

64  
2EJ



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

**CONSECUENCIAS GENETICAS Y EVOLUTIVAS DEL SURGIMIENTO  
DEL GOLFO DE CALIFORNIA EN POBLACIONES DE Bursera  
microphylla (Burseraceae) EN EL DESIERTO SONORENSE**

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:

ANTONIO HERNANDEZ LOPEZ

280283

DIRECTORES DE TESIS: DR. JUAN NUÑEZ FARFAN  
DR. FRANCISCO MOLINA FREANER



MEXICO, D.F.



FACULTAD DE CIENCIAS  
SECCION ESCOLAR

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



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: "Consecuencias genéticas y evolutivas del surgimiento del Golfo De California en poblaciones de *Bursera microphylla* (*Burseraceae*) en el Desierto Sonorense"

realizado por Antonio Hernández López

con número de cuenta 9455624-1 , 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 de Tesis

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

Propietario Dr. Luis Enrique Eguiarte Fruns

Suplente M. en C. Arturo Carlos II Becerra Bracho

Suplente Biol José Arturo Silva Montellano

*[Handwritten signature]*

*[Handwritten signature]*

*[Handwritten initials]*

*[Handwritten signature]*

*[Handwritten signature]*

Consejo Departamental de BIOLOGIA M. en C. Edna María Suárez Díaz

Me voy quedando en fragmentos  
en el abrazo, la voz  
estoy como amaneciendo  
como quedándome hoy,  
día de nube, día de sol,  
y sin embargo  
me voy

A mis Padres  
María Eugenia e Hilario  
con todo mi amor

La más grande gratitud  
a mis Tíos Juan y Lety

## Indice

### Agradecimientos

Resumen 1

### Introducción

Genética de poblaciones 2

- *Variación genética* 3

- *Estructura poblacional* 5

- *Cambios temporales de estructura y variabilidad genéticas* 7

El Golfo de California y el Desierto Sonorense 8

- *Estudios de genética poblacional en el Desierto Sonorense* 9

El género *Bursera* 10

- *Sistemas reproductivos en Bursera* 11

- *Estudios de genética poblacional en Bursera* 11

Distribución y origen de *B. microphylla*: la hipótesis de Mooney y Emboden 12

Objetivos e Hipótesis 15

Especie de estudio 16

Materiales y método 18

Resultados 26

Discusión 37

Conclusiones 50

Referencias 52

Apéndices 60

## **Agradecimientos**

Al Dr. Juan Núñez Farfán por la dirección de esta tesis y su apoyo constante durante la realización de la misma.

Muy especialmente al Dr. Francisco Molina Frenner (alias Pancho), también director de la tesis, por su asesoría, apoyo y amistad. La estancia en Hermosillo fue muy agradable en gran parte por su ayuda y hospitalidad, además de los tips para tomar el camión y no pasar dos horas dando vueltas, las comidas y cenas en su casa y por haberme hecho aficionado a cenar pinole con leche y azúcar.

Al Dr. Luis Eguiarte, M. en C. Arturo Silva y M. en C. Arturo Becerra por revisar la tesis y haberme orientado con sus comentarios y sugerencias.

A mis compañeros de laboratorio en Hermosillo, comenzando por Grethel Ramírez (alias "la Siqueiros"), por ser el mejor y más guapo técnico de laboratorio que he conocido. Sin su ayuda en la preparación de buffers, ordenando el laboratorio y limpiando mis destrozos, nada habría salido igual. Además siempre pude contar su gran mano amiga. A Clark principalmente por su compañía y conversaciones en el laboratorio, además del consuelo cuando nada salía y la ayuda con los geles. Y por alguno que otro truco con las recetas de tinción.

A Jesús Vargas (Chucho) por haberme iniciado en el arte de las electroforésis y por su ayuda en la colecta de material. También a los Dres. César Domínguez y Luis Eguiarte por la colecta en el campo.

A Clara Tinoco, también por su apoyo incondicional durante mi estancia en Hermosillo y por las deliciosas enchiladas de mole que tanto extraño. Acá no saben igual.

A mis padres, Hilario (el jefe) y María Eugenia (la jechu), no sólo por haberme apoyado en todas mis decisiones (como estudiar biología, por ejemplo), y durante mi carrera y trabajo de tesis, sino por haberles aprendido el entusiasmo y la fe para seguir adelante en cualquier situación. Gracias por haberme prestado su corazón y sus ojos y mostrarme el camino, y por haber sabido dejarme caminar con los míos. Esta tesis es toda para ustedes.

También a mis hermanos, por ser los más cercanos y amados de mis amigos, y por haber estado haciéndome el paro en todo momento. Va un abrazo a los cuatro, en cualquier orden y al mismo tiempo.

A mis abuelitos Max y Lupe, por sus consejos y apoyo, y también por ser mis abuelitos.

A mis tíos Juan y Lety, por haberme recibido un ratito, nomás mientras terminaba la carrera. Ya ven que no nada más me la pasaba cuidando "acosilas", también a ratos iba a la escuela. Gracias por todo lo que han hecho por mi, pues no sólo la tesis, sino la carrera no habrían sido posibles sin su apoyo. Y no se me olvidan los primos tampoco, aunque con

tanto ensayo y práctica musical ya no se si agradecerles. Gracias por haberme hecho sentir en casa en su casa.

A mi tío Antonio Sahagún, por haberme becado sin tramites ni papeleos, pero más aún por su actitud de interés y apoyo en todo momento.

A Mauricio Cervantes (alias el currirrou), por haber sido mi hermano en Hermosillo y seguir siéndolo después. Por las cenas, comidas y desayunos que no hacíamos al principio, y por las tantas que compartimos cuando la cosa mejoró. Por haber sido mi maestro de programación musical en el "Luna Dance", aunque finalmente haya terminado superándolo; en fin, por haber sido mi familia en Hermosillo.

Por supuesto a mis primas Mónica y Cynthia y a mi tía Martes por las horas de computadora, internet y charla.

A Julis Marcone, por haber estado siempre en contacto, por sus largos mensajes y llamadas, por su apoyo incondicional y por ser una gran amiga y entusiasta bailadora.

A mis amigos de la "fac" (Chela, Viet, Janic, Froy, Dago, Fer, Luisa, Rolo, Andrés, Lau, Lemus y demás banda) que siempre estuvieron en contacto, por haber sido tan solidarios, divertidos, incondicionales, aburridos, enojones, histéricos, pacientes, cálidos y, en fin, tan amigos. También a Quique y Benja, los cuates de guanatos que siempre han estado ahí (aún siendo abogángster uno e ingeniebrío el otro).

