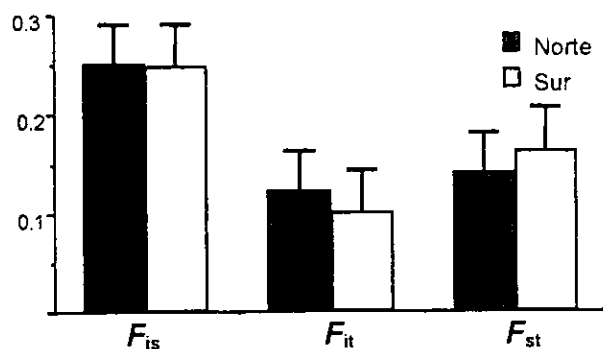


Fig. 5 Estadísticos  $F$  para el Norte y Sur del Desierto Sonorense, graficados con el error estándar

### Tasa de entrecruzamiento

De acuerdo con la fórmula para obtener la tasa de entrecruzamiento en el equilibrio.  $t = 1-f/1+f$  (Haldane 1924), y suponiendo que la única fuente de endogamia sea la autofertilización, utilizando el valor observado de  $F_{is}$  como  $f$ , se estimó  $t$  para cada loci (Tabla 7).

Tabla 7. Tasa de entrecruzamiento por locus

<i>Locus</i>	<i>f</i>	<i>t</i>
FES1	0.298	0.540
G6P1	0.074	0.862
ACP1	0.374	0.455
ACP2	-0.079	1.171
APX1	0.037	0.928
SKD1	-0.076	1.164
GOT3	0.216	0.664
LAP1	0.247	0.603
PGI1	-0.006	1.012
PGI2	0.079	0.853
Prom.	0.116	0.825

El valor promedio fue de  $t = 0.825$ . Solo si consideramos que la única fuente de endogamia sea la autofecundación. A pesar de que se considera a *B. hindsiana* como una especie dioica, no se descarta la autocompatibilidad. Este estimado permite comparar tasas de entrecruza con otras especies del genero *Bursera* y considerar otras posibles fuentes de endogamia, como la subdivisión local, cruza entre consanguíneos, etc.

### Distancia e Identidad genética

La menor distancia genética se presenta entre poblaciones de San Ignacio y El Arco, ambas en Baja California, con un valor de 0.010, que también coincide con

la menor distancia geográfica, mientras que la mayor distancia genética se da entre las poblaciones de Buenaventura y Bahía de los Angeles, también en Baja California, con un valor 0.245 (Tabla 8).

La población de Bahía de los Angeles presenta, en promedio, la mayor distancia y menor identidad genética con todas las demás poblaciones, esto es evidente en el fenograma realizado mediante el algoritmo UPGMA (Fig. 6).

En el fenograma se forman dos grupos, en el primero se agrupan las dos poblaciones de Sonora junto a dos poblaciones de la costa de Baja California Sur, y el segundo grupo conjunta tres poblaciones de Baja California Norte y una de B. C. S., dejando como la población más diferenciada a Bahía de los Angeles, que geográficamente aparece más aislada. Este resultado sugiere que las poblaciones de Sonora tienen, posiblemente, un origen común con las poblaciones ancestrales que dieron origen a poblaciones como San Bartolo y Buenaventura.

Por otra parte, se realizó un fenograma con el método de Neighbor-Joining (Nei y Saitou 1987), que utiliza el consenso de las distancias genéticas obtenidas mediante el bootstrap sobre las frecuencias alélicas, en este caso, con 1000 repeticiones, los resultados son consistentes con los obtenidos por UPGMA, y solo se obtuvieron diferencias significativas en uno de los dos grupos, para las poblaciones de Sonora no varía la relación filogenética con las poblaciones de San Bartolo y Buenaventura, pero para el segundo grupo es la población de San Ignacio que se muestra como la población más diferenciada y Bahía de los Angeles se acerca a la población de San Felipe, (Fig. 7)



Tabla 8. Distancias e identidades genéticas entre poblaciones de *B. hindsiiana*

Población	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1 Punta Chueca	■	0.036	0.139	0.111	0.136	0.060	0.069	0.088	0.196
2 Las Cuevitas	0.965	■	0.066	0.042	0.047	0.073	0.095	0.041	0.130
3 El Arco	0.871	0.936	■	0.010	0.032	0.110	0.106	0.011	0.155
4 San Ignacio	0.895	0.959	0.991	■	0.019	0.092	0.092	0.014	0.138
5 San Felipe	0.873	0.954	0.968	0.981	■	0.134	0.131	0.028	0.113
6 Buenaventura	0.942	0.930	0.896	0.912	0.874	■	0.012	0.088	0.245
7 San Bartolo	0.933	0.910	0.900	0.912	0.877	0.988	■	0.091	0.227
8 La Paz	0.915	0.960	0.990	0.986	0.972	0.915	0.913	■	0.132
9 B. Angeles	0.822	0.878	0.857	0.871	0.893	0.783	0.797	0.877	■

Distancia genética promedio 0.092

Identidad genética promedio 0.914

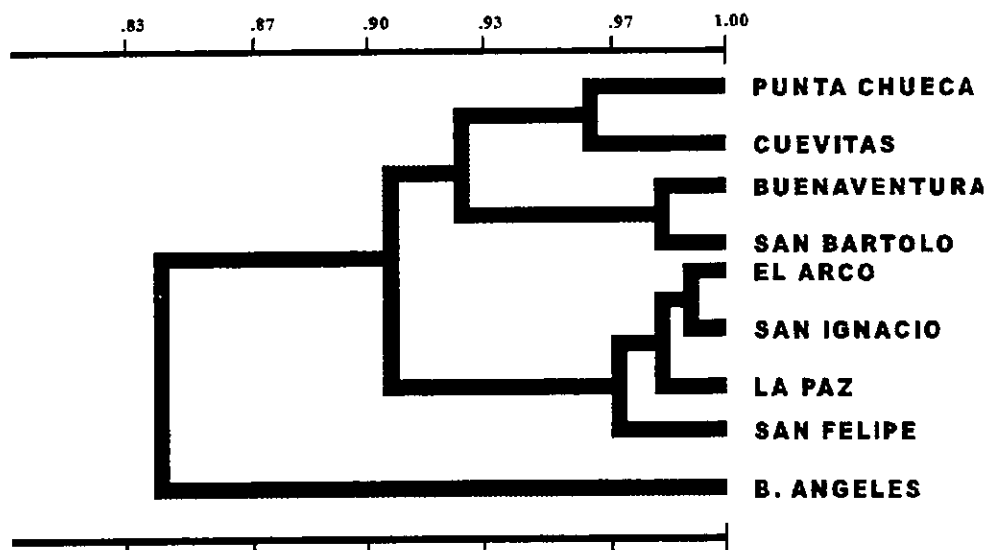


Figura 6. Fenograma de poblaciones de *B. hindsiiana* realizado con las identidades genéticas por el método del promedio aritmético no ponderado grupo-par (UPGMA)

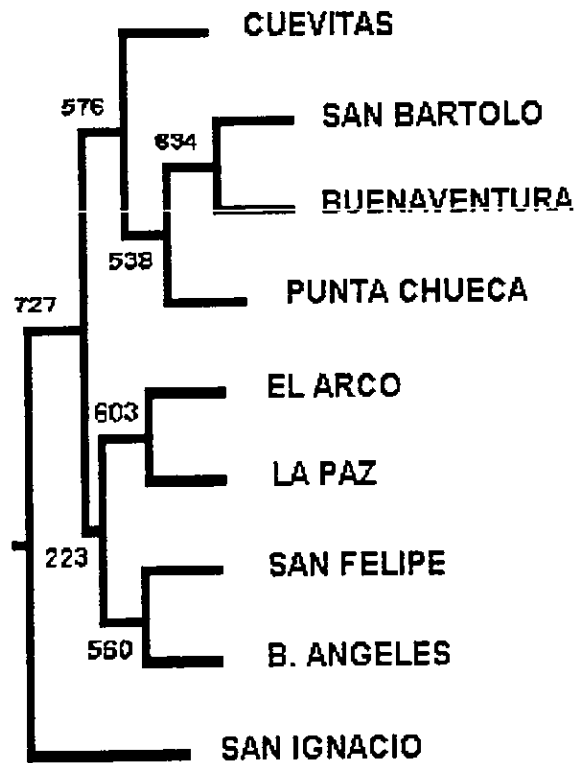


Figura 7. Fenograma realizado por el método de Neighbor-joinin, utilizando el consenso de distancias genéticas en 1000 repeticiones

### Indicadores de Flujo Génico

El número promedio de individuos migrantes,  $Nm$ , para todas las poblaciones calculado a partir de  $\theta$  (Weir y Cockerham 1984) fue de 2.38. Hubo valores entre pares de poblaciones de hasta 10.62, como en el caso de San Ignacio y El Arco. Por el contrario, entre Bahía de los Angeles y Buenaventura el estimado fue de 0.473 a pesar de su cercanía geográfica. En resumen, 23 pares de 36 posibles tuvieron valores mayores que 1, indicando un elevado flujo génico (Tabla 9).

Tabla 9. Distancias geográficas en Km. arriba de la diagonal y número de migrantes debajo de la diagonal.

Población	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1 Punta Chueca	██████	108	175	200	359	263	638	564	144
2 Las Cuevitas	3.073	██████	228	285	262	364	748	665	142
3 El Arco	0.766	1.652	██████	98	379	217	603	530	109
4 San Ignacio	1.006	2.739	10.69	██████	472	120	501	422	196
5 San Felipe	0.897	2.645	3.429	6.191	██████	581	970	903	279
6 Buenaventura	1.658	1.459	0.901	1.132	0.854	██████	385	310	304
7 San Bartolo	1.412	1.118	0.919	1.117	0.862	7.355	██████	80	689
8 La Paz	1.226	2.784	9.568	7.84	4.144	1.159	1.106	██████	613
9 B. Angeles	0.610	0.958	0.738	0.877	1.136	0.473	0.498	0.897	██████

Distancia geográfica promedio expresado en Km. 386.28  
Nm para  $f$  promedio = 2.38

Para evaluar si existe aislamiento por distancia, se obtuvo  $\hat{M}$ .

Al graficar  $\hat{M}$  obtuvimos una pendiente muy pequeña de 0.0014, indicando que no hay relación entre distancia genética y distancia geográfica.

Estos resultados fueron corroborados con la prueba de Mantel (Sokal y Rohlf 1995), al correlacionar las matrices de distancias genéticas y geográficas; el estimado del estadístico Z después de 1000 permutaciones es de:

$$Z = 1233.9817$$

El estimado para la correlación entre matrices es de:

$$r = -0.0429$$

Y la probabilidad es de:  $p = 0.4645$  (ns)

Por lo que no existe una correlación entre las distancia geográficas y las distancias genéticas. El patrón de flujo génico en *B. hindiana* es complejo y podría ser resultado de la historia de las poblaciones y no necesariamente de la distancia geográfica.

## Discusión

Se encontraron altos índices de variación genética en las poblaciones de *B. hindsiana*, con un 90.9 % de loci polimórficos, una heterocigosis observada de 0.262, una esperada de 0.297, alta diferenciación, con un estimado del 16 % de la variación total entre las poblaciones, el resto de la variación está repartida en todas las poblaciones, los coeficientes de endogamia fueron relativamente bajos ( $f = 0.118$  y  $F = 0.267$ ). Finalmente, se detectó alto flujo génico y una ausencia de aislamiento geográfico. El índice de fijación en promedio fue de 0.106. Para todos los loci no fue significativamente diferente de cero, lo que muestra que las poblaciones de *B. hindsiana* se encuentran en equilibrio de Hardy-Weinberg.

## Variabilidad genética

El promedio de loci polimórficos ( $P$ ), el promedio de alelos por locus ( $A$ ), y el promedio de Heterocigosis esperada en equilibrio Hardy-Weinberg ( $H$ ), se encuentran cercanos a *B. microphylla* y a *B. cuneata*. (Tabla 9). El valor promedio estimado para todas las poblaciones de *B. hindsiana* es de  $H_e = 0.297$ , mientras que para *B. cuneata* es de  $H_e = 0.299$  y para *B. microphylla* el valor estimado es de  $H_e = 0.183$ . Estos valores se ubican cerca de los estimados para plantas leñosas perennes ( $H = 0.283$ ), y de los estimados para plantas polinizadas por insectos ( $H = 0.211$ ), (Hamrick et al. 1992).

El valor estimado para la diversidad genética entre poblaciones en *B. hindsiana* (0.169) también se encuentra cercano a los reportados para plantas dicotiledoneas con entrecruzamiento (0.184) y con plantas de entrecruza y de distribución restringida (0.169) (Hamrick y Godt 1996).

## Estructura genética

El valor estimado de diferenciación genética fue de 0.169, la endogamia local fue de  $f = 0.118$  y la endogamia global fue  $F = 0.267$ , lo que indica que las

poblaciones están estructuradas. Es decir, la composición genética entre las poblaciones varía en un 16.2 %. Este valor está muy cercano al valor promedio estimado para especies cercanas, con historias de vida semejante, como *B. microphylla* 0.178 (Hernandez, 1999) y *B. cuneata* 0.139 (Del Valle 1996). Estos valores también se encuentran cerca de los reportados para plantas leñosas con distribución regional (Hamrick et al. 1992).