A todos los cuates de Hermosillo (Celine, Olaya, Marion, Jocelyn, el cochino, la chori, el chico, Alberto y Jose), porque a pesar de tanta fiesta terminé la tesis. Muy especialmente a Mónica Luna, por haber sido una excelente patrona, amiga y pareja de baile y juerga. Sin el Luna Dance, quizá habría terminado más rápido, pero no me habría divertido tanto ni hubiera conocido las noches del desierto.

Finalmente, pero muy principalmente, a quien por ser muy pequeñita de tamaño, terminó metiéndose y llenando mi corazón, y que además me ha enseñado el amor con otros colores (le digo la chenchita). ¡Ah!, y por la presión para titularme.

Este trabajo fue posible gracias al apoyo económico de la DGAPA proyecto PAPIIT IN-211997.

## Resumen

Se estudiaron los niveles y patrones de variación genética en 14 poblaciones de *Bursera microphylla* (Burseraceae) en el Desierto Sonorense, en el contexto de la historia geológica de la región y de la hipótesis del origen continental de la especie y su posterior migración a la Península de Baja California.

El análisis de la estructura genética se realizó con datos de ocho loci. La variación genética encontrada es similar a la reportada para especies con características de historias de vida semejantes. La heterocigosis promedio ( $H_e$ ) fué de 0.183 y los polimorfismos ( $P$ ) de 0.52. El valor de  $F_{is}$  (0.3873) indica que existe endogamia, la cual podría deberse a tamaños poblacionales efectivos pequeños o a algún tipo de apomixis. Esta última posibilidad fué explorada mediante medidas de diversidad genotípica para especies clonales, resultando el valor promedio de diversidad ( $D$ ) superior al 90% (0.9148). La diferenciación genética es de alrededor del 18% ( $\theta = 0.1785$ ), aunque no existe un patrón geográfico de diferenciación ni aislamiento por distancia. La distancia genética promedio entre poblaciones es de 0.05. Esto podría deberse a que el flujo génico es alto y complejo y a que las poblaciones estén fuera del equilibrio entre deriva génica y migración.

Lo anterior sugiere un patrón de origen y colonización de *B. microphylla* distinto al propuesto por Mooney y Emboden, quienes sugirieron que la especie se pudo haber originado en Sonora y posteriormente colonizar la Península de Baja California a través del delta del Río Colorado. Es posible que la especie haya experimentado expansiones recientes en su distribución por los efectos del último periodo glacial.

# INTRODUCCION

## Genética de poblaciones

La mayor aportación de Darwin al pensamiento evolutivo, y lo que constituyó una verdadera revolución en las teorías de evolución orgánica desde entonces, es el reemplazo de la supuesta variación metafísica (formas *ideales* en la naturaleza) entre los organismos, por una visión materialista de dicha variación (Lewontin, 1974). Para Darwin, el hecho central del proceso evolutivo es la conversión de la variabilidad de los individuos *dentro* de un grupo de organismos (especies, poblaciones), en variación *entre* grupos, tanto temporal como espacialmente separados. Es decir, la variación entre individuos es lo esencial para que ocurra el proceso evolutivo. Dicho proceso ocurre en dos etapas: (1) surgimiento de variación entre los individuos y (2) el cambio en las proporciones de las distintas variantes de una generación a otra (Futuyma, 1998). Y para que esto ocurra, al menos una parte de la variación debe ser heredable, es decir, debe tener bases genéticas. El descubrimiento hecho por Mendel de que el mecanismo de la herencia se basa en unidades particulares (genes) y de segregación independiente, hizo posible el desarrollo de la Teoría Sintética de la Evolución, que aplica los principios básicos de la herencia Mendeliana al proceso evolutivo.

Actualmente el estudio de los procesos evolutivos se basa en comprender los niveles de variación genética, los procesos que la originan y los factores que alteran sus patrones de distribución entre y dentro de poblaciones en el tiempo. Esto constituye, en general, el campo de estudio de la genética de poblaciones. Los genetistas de poblaciones han definido la evolución como el cambio en las frecuencias alélicas en una población a través del tiempo. Por lo tanto, cualquier fuerza o fenómeno que haga cambiar estas frecuencias, genera evolución (Hartl y Clark, 1989). Por otro lado, la genética ecológica busca las asociaciones entre los niveles de variación y las características ecológicas y de historias de

vida de las especies (sistemas de apareamiento, síndromes de polinización) (Hamrick y Godt, 1990).

Para poder hacer predicciones acerca de los efectos de las fuerzas evolutivas sobre las frecuencias alélicas y genotípicas, es necesario comenzar con un escenario en que no actúe ninguna, es decir, que las frecuencias se mantengan sin cambio a través del tiempo. Este modelo se conoce como el equilibrio de Hardy-Weinberg, y está dado por la expresión binomial  $(p + q)^2 = p^2 + 2pq + q^2$  donde  $p$  y  $q$  son las frecuencias de los alelos  $a$  y  $b$ ; y para  $k$  número de alelos en un locus por la expansión binomial  $(p_1 + p_2 + \dots + p_k)^2$  (Futuyma, 1998). Partiendo de este principio, se ha desarrollado un extenso y robusto cuerpo teórico y una gran cantidad de modelos para explicar cómo se origina, mantiene y cambia la variación genética en las poblaciones, además de numerosos estudios empíricos en poblaciones naturales, todo centrado en las frecuencias alélicas (génicas). Esta interacción e interdependencia entre teoría y observación le da a la genética de poblaciones una sólida capacidad predictiva y de inferencia sobre las distintas fuerzas evolutivas (Lewontin, 1985).

### *Variación genética*

La variabilidad genética es producto, en primera instancia, de diferencias en la secuencia de nucleótidos en el DNA. Esta es detectable usando marcadores moleculares específicos para DNA. Algunas de las diferencias en la secuencia de nucleótidos pueden tener efectos, a su vez, en la sustitución de uno o varios aminoácidos, y estos en la estructura final de la proteína. Es por este hecho que, para un mismo gen (locus) pueden existir varias formas o variantes (alelos). Las diferencias en la composición de aminoácidos de las proteínas se pueden detectar por diferencias en su polaridad y peso, mediante la técnica de electroforesis. Mediante esta técnica se puede obtener la información básica para estimar la variación genética. Los estimadores que cuantifican la variación son el porcentaje de loci polimórficos por población ( $P$ ), el número efectivo de alelos por locus ( $N_e$ ), y el promedio de individuos heterocigos por locus ( $H$ ) (Crow y Kimura, 1970; Hedrick, 1985).

También pueden obtenerse parámetros que describen cómo está distribuida la variación genética dentro y entre poblaciones. Esto es, cómo se arreglan los distintos alelos para

formar genotipos, y cómo se distribuyen los genotipos dentro y entre poblaciones. En organismos diploides, los homocigos son genotipos iguales para un alelo, y los heterocigos tienen dos alelos distintos. Estos parámetros son los estadísticos  $F$  de Wright ( $F_{is}$ ,  $F_{it}$  y  $F_{st}$ ) y el índice de fijación ( $F$ ). A partir de los estadísticos  $F$  de Wright pueden hacerse inferencias acerca de los posibles procesos y fuerzas evolutivas que causan la diferenciación genética entre poblaciones y que determinan la estructura genética dentro de poblaciones.

A partir de  $F_{st}$  puede estimarse, indirectamente, el flujo génico ( $Nm$ ,  $\hat{M}$ ) y el aislamiento por distancia entre las poblaciones (Slatkin, 1994). Otros parámetros de utilidad en estudios de genética poblacional son los de distancia y similitud genética, que se calculan utilizando los estimadores de Nei (1972). A partir de estos valores de distancia/similitud, se pueden establecer las relaciones genéticas entre poblaciones. Para ello, se utilizan los llamados análisis de cúmulos (cluster analysis).

El análisis de isoenzimas es tal vez el método más utilizado en los estudios de genética poblacional en plantas. Las principales ventajas que tienen las isoenzimas con respecto a otros marcadores moleculares son la relativa abundancia de loci polimórficos detectables (Hartl, 1998; Avise, 1994), la posibilidad de examinar muchos loci en poco tiempo, la posibilidad de identificar individuos heterocigos (codominancia) y que la variación detectada, aunque es estrictamente fenotípica, es muy cercana al nivel de DNA (Hedrick, 1985).

Las fuentes primarias de la variación genética en las poblaciones son la mutación y la recombinación. Por otro lado, la deriva génica tiende a eliminar la variación por cambios aleatorios en las frecuencias génicas y provoca diferenciación entre poblaciones. Varios factores determinan la cantidad de variación presente en las poblaciones, pues afectan la magnitud de la deriva génica. Destacan entre estos factores el tamaño poblacional, los efectos de eventos de extinción - recolonización, el sistema de apareamiento, la forma de vida y la distribución geográfica de las especies (Loveless y Hamrick, 1984).

Los numerosos estudios de variabilidad aloenzimática han permitido establecer generalizaciones en cuanto a la cantidad y distribución de la variabilidad genética en plantas. En promedio, el 50% de los loci para distintas especies son polimórficos, encontrándose la mayor parte de la diversidad (78%) dentro de poblaciones. La mayoría de las diferencias en diversidad aloenzimática se deben a la proporción de loci polimórficos, más que a diferencias en diversidad en loci individuales (Hamrick y Godt, 1990). Las especies con distribución cosmopolita presentan niveles significativamente mayores de diversidad que especies con distribución restringida (Karron, 1987); las poblaciones insulares tienen menor variación que las continentales (Frankham, 1996). Sin embargo, se han reportado casos en que las poblaciones de islas presentan mayores niveles de variabilidad que poblaciones continentales, pues podrían haber servido como refugios durante periodos glaciales (Inoue y Kawahara, 1990; Affre et al. 1997). A nivel poblacional, las especies que se entrecruzan tienen más altos niveles de variación que aquellas que se autofertilizan o tienen sistemas mixtos de cruzamiento (Hamrick y Godt, 1998). Por otro lado, las especies colonizadoras presentan menor cantidad de variabilidad, debido a los efectos de cuello de botella, que son reducciones en la variabilidad genética producidos por la fundación de una población con pocos individuos (Barrett y Husband, 1990). Sin embargo, el sistema de apareamiento parece ser determinante en los efectos genéticos de la colonización, pues en algunos casos no disminuye la variabilidad e incluso puede aumentar (Molina-Freaner y Jain, 1992).

### *Estructura poblacional*

La diferenciación genética entre poblaciones de una misma especie es producto de la compleja interacción de la selección natural, la deriva génica y el flujo génico (Slatkin, 1987), y constituye la primera etapa del proceso de diversificación que culmina con la formación de nuevas especies (Hartl y Clark, 1989; Linhart y Grant, 1996, Grant, 1981, 1991). El modelo más completo que predice cómo ocurre la diferenciación en poblaciones grandes y de apareamiento aleatorio, es el de aislamiento por distancia desarrollado por Sewall Wright (1943). El modelo asume que la probabilidad de apareamiento depende de la distancia física entre los individuos o de la varianza en la dispersión de sus semillas o

propágulos. El tamaño efectivo de población,  $N_e$ , representa el tamaño de una población o vecindario, que experimenta la misma disminución en variabilidad genética por endogamia o deriva, que una población panmíctica ideal de tamaño  $N$  (Wright, 1943), y generalmente es menor que  $N$ , pues no todos los individuos en una población contribuyen con gametos a la siguiente generación. En general, se ha encontrado que factores ecológicos o de historia de vida que afectan  $N_e$  y el flujo génico ( $Nm$ ) en poblaciones naturales, están asociados con el nivel de heterocigosis y diferenciación genética entre poblaciones (Loveless y Hamrick, 1984).

La mutación, la deriva génica y la selección natural tienden a producir diferenciación entre poblaciones, mientras que el movimiento de gametos, individuos o poblaciones enteras - que constituyen el flujo génico- la evitan (Slatkin, 1987). El ritmo y magnitud de la diferenciación depende, entre otros factores, de la historia de eventos de extinción y recolonización de las poblaciones, la historia de vida y el sistema de cruzamiento del organismo, de variables demográficas y de la estructura geográfica de las poblaciones (Slatkin, 1993,1994; Hamrick y Godt, 1990; Wright, 1978). Por ejemplo, las especies colonizadoras, autógamas y de tiempo generacional corto (i.e. estados sucesionales tempranos), presentan mayor diferenciación entre poblaciones que las que se entrecruzan y son longevas (Hamrick y Godt, 1998). Así mismo el recambio poblacional (i.e. extinción-recolonización) afecta la diferenciación (Slatkin, 1987; Linhart, 1996) y la magnitud de su efecto depende del número de migrantes o colonizadores involucrados en un evento de recolonización. Si un evento de recolonización involucra muchos individuos, el efecto es equivalente al flujo génico, y no se esperaría diferenciación. Por el contrario, si la colonización involucra a pocos individuos, la deriva generaría diferenciación aleatoria (Slatkin 1987; Hedrick, 1985; Hastings y Harrison, 1994). La selección natural podría promover diferenciación geográfica bajo presiones selectivas distintas, siempre y cuando la migración no sea muy grande o los migrantes tengan menor adecuación que los residentes. También se tiene evidencia empírica de que la selección natural provoca diferenciación geográfica y aislamiento por distancia (Linhart, 1996).