**Tabla 10. Valores de variación genética en especies del género *Bursera*. *L* es el número de loci polimórficos, *P* es el porcentaje de loci polimórficos, *A* es promedio de alelos por locus, *n* es el número de poblaciones y *H* es el promedio de la Heterocigosis esperada en Hardy-Weinberg**

especie	<i>L</i>	<i>P</i>	<i>A</i>	<i>n</i>	<i>H</i>	Referencia
<i>B. cuneata</i>	5	71.4	2.1	3	0.287	Del Valle 1996
<i>B. microphylla</i>	6	51.8	1.83	14	0.183	Hernández 1999
<i>B. hindsiana</i>	10	90.9	2.35	9	0.297	Este estudio

*B. hindsiana* es una especie dioica, entomófila, por lo que el sistema de apareamiento es el de fecundación cruzada. Esta característica reproductiva puede ser la principal causante de los niveles de variación encontrados; pues en general, se encuentra más variación en especies de entrecruza que en especies con autofecundación (Karron 1989; Hamrick y Godt 1998).

Los niveles de heterocigosis encontrados apoyan la aseveración de que el sistema de cruzamiento juega un papel importante en el alto nivel de variación encontrado en *B. hindsiana*.

La única población con una heterocigosis observada mayor que la esperada es Bahía de los Angeles. El alto nivel de heterocigosis encontrados no se relaciona con aislamiento geográfico, pues no existe este patrón y los valores de *Nm* son mayores que uno, por lo que una posible explicación de este comportamiento sea que los heterocigotos sean favorecidos por la selección natural.

## Endogamia

El valor estimado para la endogamia en *Bursera hindsiana* fue de  $f = 0.118$ , muy por debajo de *B. cuneata*, con 0.251 y de *B. microphylla*, con 0.387. Sin embargo este estimado es alto, pues la mayoría de especies del género *Bursera* se reportan como dioicas (Rzedowski y Kruse 1979). Este resultado puede deberse no tanto a la autofecundación, sino al apareamiento de individuos consanguíneos. En este sentido, si las semillas o el polen migran a tasas bajas, se propicia la cruce entre parientes y por ello el coeficiente de endogamia es mayor al que predice la tasa de entrecruzamiento. Al calcular en valor promedio de la tasa de entrecruzamiento en *B. hindsiana*, el resultado fue de  $t = 0.825$ . Este valor es alto en comparación al obtenido en *Bursera cuneata* (Del Valle 1996) cuyo valor fue de 0.598. En *B. microphylla* el valor obtenido fue de  $t = 0.441$ . La diferencia es más notable comparado a una especie como *Rhizophora mangle* con un elevado índice de endogamia, cuya  $t$  es = 0.37, (Nuñez-Farfán et al. 1996).

El sistema de apareamiento puede sufrir modificaciones importantes como respuesta al ambiente. Observaciones recientes sugieren la existencia de variaciones en los sistemas de cruzamiento para el género *Bursera*, sobre todo a nivel de especies. Se han encontrado individuos de *B. hindsiana* en poblaciones de Punta Chueca y Buenaventura aparentemente ginodioicas, esto es, individuos monoicos e individuos femeninos (F. Molina, comunicación personal). Esta modificación en el sistema de apareamiento pudiera ser causante del valor de endogamia, aunque la baja densidad de individuos reproductivos también promueve la cruce entre parientes al disminuir el tamaño efectivo de las poblaciones. En el caso de *B. microphylla*, se sugiere una posibilidad más compleja, la reproducción clonal o agamospérmica (Hernández 1999).

## Aislamiento por distancia

No existe un patrón de aislamiento por distancia; las poblaciones de *B. hindsiana* no se han diferenciado fuertemente. El flujo genético está actuando como fuerza

homogeizadora, a pesar de que el Golfo de California se considera una importante barrera geográfica. Esto hace suponer la existencia de un patrón más complejo, resultado de una migración reciente conjugado con otros eventos geológicos y climáticos.

El desplazamiento de la península y la consecuente formación del Golfo de California, es un evento de suma importancia y es referencia obligada para entender el origen de la actual distribución de *B. hindsiana*. Sin embargo, es necesario considerar también eventos igual de significativos, como el cambio climático ocurrido en el Holoceno y la rápida elevación de la temperatura que dio origen a la condición climática actual de la zona de estudio (Van Devender, 1990. Peñalba y Van Devender, 1998). Ante este marco, es posible que la presencia de *B. hindsiana* en el norte de la península y de Sonora sea reciente. Sin embargo es conveniente tener información genética de las poblaciones ubicadas en las Islas del Golfo de California, pues de esta manera, se completaría el mosaico genético para la especie.

### **Relación entre poblaciones.**

Los fenogramas contruidos por medio de las identidades genética y el consenso de las distancias aleatorizadas muestran una similitud del 83% aproximadamente entre toda las poblaciones. Ambos fenogramas, tanto por el método UPGMA como por el método de Neighbor-joining, son consistentes y agrupan, en un cluster, a las poblaciones de Sonora con dos poblaciones de Baja California Sur, con una identidad del 92 %. Es probable que la divergencia entre poblaciones de *B. hindsiana*, a partir de una población ancestral haya ocurrido hace poco tiempo y que a su vez, la expansión de su rango de distribución también sea reciente.

En los últimos 20 mil años ha habido fluctuaciones climáticas y el tipo de vegetación en la zona también a cambiado debido a los periodos glaciares e interglaciares. Este tipo de fluctuación está documentado para regiones como Cataviña y el desierto del Vizcaino, donde se sucedieron secuencias similares de

vegetación como pino-junipero, encinos-bosque abierto y chaparral, junipero-encino, y chaparral-matorral xerófilo (Van Devender 1997). En estas fluctuaciones, es probable que especies venidas de ambientes tropicales de selva baja, como *B. hindsiana* se hayan retraído hacia zonas más bajas que se constituyeron en refugios, donde coinciden en el registro fósil con especies como pinos encinos y cipreses (Peñalba y Van Devender 1998).

Con los resultados obtenidos en este estudio no es posible definir el origen de las poblaciones con claridad. Así, en este sentido, las hipótesis planteadas no concuerdan del todo con los resultados mostrados, podría ser que ambas hipótesis se complementen en eventos que se sucedieron, primero la migración al norte por expansión de la especie en ambos lados del Golfo de California y posteriormente, la migración diferencial a través de las islas. De igual forma, el efecto homogeneizador del elevado flujo génico puede estar encubriendo la diferenciación entre poblaciones de la península y de Sonora.

Se puede diferir de la hipótesis clásica de Cody y colaboradores, pues no se aprecia un origen claro de la especie a partir de poblaciones de la península, en todo caso, la dispersión de *B. hindsiana* hacia el norte pudo ser en ambas regiones, tanto en la península ya formada como en el continente a partir de un ancestro común, como se ilustra en la hipótesis alternativa (B).

El uso de marcadores moleculares con una resolución más fina, a nivel de ADN, permitirían establecer con mayor exactitud los valores de similitud y divergencia entre las poblaciones peninsulares y continentales

Para esclarecer el origen de las poblaciones de *B. hindsiana* es necesario considerar a las especies hermanas *B. eppinata* y *B. cerasifolia* presentes en la península de Baja California en un estudio genético conjunto, hacer un ensayo biogeográfico y genético de estas especies con las especies cercanas en el continente, como *B. stenophylla* y *B. penicillata*.

El peculiar patrón de distribución de *B. hindsiana* es compartido por otras especies de diferentes familias, por ejemplo: *Ambrosia camphorata*, *A.*



*carduacea*, *A. chenopodiifolia*, *A. divaricata*, y *A. Magdalenae*. *Viguiera triangularis* y *V. laciniata* de la familia *asteraceae*. De la familia *Boraginaceae* tenemos a *Bouyeria sonora*, de la familia *Euphorbiaceae* está *Euphorbia californica*, *E. ceroderma*, *E. magdalenae*, *E. misera*, *E. tomentulosa*, y *E. xanti*. e la familia *Fouquieriaceae*, tenemos a *Fouquieria columnaris* y *F. diguetii*, de las *cactáceas* tenemos a *Stenocereus gummosus*, y *S. thurberi*. De las *leguminosas* tenemos a *Albizzia occidentalis* como un caso extremo, está presente en la porción más baja de la península y en Sinaloa (Turner et al. 1995)

La abundancia de ejemplos nos señala la importancia del evento de separación de la Península y del impacto sobre muchas especies que compartirían patrones de aislamiento genético y geográfico y sin duda resultaría interesante abordar un estudio biogeográfico con alguna de las especies arriba mencionadas.

## Conclusiones.

Los niveles de variación genética encontrados en las poblaciones de *B. hindsiana* son similares a los reportados para árboles dioicos con síndrome de polinización entomófila, (Hamrick et al. 1992), la heterocigosis esperada se encuentra dentro del rango de las especies dicotiledoneas con entrecruzamiento (Hamrick y Godt 1996).

La fracción de la variación genética repartida entre poblaciones es de 16.2 %, similar a los encontrados en plantas con características de vida semejantes. La diferenciación no está asociada intrínsecamente a factores geográficos, pues no se observa un patrón de aislamiento geográfico, aunque las poblaciones se encuentran en equilibrio entre deriva y flujo génico, el valor de  $Nm$  es alto, lo que podría romper el aislamiento, también puede deberse a la expansión reciente.

Los valores de los índices de fijación en todas las poblaciones no son diferentes a cero, lo que indica que se encuentran en equilibrio Hardy-Weinberg. Los valores de  $f$  indican la existencia relativamente alta de endogamia, que debiera ser por la cruce entre parientes como resultado de los tamaños efectivos de población.

La colonización de la Península de Baja California y de la zona más árida del desierto Sonorense pudo haberse dado en dos eventos complementarios, primero, la expansión hacia el norte, y después hacia las islas y el contacto entre las poblaciones peninsulares y continentales.

## Literatura citada

- Alvarez-Buylla, E. y Garay, A. A. 1994. Population-genetic structure of *Cecropia obtusifolia*, a tropical pioneer tree species. *Evolution* 48: 437-453
- Anderson, R. S. y Van Devender, T. R. 1995. Vegetation history and paleoclimates of the coastal lowlands of Sonora, México – Pollen records from packrat middens. *Journal of Arid Environments* 30: 295-306
- Arduino, P., Cianchi, R., Rossi W., Corrias B. y Bullini L. 1995. Genetic variation in *Orchis papilionacea* (Orchidaceae) from Central Mediterranean region: Taxonomic inferences at the intraspecific level. *Plant Systematics and Evolution* 194: 9-23
- Avise, J. C. 1994. Molecular markers, natural history and evolution. Chapman & Hall, New York.
- Bates, J. M. 1992. Frugivory on *Bursera microphylla* (Burseraceae) by wintering gray vireos (*Vireo vicinior*, Vireonidae) in the coastal desert of Sonora, México. *The Southwestern Naturalist* 37 (3): 252-258
- Becerra, J. X. y Venable, D. L. 1999. Nuclear ribosomal DNA phylogeny and ITS implication for evolutionary trends in mexican *Bursera* (Burseraceae). *American Journal of Botany* 86 (7): 1047-1057
- Bermingham, E. y Lessios H. A.. 1993. Rate variation of protein and mitochondrial DNA evolution as revealed by sea urchins separated by the Isthmus of Panama. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90: 2734-2738
- Brandegeee, T. S. 1891. Flora of the Cape Region, of Baja California. *Proceedings of the California Academy of Sciences Ser. 2* : 121-122

Chase, M. R., Boshier, D. H. y Bawa, K. S. 1995. Population genetics of *Cordia alliodora* (Boraginaceae), a neotropical tree. 1. Genetic variation in Natural Populations. *American Journal of Botany* 82 (4) 468-475

Cheliak, W. M. y Pitel, J. A. 1984. Techniques for starch gel electrophoresis of enzymes from forest tree species. Information report PI-X-42. Petawa National Forestry Institute.

Cody, L. M., Morán, R. y Thompson, H. 1983 The Plants. En T. J. Case y M. L. Cody (eds.). *Island Biogeography in the sea of Cortez*. University of California Press. Berkeley, California

Comisión Nacional del Agua y Servicio Meteorológico Nacional en internet: Web: <http://www.cna.gob.mx/productos/map-lluv/lamina.html> 1999.

Del Valle, C. M. 1996. Estructura genética de poblaciones de *Bursera cuneata* (Burseraceae). Tesis licenciatura, Facultad de Ciencias, UNAM.

Eguiarte, L.E. 1986. Una guía para principiantes a la genética de poblaciones. pp. 41-56 *In* Olea Franco, A. (ed.). *Polémicas contemporáneas en evolución*. A.G.T. Editores, México, D.F.

Eguiarte, L.E. 1990. Genética de poblaciones de *Astrocaryum mexicanum* Liebm. en Los Tuxtlas, Veracruz. Tesis de doctorado. Centro de Ecología/UACPyP de CCH, UNAM, México.