La distribución geográfica tiene también un papel determinante en los procesos de diferenciación (Mayr, 1963; Eldredge y Lessios, 1993), pues las barreras geográficas y la distancia disminuyen o incluso impiden el flujo génico (Slatkin, 1987). Esto se refleja en el fenómeno de aislamiento por distancia (Kimura y Weiss, 1964; Wright, 1943; Slatkin, 1993). Se ha demostrado que en especies con distribución discontinua (en “parches”) y con baja dispersión de polen, la distancia genética aumenta con la geográfica (Slatkin, 1993; Laurence et al. 1997).

### *Cambios temporales de estructura y variabilidad genéticas*

Otro factor importante en los procesos de diferenciación genética es el temporal, esto es, la divergencia genética de las poblaciones a través del tiempo. Sin embargo, por las dificultades que implica el conocer el momento de origen de las poblaciones, no existen estudios que estimen la diferenciación entre poblaciones a través del tiempo. Aún así, el conocer los patrones de aislamiento por distancia permite inferir el estado de equilibrio entre flujo y deriva génica entre pares de poblaciones y tener así una estimación indirecta del tiempo de divergencia de las poblaciones (si se conoce la tasa evolutiva del marcador), además de una estimación sobre el equilibrio entre deriva génica y migración (Slatkin, 1993, 1994). Además, aún cuando la divergencia genética podría ocurrir en pocas generaciones o años (*Lathyrus sylvestris*, Hossaert-Mckey et al. 1996), esta podría ser pequeña para organismos muy longevos, cuya diferenciación podría tomar millones de años (Bermingham y Lessios, 1993).

Algunos estudios de caso han permitido detectar efectos de eventos históricos en la estructura genética en poblaciones naturales y distinguirlos de procesos actuales (i.e. flujo génico). En un estudio realizado por Strand et al. (1996), se encontró que, lo que parecía ser flujo génico actual entre 18 poblaciones de 3 subespecies del género *Aquilegia*, podría deberse a una subdivisión histórica de las poblaciones durante el Pleistoceno tardío o el Holoceno temprano. Resultados similares se obtuvieron para la especie *Senecio gallicus* (Comes y Abbott, 1998), en la costa mediterránea de Francia y España. En este caso no se observó un patrón de aislamiento por distancia, pero sí diferenciación genética entre

haplotipos de cpDNA y no para isoenzimas. Esto podría deberse a que las poblaciones experimentaron expansiones en su distribución durante el último periodo glacial, que es revelada por la mayor sensibilidad de los marcadores de DNA. También se han detectado efectos de eventos pasados de extinción - recolonización en la variabilidad genética. Por ejemplo, se encontró mayor variabilidad genética para las poblaciones sureñas de la hierba *Asclepias exaltata* de Norteamérica, que para las poblaciones más boreales. Esto puede deberse a que en el sur hubo poblaciones "refugio" durante el último periodo glacial, en las que se preservó la variabilidad. Al recolonizarse el norte, la variabilidad disminuyó por efectos de fundador (Broyles, 1998). Este mismo patrón se ha observado para otras especies (Laurence, et al. 1997; Parks et al. 1994). Otro estudio realizado en una escala temporal pequeña, muestra cambios en los patrones de variación genética para *Lathyrus sylvestris* (Hossaert-McKey et al. 1996).

### **El Golfo de California y el Desierto Sonorense**

A pesar de la mencionada dificultad para conocer el origen temporal de las poblaciones, es posible conocer con bastante precisión la aparición de barreras geográficas entre poblaciones mediante la datación de eventos geológicos. Tal es el caso de la formación del Golfo de California por la separación de la península de Baja California. Atwater (1970) sugiere que la separación de la península comenzó hace 4.5 millones de años como resultado del choque entre las placas tectónicas del Pacífico, de Norte América y la de Rivera. Sin embargo, la transgresión del mar en esa región ocurrió mucho antes (Karig y Jansky, 1972), quizá hace 12 m.a. Investigaciones recientes han revelado que la Península, que estuvo unida al continente a la altura de Jalisco y Nayarit, actualmente se desplaza con dirección NNW a aproximadamente 4 cm por año (T. Calmus, com.pers.). Sin embargo, el origen de las actuales islas del golfo es más reciente. Las islas Tiburón, San Lorenzo y San Esteban se originaron en el Pleistoceno, hace alrededor de 2 m.a., y algunas son más jóvenes a los 10,000 años (Lonsdale 1989), producto de transgresiones marinas o de eventos tectónicos.

Además del inicio de las transgresiones marinas hasta la separación completa de la Península de Baja California, otro evento importante tuvo lugar durante el mismo periodo. Esto fue una tendencia de cambio climático hacia climas más secos durante el Mioceno tardío (15 – 8 m.a.), y la aparición durante este lapso de la vegetación desértica en Norteamérica y particularmente en el Desierto Sonorense (Van Devender, 1998). Antes de ello, durante el Eoceno y sobretodo durante el Oligoceno medio y tardío, la vegetación en toda la costa Pacífica de Norteamérica era tropical, de selva baja caducifolia (C. Peñalba, com pers.; Van Devender, 1998).

En este sentido, la formación del Golfo de California y el aislamiento de la Península, y la aparición del desierto Sonorense brindan una buena oportunidad para someter a prueba hipótesis sobre el origen y evolución de especies de la Península y la costa del Pacífico, a la luz de modelos de especiación y biogeográficos, y sobre las consecuencias genéticas del aislamiento.

#### *Estudios de genética de poblaciones en el Desierto Sonorense*

En la región son pocos los estudios que se han hecho con una perspectiva evolutiva (Murphy, 1983). En estudios de correlación genética-medio ambiente en zonas áridas, se ha obtenido evidencia que permite inferir que la heterogeneidad ecológica tiene mucha influencia sobre la estructura genética y diferenciación en poblaciones naturales (Nevo y Beiles, 1988 *citado en* Nevo y Beiles, 1989). Por ejemplo, en un estudio realizado con varias especies de animales, las heterocigosis observadas ( $H_o$ ) y las esperadas ( $H_e$ ) muestran correlación significativa con la precipitación media y las variaciones climáticas en un gradiente de aridez en el desierto Israelí y la diversidad genética tiende a incrementarse junto con la aridez y las condiciones xéricas (Nevo y Beiles, 1989). En México, existen estudios de genética poblacional para especies del desierto chihuahuense, como *Agave lechuguilla* (Silva, A. *en* Navarro, 1999) para la que se encontró un nivel de heterocigosis esperada ( $H_e$ ) de 0.39; y para *A. victoria-reginae* con  $H_e$  de 0.335 (Martínez-Palacios et al. *En prensa*), lo cual revela niveles altos de variabilidad.