Eguiarte, L.E., Pérez-Nasser N. y Piñero D. 1992. Genetic structure, outcrossing rate and heterosis in *Astrocaryum mexicanum* (tropical palm); implications for evolution and conservation. *Heredity* 68: 217-228.

Eguiarte, L. E., Búrquez, A., Rodríguez, J., Martínez-Ramos, M., Sarukhán, J. y Piñero, D. 1993. Direct and indirect estimates of neighborhood and effective population size in a tropical palm, *Astrocaryum mexicanum*. *Evolution* 47: 75-87.

Ellstrand, N.C. y Elam, D.R. 1993. Population genetic consequences of small population size. implications for plant conservation. *Annual Review of Ecology and Systematics* 24:217-242.

García, B. J. 1996. Synthesis of the tectonic evolution and sedimentary history of the Gulf of California, Mexico. En Clark K. F. y Hoffer, J. M. (eds.) A geological traverse through parts of northwestern Mexico. University of Texas at El Paso, Texas

García, E. 1973. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Koppen Instituto de Geografía, UNAM. México.

Godt, M. J. W. y Hamrick, J. L.. 1991. Genetic variation in *Lathyrus latifolius* (Leguminosae). *American Journal of Botany*. 78: 1163-1171.

Hakim-Elahi, A. 1976. Temporal changes in the population structure of the slender wild oak (*Avena barbata*) as mesure by allozyme plimorphism. Ph. D. Dissertation, University of California, Davis.

Haldane, J. B. S. 1924. A mathematical theory of natural and artificial selection. Part II. *Trans. Camb. Phil. Soc.* 23: 158-163.

Hamrick, J.L., Godt, M. J. W., Murawski, D. A. y Loveless, M. D. 1991. Correlations between species traits and allozyme diversity: implications for conservation biology. En Falk DA, Holsinger KE (eds), Genetics and conservation of rare plants. Oxford Univ Press, New York.

- Hamrick, J. L., Godt, M. J. W. y Sherman-Broyles, S. L. 1992. Factors influencing levels of genetic diversity in woody plant species. *New Forests* 6: 95-124 pp.
- Hamrick, J. L. y Godt, M. J. 1996. Effects of life history traits on genetic diversity in plant species. *Proc. Roy. Soc. London. B.* **351**, 1291-1298
- Hamrick, J. L. y Godt, M. J. W. 1998. Conservation genetics of endemic plant species. En John C. Avise and J. L. Hamrick (eds.) *Conservation genetics* Chapman and Hall. U.S.A.
- Hartl, D. L. y Clark, A. G. 1989. Principles of population genetics. Second edition Sinauer, Sunderland, Mass.
- Harrison, S. y Hastings, A. 1996. Genetic consequences of metapopulation structure. *Trends in Ecol. And Evol* 11: 180-183.
- Hernández, L. A. 1999. Consecuencias genéticas y evolutivas del surgimiento del Golfo de California en poblaciones de *Bursera microphylla* (*Burseraceae*) en el desierto Sonorense. Tesis de Licenciatura Biología, Facultad de Ciencias, UNAM.
- Hollingsworth, P. M; Gornall, R. J. y Preston, C. D. 1995. Genetic variability in British populations of *Potamogeton coloratus* (*Potamogetonaceae*). *Plant Systematics and Evolution* 197: 71-85.
- Hossaert-McKey, M., Valero, M., Magda, D., Jarry, M., Cugen, J. y Vernet, P. 1996. The evolving genetic history of a population of *Lathyrus sylvestris*: evidence from temporal and spatial structure. *Evolution* 50: 1808-1821.
- Johnson M. B. 1992. The genus *Bursera* (*Burseraceae*) in Sonora, México and Arizona, U.S.A. *Desert Plants* (10) 3

Johnston, I. M. 1924. Expedition of the California Academy of Sciences to the Gulf of California in 1921. *Proceedings of the California Academy of Sciences Fourth series* (12) 30: 951-1218

Johnston, I. M. 1931. The flora of Revillagigedo Islands  
*Proceedings of the California Academy of Sciences Fourth series.*  
(20) 2: 9-104

Karl, S. A. y Avise J. C.. 1992. Balancing selection at allozyme loci in oysters: implications from nuclear RFLPs. *Science* 256: 100-102.

Karron, J. D. 1991. Patterns of genetic variation and breeding systems in rare plant species. En Falk D.A.y Holsinger K.E. (eds). *Genetics and conservation of rare plants.* Oxford Univ Press, New York. pp 87-98.

Kephart, S. R. 1990. Starch gel electrophoresis of plant isozymes: a comparative analysis of techniques. *American Journal of Botany* 77: 693-712

Kohlmann, B. y Sánchez-Colón, S. 1984. Estudio Aerográfico del Género *Bursera* Jacq. ex L. (*Burseraceae*) en México: Una síntesis de métodos. Instituto de Ecología UNAM. México.

Larson R. L. 1968. Gulf of California: A Result of Ocean-Floor Spreading and transform Faulting. *Science* (161)

Lindsay, G. E. 1983. History of Scientific Exploration in the Sea of Cortéz. En *Island Biogeography en the sea of Cortéz.* En Ted J. Case y Martin L. Cody (eds.) University of California Press. Berkeley California

Linhart, T. Y. y Grant M. C. 1996. Evolutionary significance of local genetic differentiation in plants. *Annual Review of Ecology and Systematics* 27: 237-277

- Lonsdale, P. 1989. Geology and tectonic history of the Gulf of California. The Geology of North America. The Eastern Pacific Ocean and Hawaii. The Geological Society Of America, Chapter 26.
- Manly, B. 1992. The design and analysis of research studies. Cambridge United Press, Cambridge U.K. pp. 298-311.
- McCauley, D.E. 1991. Genetic consequences of local population extinction and recolonization. *Trends in Ecol. And Evol.* 6: 5-8.
- McVaugh, R. y Rzedowsky, J. 1965. Synopsis of the genus *Bursera* L. in western México, with notes on the material of *Bursera* collected by Sessé & Mociño *Kew Bulletin* 18: 317-381
- Miller, M.P. 1997. Tools for population genetic analysis (TFPGA) 1.3: A Windows program for the analysis of allozyme and molecular population genetic data. Software distributed by author.
- Mooney H. A. y Emboden W. A. 1968. The relationship of triterpene composition, morphology, and distribution of population of *Bursera microphylla* (Burseraceae). *Brittonia* 20 44-51.
- Moore, G. D. y Buffington, E. C. 1968. Transform Faulting and Growth of the Gulf of California Since the Late Pliocene... *Science* 161
- Nei, N. 1972. Genetic distance between populations. *American Naturalist* 106: 283-292.
- Nilsen, E. T., Sharifi, M. R., Rundel, I. N. y Ehleringer. 1990. Water relations of trees in north-central Baja California. *Oecologia* 82: 299-303.