En cuanto al Desierto Sonorense, el estudio de Parker y Hamrick (1992) en poblaciones de *Lophocereus schottii* (Cactaceae) del sur de Arizona, revela valores altos de diversidad génica ( $H_e=0.145$ ), y una diferenciación del 13% entre poblaciones. En un estudio comparativo entre cuatro especies dominantes perennes del Desierto Sonorense (*Encelia farinosa*, *Larrea tridentata*, *Gutierrezia microcephala* y *Coleogyne ramosissima*), se encontraron valores de  $H_e$  promedio para todas las especies de 0.173, que son comparables o mayores a los reportados para especies con distribución más amplia, mostrando que en poblaciones de zonas áridas pueden encontrarse niveles altos de variación génica (Schuster et al. 1994). Keys y Smith (1994) estudiaron el sistema de apareamiento y la estructura poblacional de la leguminosa *Prosopis velutina* en Arizona, y Neel et al. (1996) estudiaron la variabilidad isoenzimática de *Echinocereus engelmannii*, encontrando altos niveles de variación y poca diferenciación entre poblaciones. Recientemente se han realizado tres estudios con un enfoque evolutivo y biogeográfico en el Desierto Sonorense. Navarro (1999) estudió los niveles de variación genética y los posibles procesos de especiación en el grupo Deserticolae del género *Agave*, encontrando altos niveles de variación en todas las especies y poca diferenciación entre poblaciones. Clark (1999) estudió los niveles y patrones de variación aloenzimática en dos especies de cactáceas columnares, *Stenocereus gummosus* ( $H_e= 0.261$ ,  $P= 0.75$ ) y *S. eruca* ( $H_e= 0.154$ ,  $P= 0.46$ ), así como los posibles procesos de especiación que las originaron.

### *El género Bursera*

El género *Bursera* agrupa a una gran cantidad de especies de plantas leñosas, distribuidas desde el extremo sur de los Estados Unidos hasta Perú y el sur de Brasil, incluyendo también áreas insulares de las Antillas, las Galápagos y las Revillagigedo (Rzedowski y Kruse, 1979). Existen dos grupos dentro del género: las especies bivalvadas (sección *Bullockia*) con frutos con dos dehisencias y corteza no exfoliante, y las especies trivalvadas, con frutos tri dehiscentes y cortezas exfoliantes (sección *Bursera*). Un estudio filogenético realizado con secuencias espaciadoras de DNA (ITS) revela que el género es monofilético. De acuerdo a los datos de este estudio, existen cuatro grupos dentro de la sección *Bursera*: Simaruba, Microphylla, Fagaroides y Fragilis. El grupo Microphylla se caracteriza por tener foliolos de borde recto y muy pequeños, y ramas rojizas. Las especies del grupo Microphylla son *B. arida*, *B. morelensis*, *B. suntui*, *B. galeottiana* y *B.*

*microphylla*, siendo *B. galeotteana* la más cercana a *B. microphylla* (Becerra y Venable, 1999). Es posible que este grupo sea monofilético, aunque también podrían existir convergencias en la morfología de las hojas (Toledo, 1982).

La diversidad del género se concentra en México, con alrededor de 100 especies con registros en todos los estados de la República (excepto Tlaxcala), alcanzando la mayor diversidad de especies y densidad de individuos en la vertiente del Pacífico. La máxima concentración de especies y poblaciones se presenta en la depresión del Balsas (Miranda, 1947; Toledo, 1982). Son también elementos constitutivos importantes de los bosques tropicales caducifolios.

En Sonora y Baja California se encuentran 10 especies del género, algunas de las cuales están presentes sólo en Sonora, y su distribución altitudinal va desde el nivel del mar hasta los 1220 metros en las regiones montañosas (Johnson, 1992). *B. microphylla* es la especie más xerófila y con distribución más extendida hacia el norte, penetrando en California y Arizona. Según el trabajo sobre distribución de *Bursera* de Kohlman y Sánchez-Colón (1984) el noroeste de México es un centro de diversificación para el género.

#### *Sistemas reproductivos en Bursera*

La mayoría de las especies del género son dioicas (Rzedowski y Kruse, 1979), aunque observaciones recientes sugieren que existe gran variabilidad en los sistemas reproductivos para el género *Bursera* (Becerra y Venable, 1999 en prensa). Se han observado poblaciones compuestas únicamente por hembras, otras por machos, hembras e individuos andromonoicos e incluso hermafroditas (E. Huerta, J. Vargas, com pers.), por lo que es posible que el género presente algún tipo de apomixis (producción de semillas viables sin fecundación). El único caso documentado de apomixis para el género es el de *B. medranoana* (Del Carmen, 1998), pues la evidencia embriológica sugiere la existencia de embrión adventicia (el embrión proviene de alguna célula somática del ovario). Cabe resaltar que la apomixis se presenta por lo general en especies híbridas y poliploides. *B. medranoana* es un híbrido entre *B. morelensis* y *B. schlechtendalii*, aunque no se conoce su número de ploidia (Del Carmen, 1998).

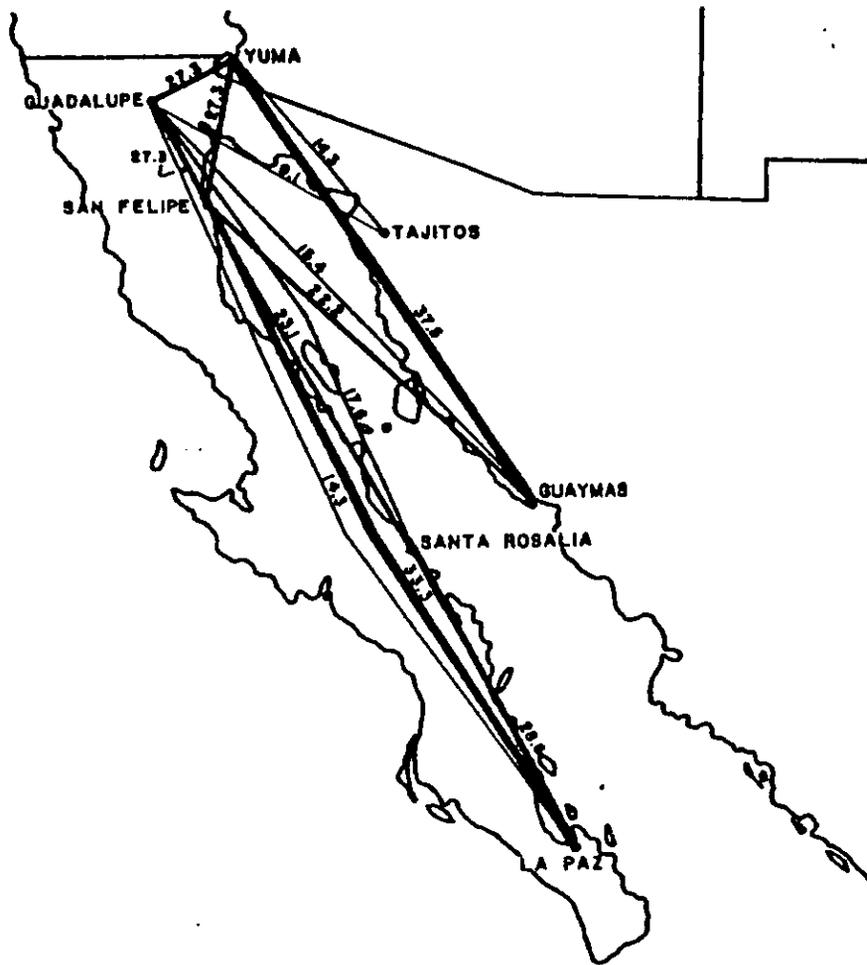
### *Estudios de genética poblacional en Bursera*

Existen hasta el momento dos trabajos sobre la estructura genética de poblaciones en especies del género. El primero se realizó con la especie *B. cuneata* (Del Valle, M. 1996), en el cual se estudiaron tres poblaciones con datos de siete loci. Para estas poblaciones se encontró un valor alto de endogamia para especies dioicas ( $F_{is}= 0.251$ ), y una diferenciación entre poblaciones de alrededor de 12% ( $F_{st}=0.119$ ), además de altos valores de variabilidad ( $P = 71.4$ ,  $N_a = 2.1$ ,  $H_e = 0.299$ ). El segundo trabajo se realizó con la especie *B. hindsiana* (Vargas, J. 1999, en preparación) con datos de once loci para nueve poblaciones, también en el Desierto Sonorense. Para esta especie se encontró una diferenciación entre poblaciones del 16.2% ( $F_{st}=0.162$ ) y tasa de endogamia baja ( $F_{is}=0.109$ ). Además no se detectó un patrón geográfico de aislamiento entre poblaciones.

### **Distribución y origen de *B. microphylla*: la hipótesis de Mooney y Emboden**

La distribución de *B. microphylla* se limita al Noroeste de México y Sur de California y Arizona. Se encuentra desde el extremo sur de la Península de Baja California hasta su extremo norte, excepto en la región noroeste de la misma y en las regiones montañosas (ver Materiales y Método). En Sonora, abarca desde el extremo noroeste y los límites con Arizona, y tiene su límite sur en los alrededores de Guaymas, coincidiendo casi totalmente con el desierto Sonorense (Turner et al. 1995). *B. microphylla* crece en hábitats muy áridos y calurosos, alcanzando su mayor desarrollo a lo largo de la costa centro y norte del golfo de California. En el extremo norte de su distribución se encuentra restringida a cañones y pendientes con microclimas calurosos y secos, como vertientes de lava o grietas. También esta presente en prácticamente todas las islas del Mar de Cortéz (Johnson, 1992). Recientemente se han reportado poblaciones aisladas en el río Mayo (Martin et al. 1998), y existen poblaciones, aunque no muy grandes, en la Sierra de La Laguna en Baja California Sur (Breceda, et.al, 1997), donde la vegetación es de selva baja caducifolia.

En 1968 Mooney y Emboden realizaron un estudio comparativo de la composición de terpenos en varias poblaciones de *B. microphylla* en el desierto Sonorense. En dicho estudio se muestrearon 7 poblaciones, abarcando todo el rango de distribución de la especie. Para cada localidad obtuvieron exudados para analizar su composición de terpenos, además de hojas para realizar medidas de morfología foliar. Adicionalmente, para dos poblaciones (Guaymas y Guadalupe), se obtuvo progenie a partir de las semillas, de las que se extrajeron exudados y hojas. Las medidas morfológicas fueron ancho y largo máximos de los foliolos, color de la corteza y tamaño promedio de las lenticelas. Con base en las diferentes proporciones de terpenos encontrados entre poblaciones (promedios), calcularon coeficientes de correlación entre las poblaciones (Figura 1), siendo éstos mayores en sentido norte-sur que en sentido este-oeste. Este patrón surgió de nuevo cuando estimaron el grado de similitud en la composición de terpenos entre las poblaciones, habiendo resultado dos grandes grupos: las poblaciones de Cañón de Guadalupe-San Felipe-Santa Rosalia-La Paz, y Yuma-Tajitos-Guaymas. Esto a pesar de que las distancias geográficas son mayores en sentido norte-sur (i.e. La Paz-Guadalupe) que en sentido este-oeste (i.e. Guaymas-Santa Rosalia). Los resultados del análisis morfológico fueron distintos, pues hubo un grupo con foliolos grandes, lenticelas pequeñas y corteza opaca (La Paz-Guaymas-Tajitos) y otro de foliolos pequeños que agrupó al resto de las poblaciones. Es de resaltar que el grupo de foliolos grandes abarca la porción sur tanto de la península como del continente, y estas poblaciones se localizan en zonas en las que la precipitación media anual es mayor a los 100 mm (Mooney y Emboden, 1968). Los análisis de la composición de terpenos para la progenie reveló que los tipos y niveles de éstos no variaron bajo distintas condiciones ambientales. En cuanto a la morfología, el tamaño de las hojas pareció ser independiente del medio ambiente, mientras que el color de la corteza y el tamaño de las lenticelas se vieron afectados por las condiciones de crecimiento y podrían estar sujetas a selección natural. Todo lo anterior sugiere que la especie se originó en el continente y penetró a la Península por la conexión continental entre Sonora y Baja California (delta del Río Colorado; Johnson, 1992).



**Figura 1.** Coeficientes de correlación en la composición de terpenos de siete poblaciones de *B. microphylla* en el Desierto Sonorense. La ausencia de líneas entre poblaciones indica que no hay correlación (Tomado de Mooney y Emboden, 1968).

## Objetivos

- Determinar la diversidad genética de las poblaciones de *Bursera microphylla* en Sonora, Baja California y las islas del Golfo de California en el contexto de la historia geológica de la península de Baja California y de las islas del Mar de Cortéz.
- Obtener estimaciones de los niveles de variación, estructura y distancias genéticas dentro y entre poblaciones.
- Analizar los patrones de aislamiento por distancia entre poblaciones haciendo especial énfasis en las poblaciones de las islas en relación con su distancia de las continentales, utilizando las estimaciones de flujo génico derivadas del análisis genético.
- Someter a prueba, utilizando marcadores genéticos, la hipótesis sobre el origen continental y migración hacia la península a través del Delta del río Colorado de *B. microphylla*, propuesta por Mooney y Emboden (1968).