Núñez-Farfán, J., Eguiarte, F. L., Dirzo, R. y Domínguez C. A. 1996. Estudio genético de las poblaciones de *Rhizophora mangle* en México. Informe final del proyecto CONABIO No. B214.

Otte, D y Endler, J.A. 1989. Speciation and its consequences. Sinauer, Sunderland, Mass.

Peñalba, M. C. y Van Devender, T. R. 1998 Cambios de vegetación y clima en Baja California, México durante los últimos 20,000 años. *Geología del Noreste* 2: 21-23.

Rice, W.R. y Hoestert, E. E. 1993. Laboratory experiments on speciation: what have we learned in 40 years? *Evolution* 47: 1637-1653.

Rzedowski, J. 1978. Vegetación de México. Edit. Limusa México

Rzedowski, J., McVaugh, R. 1966. Algunas tendencias evolutivas en *Bursera* (Burseraceae). *Taxon* 28: 103-116

Schaal B. A. y Levin D. A. 1976. The demographic genetics of *Liatris cylindracea* Mich. (Compositae). *The American Naturalist* 110: 972

Shreve, F. y Wiggins, I. L. 1964. Vegetation and Flora of the Sonoran Desert. vol. 1 Stanford University Press. Stanford, California

Slatkin, M. 1985. Rare alleles as indicators of gene flow. *Evolution* 39: 53-65.

Slatkin, M. 1987. Gene flow and the geographic structure of natural populations. *Science* 236: 787-792.

Slatkin, M. 1993. Isolation by distance in equilibrium and non-equilibrium populations. *Evolution* 47: 264-279.

- Slatkin, M. 1994. Gene flow and population structure. En L. Real (ed.) Ecological genetics. Princeton University Press, Princeton, N.J. pp. 3-17
- Sokal, R. R. y Rohlf, F. J. 1995. Biometry. 3era. Ed., W. H. Freeman. New York.
- Soltis, D. E. y Soltis, P. S. 1989. Isozyme in plant biology. Advances in Plant Science, series. Vol 4 U.S.A.
- Stubber, C. W., Wendel, J. F., Goodman. y Smith, J. S. 1988. Techniques and scoring procedures for starch gel electrophoresis of enzymes from maize (*Zea mays* L.). Technical bulletin 286. North Carolina Agricultural Research Service. N. C. State University, Raleigh N. C.
- Toledo, C.A. 1982. El género *Bursera* (*Burseraceae*) en el estado de Guerrero (México). Tesis Profesional, licenciatura. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México.
- Trainer, M. T. y Will T. C. 1984. Avian methods of feeding on *Bursera simaruba* (*Burseraceae*) Fruits in Panama. *Auk* 101: 193-195
- Turner, R. M., Bowers, J. E. y Burgess, T. L. 1995. Sonoran Desert Plants: An Ecological Atlas. The University of Arizona Press. Tucson, Arizona, E.U.
- Vallejos, E. 1983. Enzyme activity staining. En Tanksley S. D. y Orton T. (eds.) Isozyme in plants genetics and Breeding. Elsevier, Amsterdam
- Van Devender, T. R. 1990. Late quaternary vegetation and climate of the Sonoran Desert, United States and Mexico. En Packrats Middens: The last 40.000 years of biotic change.. Julio L. Betancourt, Thomas R. Van Devender y Paul S. Martin (eds.) The University of Arizona Press. Tucson.

- Van Devender, T. R. y Hall, E. 1993. Fossil arthropods from the Sierra Bacha, Sonora, México. *Ecologica* 3: 1-12
- Weir, B. S. Y Cockerham, C. C. 1984. Estimating F-statistic for the analysis of population structure. *Evolution* 38: 1358-1370
- Weller, S. G., Sakai A. K. y Straub C. 1996. Allozyme diversity and genetic identity in *Schiedea* and *Alsinidendron* (*Caryophyllaceae: Alsinoideae*) in the Hawaiian islands. *Evolution* 50: 23-34.
- Wendel, J. F. y Weeden, N. F. 1989. Visualitation and interpretation of plant isozymes. En Soltis y Soltis (eds.) *Isozymes in Plant Biology*. Discorides Press. Portland, Oregon. Pp. 5-45
- Werth, C. R. 1985. Implementing an isozyme laboratory a field station. *Virg. Jour. Sci.* 36: 53-77
- Wiggins, I. L. 1980. *Flora of Baja California*. Stanforn University Press. California E.U.
- Wright, S. 1978. *Evolution and genetics of populations*. vol. 4, Chicago University Press, Chicago, Ill.
- Wright, S. 1951. The genetical structure of populations *Ann. Eugen.* 15: 323-354.
- Wyatt, R. 1989. A general protocol of starch gel electrophoresis.. (manuscrito)
- Yeh, F. H. y O'Malley, D. M. 1980. Enzyme variation in natural populations of Douglas-Fir, *Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco from British Columbia. 1. Genetics variation patterns in coastal populations. *Silvae Genetica* 29: 83-92.

## **Acerca de la Técnica de electroforesis**

La electroforesis en gel de almidón de proteínas en plantas es una técnica útil para detectar los niveles de variación génica dentro y entre poblaciones mediante la interpretación genética de los patrones de bandeo enzimático y ha sido la base de numerosos estudios evolutivos, en particular de la genética de poblaciones (Kephart 1990). Las isoenzimas son formas génicas de una enzima que se interpreta como distintos loci, presentes en el individuo. En su mayoría las aloenzimas son selectivamente neutras y se utilizan como marcadores hereditarios para cuantificar las frecuencias alélicas y genotípicas en la población y son los estimadores básicos de la composición genética de una población.

En plantas estos marcadores se han utilizado para estudiar componentes de la selección natural, para hacer estudios taxonómicos y filogenéticos, analizar sistemas reproductivos, correlacionar parámetros genéticos de las poblaciones y de las especies con sus características de historia de vida, identificar y conservar variedades cultivadas y en riesgo de extinción, también ha servido para hacer patrones de variación genotípica.

Esta técnica utiliza enzimas que se obtienen de extractos de tejido animal y tejido vegetal, en plantas, los tejidos pueden ser hojas, flores o bien de algunas estructuras como ovarios, estigmas, anteras, o bien embriones (Cheliak y Pitel 1984). La aplicación del análisis de las isoenzimas para estos estudios requiere que los patrones de bandeo sean interpretados correctamente, la principal inferencia desde el punto de vista evolutivo en el uso de estos marcadores es que los cambios de movilidad de enzimas sometidos a un campo eléctrico reflejan cambios en la secuencia de aminoácidos, y como consecuencia cambios en los nucleótidos a nivel de ADN. Esto es, si difieren los patrones de bandeo entre individuos se infiere que estas diferencias tienen una base genética y por lo tanto son heredables. La expresión enzimática es codominante por lo que los individuos heterocigos pueden ser identificados en los zimogramas.