## Hipótesis

Si el origen de *B. microphylla* es en realidad continental, en Sonora y Arizona, y penetró a la península de Baja California a través del delta del río Colorado, se esperaría encontrar mayores niveles de variación genética en el continente que en la península, además se espera que las poblaciones de la Península estén altamente diferenciadas de las poblaciones de la costa del Pacífico en Sonora, aún cuando están geográficamente más cercanas y a la misma latitud.

## Especie de estudio

*B. microphylla* es un árbol pequeño o arbusto, muy ramificado, pudiendo alcanzar alturas de hasta 8 metros. El tronco es semisuculento o succulento, muy engrosado en la parte inferior y en la base de las ramas y con frecuencia torcido. Las ramas son glabras, color marrón o rojizas, con numerosas ramificaciones laterales. La corteza es verde en los troncos, y en los más engrosados es blancuzco-amarillenta y exfoliante en láminas delgadas. Las hojas glabras y pinadas miden de 1.5 a 8 cm de largo. El raquis es muy delgado y tienen entre 7- 35 foliolos lineales, muy delgados, oblongos o raras veces lanceolares. Las hojas son alternadas o agrupadas en ramas cortas. Los foliolos son de 5- 25 mm de largo y entre 1-2 mm de ancho (Figura 2). Las hojas brotan con las primeras lluvias y si las condiciones son propicias, pueden producirse en otras épocas del año (Johnson, 1992).

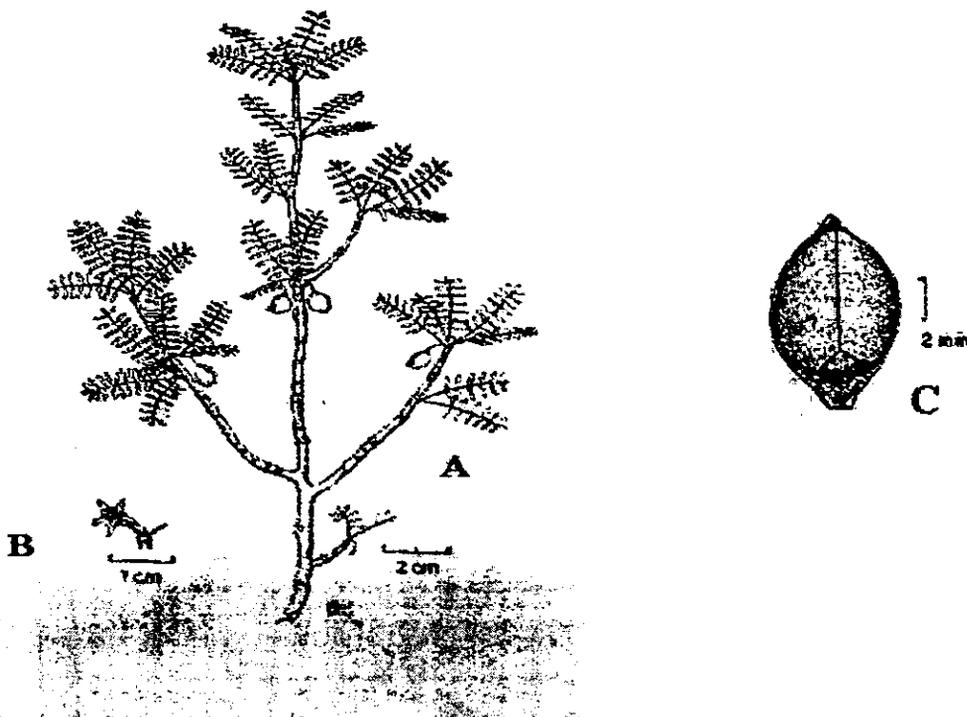


Figura 2. *Bursera microphylla* (A. Gray). A. rama con hojas jóvenes, B. flor masculina y C. fruto (detalle en recuadro) (Tomado de Felger y Moser, 1985) (Fotografía Mimi Kamp, U. of Conecticut).

Las flores aparecen antes que las hojas con las primeras lluvias; son blancas, de 2 mm de ancho, solitarias o en grupos de 2 o 3. Los frutos son trivalvados, de color púrpura-rojizo.

Las semillas están en cápsulas de 6 mm de largo, cubiertas por un pseudoarilo delgado y rojizo (Turner, et al. 1995).

Los frutos se producen desde septiembre y pueden permanecer hasta marzo-abril (Bates, 1992). La resina tiene un gran número de terpenos (Mooney y Emboden, 1968) y es altamente aromática; se acumula en canales debajo de la corteza y en las hojas, y brota abundantemente al sufrir daño las hojas o corteza, aparentemente como mecanismo de protección contra la herbivoría (Becerra, 1994).

*B. microphylla* almacena agua en los tejidos conductivos y en el parénquima del tronco y partes basales de las ramas. También posee células que se ensanchan para capturar agua, comenzando su aumento de tamaño desde la plántula, primero en raíces y después en tallos (Johnson, 1992).

Los vireos grises (*Vireo vicinor*) se alimentan casi exclusivamente de los frutos de *B. microphylla* durante los meses de invierno (Bates, 1992). Además, la distribución de sus territorios de invierno coincide con la de *B. microphylla*. Otras aves se alimentan de sus frutos durante el invierno, pudiendo actuar como dispersores.

Los pueblos Seri de Sonora dan varios usos tradicionales a *B. microphylla*, como planta medicinal, combustible, jabón y tintes, entre otros (Felger y Moser, 1985). De su resina se extraen aceites para perfumes y cosméticos, aunque ya han sido reemplazados por productos sintéticos.

Reconstrucciones de paleovegetación indican que *B. microphylla* se encontraba en Sonora al menos hace 10,000 años, desde el holoceno temprano, alcanzando un pico de abundancia hace 2,700 años (Van Devender et al. 1994), penetrando a Arizona hace 5,800 años (Van Devender, 1987). Datos obtenidos recientemente muestran la presencia de *B. microphylla* en Baja California (San Fernando) al menos hace 19,000 años, aumentando drásticamente su abundancia hace apenas 925 años (Cristina Peñalba, com. pers.).

## MATERIALES Y METODO

### Colecta

Se colectó tejido foliar de 50 individuos en 14 poblaciones, cubriéndose toda la distribución de la especie. Seis de ellas se localizan en el estado de Sonora, cinco en la Península de Baja California y tres son de Islas del Mar de Cortéz (Tabla 1, Figura 3). La colecta se realizó del 3 al 12 de noviembre de 1997.