## Apéndice 1

## Actividad Enzimática en 6 Sistemas y su Resolución.

ENZIMAS	SISTEMA 2	SISTEMA R	SISTEMA D	MITTON	MORFOLINA	SISTEMA C	Resolución
	ACTIV.	ACTIV.	B. DEF. POLIM	ACTIV	ACTIV	BIEN	*****
MDH	POCO	POCO	B DEF. POLIM	POCO	ACTIV	ACTIV.	**
	POCO	POCO	B DEF	ACTIV.	REGULAR	BIEN	****
	NO	NO	ACTIV.	POCO	NO	BIEN	****
	ACTIV	POCO	POCO	NO	ACTIV.	ACTIV	****
MNR	NO	NO	ACTIV.	POCO	NO	ACTIV.	**
	NO	NO	BIEN	POCO	NO	BIEN	****
PGM	NO	NO	NO	NO	NO	NO	
	POCO	POCO	BIEN	BIEN	POCO	ACTIV.	**
CPX	NO	NO	NO	NO	NO	NO	
	ACTIV	ACTIV	ACTIV	ACTIV	ACTIV	ACTIV	****
ME	NO	NO	NO	NO	NO	NO	
EST	NO	NO	NO	NO	NO	ACTIV.	*
GLUDH	NO	NO	NO	NO	NO	NO	
NADHDH	NO	NO	NO	NO	NO	NO	
GDH	NO	NO	NO	NO	NO	NO	
IDH	NO	NO	ACTIV	NO	NO	ACTIV.	**
HEX	NO	NO	NO	NO	NO	NO	
	NO	NO	BIEN	NO	NO	NO	****
	NO	NO	BIEN	NO	NO	POCO	*****

5 asteriscos excelente actividad, sin asteriscos nula actividad.  
En asteriscos las enzima utilizadas en el presente estudio

**Apéndice 2. Frecuencias alélicas para todas las poblaciones**

Locus	PC	CV	AR	IG	SF	BV	SB	LP	BA	X <sup>2</sup>	P
<b>FES1</b>											
1	.810	.790	.600	.790	.820	.870	.790	.720	.790	26.89	0.00074
2	.190	.210	.400	.210	.180	.130	.210	.280	.210		
<b>G6P1</b>											
1	.890	.670	.070	.180	.260	.310	.260	.290	.650	280.90	0.00000
2	.110	.270	.850	.760	.540	.640	.680	.650	.350		
3	.000	.060	.080	.060	.200	.050	.060	.060	.000		
<b>ACP1</b>											
1	.750	.910	.840	.880	.960	.880	.970	.870	.940	37.35	0.00001
2	.250	.090	.160	.120	.040	.120	.030	.130	.060		
<b>ACP2</b>											
1	.090	.160	.150	.220	.370	.130	.160	.160	.300	40.52	0.39400
2	.910	.840	.850	.780	.630	.870	.840	.840	.700		
<b>APX1</b>											
1	.960	.960	.920	.920	.890	.940	.860	.920	.070	455.16	0.00000
2	.040	.040	.080	.080	.110	.060	.140	.080	.930		
<b>SKD1</b>											
1	.160	.200	.230	.210	.430	.120	.220	.120	.250	105.75	0.00000
2	.770	.590	.640	.600	.410	.850	.720	.820	.460		
3	.070	.210	.130	.190	.160	.030	.060	.060	.290		
<b>GOT3</b>											
1	.210	.360	.170	.110	.140	.460	.170	.100	.170	101.09	0.00000
2	.730	.500	.780	.650	.650	.470	.750	.790	.700		
3	.060	.140	.050	.240	.210	.070	.080	.110	.130		
<b>LAP1</b>											
1	.130	.010	.160	.110	.160	.050	.060	.180	.140	68.45	0.00000
2	.760	.760	.690	.810	.550	.780	.820	.540	.570		
3	.110	.230	.150	.080	.290	.170	.120	.280	.290		
<b>PGI1</b>											
1	.880	.950	.960	.870	.880	.930	.920	.930	.930	10.99	0.20190
2	.120	.050	.040	.130	.120	.070	.080	.070	.070		
<b>PGI2</b>											
1	.280	.250	.080	.140	.060	.050	.020	.120	.110	613.70	0.00000
2	.230	.630	.900	.830	.940	.140	.080	.820	.890		
3	.490	.120	.020	.030	.000	.810	.900	.060	.000		

\* La N para todos los loci es de 50

**Apéndice 3****SISTEMAS Y ENZIMAS****Buffer de extracción para *Abies***

(3/4 de buffer YO y 1/4 de buffer VEG II)

Buffer YO (Yeh y O'Malley 1980)  
 Buffer VGEII (Cheliak y Pitel 1984)

**BUFFER YO**

- \* 10 ml. de solución Tris-ácido cítrico (1.57 g. Trizma base, 0.83 g ácido cítrico, aforar a 100 ml. con H<sub>2</sub>O destilada y se ajusta el pH a 7.0)
  - \* 0.05 g de NADP
  - \* 0.05 g de NAD
  - \* 0.018 g de ácido ascórbico
  - \* 0.034 g de EDTA
  - \* 0.10 g de Albúmina sérica bovina
  - \* 0.33 ml. de 2-Mercaptoetanol
- Se afora a 100 ml. con H<sub>2</sub>O destilada

**BUFFER VEG II**

- \* 0.31 g de Acido Bórico
  - \* 2 ml. de Tergitol 15-S-9
  - \* 2 g de PEG 8000
  - \* 7 g de PVP 40
  - \* 1 g de PVP 360
  - \* 0.88 g de Acido ascórbico
  - \* 0.02 g de NAD
  - \* 0.1 g de Albúmina Sérica Bovina
  - \* 0.005 g de Pyridoxal 5 fosfato
  - \* 0.27 g de Sucrosa
  - \* 0.19 g de Cisteina-HCl
  - \* 0.66 ml. de 2-Mercaptoetanol
- Se afora a 100 ml. y se ajusta a pH 7.1 con NaOH

**SISTEMAS****SISTEMA C DE MAIZ (Stuber et al. 1988)****Buffer Trizma Base (pH 8.3)**

- |   |          |
|---|----------|
| * 0.05 M Trizma Base (T1503) -----          | 6.20 g   |
| * 0.007 M Ac. Cítrico (monohidratado) ----- | 1.50 g   |
| * H <sub>2</sub> O destilada ----- aforar a | 1000 ml. |

**Buffer del electrodo (pH 8.3)**

- |                                   |          |
|-----------------------------------|----------|
| * 0.19 M Ac. Bórico -----         | 11.875 g |
| * 0.04 M Hidróxido de Litio ----- | 1.60 g   |

Ajustar el pH a 8.3 con LiOH y correr a 225 volts. aprox. 6 hrs.

## Buffer del gel

- \* 9 partes del buffer Trizma base (pH 8.3)
- \* 1 parte del buffer del electrodo (pH 8.3)

SISTEMA D DE MAIZ (Stuber et al., 1988)  
Buffer del electrodo ( pH 6.5 )

- \* 0.065 M L-Histidina (H-8000) ----- 10.088 g
- \* 0.007 M Ac. Cítrico (monohidr.) ----- 1.50 g

Ajustar el pH a 6.5 con Ac. cítrico y Aforar a 1000 ml. con H<sub>2</sub>O destilada.

## Buffer del gel

- \* 1 parte el buffer del electrodo
- \* 3 partes de H<sub>2</sub>O destilada

Correr a 30 mA.

## ENZIMAS

PGI (Fosfoglucoasa isomerasa, E.C.5.3.1.9)  
Vallejos, 1983.

1 gel

Pesar :

- \* D-Fructuosa 6-fosfato, sal disódica ----- 15 mg

Añadir :

- \* 0.1M Tris-HCl pH 7.5 ----- 50 ml
- \* Glucosa 6-fosfato deshidrogenasa (10u/ml) ----- 3 ml
- \* 1M MgCl<sub>2</sub> ó al 10% ----- 1 ml
- \* TPN (=NADP) 1% ----- 1 ml
- \* MTT 1% ----- 1 ml
- \* PMS 1% ----- 0.5 ml

Incubar en la oscuridad a temperatura ambiente

LAP (Leucina aminopeptidasa, E.C.3.4.11.1)  
Werth, 1985.

1 gel

Pesar :

- \* 1) Fast Black K salt ----- 60 mg
- Disolverlo bien en 5 ml de H<sub>2</sub>O destilada justo antes de teñir

Añadir

- \* 0.2M Tris-maleato pH 5.2 ----- 50 ml



\* L-leucina  $\beta$ -naftilamida-HCl 2.5% ----- 2 ml

Incubar en la oscuridad a 37°C durante 30 min. y posteriormente añadir el Fast Black K salt ya disuelto. Dejar incubando en la oscuridad a 37°C hasta que aparezcan las bandas.

GOT (=A11; Glutamato oxaioacetato transaminasa, E.C.2.6.1.1)  
Wyatt, 1989.

1 gel

Pesar :

\* Pyridoxal 5-fosfato ----- 6 mg  
\* Fast Blue BB salt ----- 100 mg

Añadir :

\* 0.2M Tris-HCl pH 7.0 ----- 50 ml  
\* Sustrato GOT pH 7.0 ----- 6 ml

Incubar en la oscuridad a 37°C

APX (Peroxidasa anodica, E.C.1.11.1.7)  
Hakim-Elahi, 1976.

2 geles

Pesar :

\* 3-Amino-9-ethylcarbazole ----- 100 mg

Añadir :

\* Dimetilformamida ----- 5 ml  
\* H<sub>2</sub>O destilada ----- 90 ml  
\* Peróxido de Hidrógeno al 3% ----- 2 ml  
\* Cloruro de Calcio al 1% ----- 2 ml  
\* 1M Acetato de Sodio pH 5.0 ----- 5 ml

Incubar en la oscuridad a temperatura ambiente

G-6-PD (Gucosa-6-fosfato deshidrogenasa  
E.C. 1.1.1.49) Mod. de Soltis et al., 1983.

1 gel

Pesar:

\* Glucosa-6-fosfato, sal disódica ----- 80 mg

Añadir

\* 1 M Tris-HCl pH 8.0 ----- 10 ml  
\* H<sub>2</sub>O destilada ----- 40 ml  
\* MgCl<sub>2</sub> 1M ----- 1 ml  
\* TPN (=NADP) 1% ----- 1 ml  
\* MTT 1% ----- 1 ml  
\* PMS 1% ----- 0.5 ml

Incubar en la oscuridad a temperatura ambiente.

ACPH (Fosfatasa ácida, E.C. 3.1.3.2)  
Hakim-Elahi, 1976.

2 geles

Pesar :

\* Fast Garnet GBC salt ----- 70 mg

Añadir :

\* Buffer 1 M de NaAc (Acetato de sodio) pH 5.0 ----- 5 ml  
\* H<sub>2</sub>O destilada ----- 90 ml  
\* MgCl<sub>2</sub> 10% ----- 1 ml  
\* α-Naphthyl acid phosphate (Sodium salt) ----- 2 ml

incubar en la oscuridad a temperatura ambiente

SKD (Shikimato deshidrogenasa, E.C. 1.1.1.25)  
Mod. de Werth, 1985

1 gel

Pesar por separado:

1) Acido Shikimico ----- 50 mg  
2) Agar ----- 300 mg

Añadir :

1) 0.2 M Tris-HCl pH 8.0 ----- 30 ml  
\* TPN (NADP) 1% ----- 2 ml  
\* MTT 1% ----- 2 ml  
\* PMS 1% ----- 0.5 ml

2) H<sub>2</sub>O destilada ----- 50 ml

Calentar hasta que hierva y se disuelva bien el agar, entonces mezclar 1) y 2) incubar en la oscuridad a temperatura ambiente

FEST (Esterasa Fluorescente, E.C. 3.1.1)  
Wendel y Weeden, 1989.

1 gel

Solución A:

\* 50 μM NaAC pH 5.0 ----- 30 ml  
\* Agar ----- 300 mg

Solución B:

\* 50 μM NaAC pH 5.0 ----- 30 ml  
\* 4-Methylumbelliferyl acetato ----- 20 mg

Disuelva previamente el 4-Methylumbelliferyl en 3 ml. de acetona, caliente la sol A hasta que hierva, enfríe a 60° C, mezcle con la sol. B y obsérvese rápidamente bajo UV a 370 nm., difunde rápidamente.

RUB (Ribulosa 1-5 bifosfato carboxilasa (rubisco), E.C. 4.1.1.39)  
Wendel y Weeden 1989.

1 gel

Pesar :

\* 1) Naphtol BlueBlack (NBB) ----- 8 mg

Añadir :

\* 2) Acido Acético ----- 10 ml

\* Alcohol metílico ----- 40 ml

\* H<sub>2</sub>O destilada ----- 40 ml

Mezclar 1 con 2, agitar bien, incubar en la oscuridad a temperatura ambiente y cambiar la solución dos veces, no lavar.