Las hojas se guardaron en bolsas de plástico y fueron inmersas en nitrógeno líquido para conservar el tejido. El material fue guardado en un ultracongelador (-80° C) hasta su utilización.

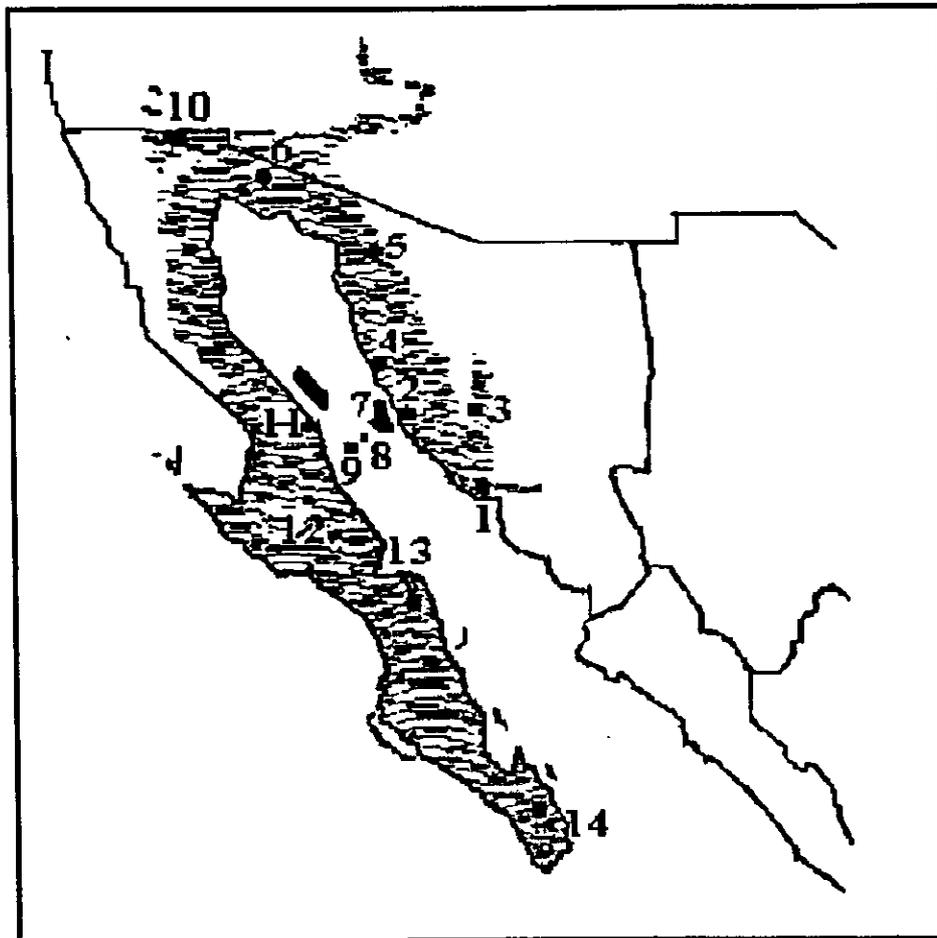


Figura 3. Distribución geográfica de *B. microphylla* en el Desierto Sonorense. Los puntos señalan las poblaciones muestreadas (ver Tabla 1) (Turner et al. 1995).

**Tabla 1.** Ubicación geográfica de las 14 poblaciones de *B. microphylla* muestreadas en Sonora, Baja California e Islas del Mar de Cortéz.

| Población               | Posición Geográfica       |
|-------------------------|---------------------------|
| 1. San Carlos, Sonora   | 27°56.28'N y 111°05.82'W  |
| 2. Bahía Kino, Sonora   | 28°54.08'N y 112°00.82'W  |
| 3. Hermosillo, Sonora   | 29°00.70'N y 110°57.39'W  |
| 4. Punta Cirios, Sonora | 29°48.27'N y 112°33.02'W  |
| 5. Quitobac, Sonora     | 31°36.17'N y 112°47.01'W  |
| 6. El Pinacate, Sonora  | 32°07.83'N y 113°53.91'W  |
| 7. Isla Tiburón, MC     | 28°44.57'N y 112°18.25'W  |
| 8. Isla San Esteban, MC | 28°40.34'N y 112°35.50'W  |
| 9. Isla San Lorenzo, MC | 28°35.12'N y 112°46.06'W  |
| 10. La Rumorosa, BCN    | 32°34.86'N y 115°58.24'W  |
| 11. B. Los Angeles, BCN | 28°58.13'N y 113°39.14'W  |
| 12. Abulón, BCS         | 27°17.58'N y 113°01.90'W  |
| 13. Loreto, BCS         | 26°15.21'N y 111°29.48' W |
| 14. San Bartolo, BCS    | 23°43.13'N y 109°46.39'W  |

### Electroforésis

El análisis electroforético se hizo siguiendo la técnica descrita en Del Valle (1996), con algunas modificaciones, obteniendo el genotipo de cada uno de los individuos de cada población para varios loci enzimáticos.

Para la extracción se utilizó el buffer para *Abies*, consistente en una modificación de los sistemas de Yen et al. (1980) y de Cheliak y Pitel (1984, ver Apéndice 1), al cual se le añade el mercaptoetanol justo antes de hacer la extracción. El macerado era absorbido en trocitos de papel para cromatografía (Whatman no. 17) de aproximadamente 1 cm de largo por medio de ancho (wicks). De cada foliolo se obtuvieron alrededor de 9 wicks, que se

guardaron en tubos Eppendorf. Generalmente se corría un día después de haber hecho la extracción. Los wicks excedentes fueron guardados para hacer repeticiones.

### **Montado de geles**

Las muestras obtenidas fueron cargadas en geles de almidón de papa hidrolizado al 12% agregando sacarosa al 5%. En cada gel se colocaron alrededor de 50 wicks (uno por individuo de la población), y en ambos extremos un indicador con colorante (colorante para alimentos) y una muestra del individuo control. Las muestras control eran obtenidas de un individuo vivo mantenido en una cámara de crecimiento en el laboratorio. El corrimiento del gel se hizo bajo un voltaje y amperaje específico, dependiendo de las características del sistema de buffer utilizado (Apéndice 1).

### **Sistemas electroforéticos**

Se utilizaron dos sistemas electroforéticos que permitieron obtener buena resolución en un total de 6 enzimas (8 loci). Para el sistema C de Maíz de Stubber et al. (1988) (Apéndice 1) se obtuvo buena resolución para las enzimas Leucin amino peptidasa (LAP), Fosfoglucoasa isomerasa (PGI, dos locus) y Ribulosa 1-5-bifosfato carboxilasa (RUB). En el sistema de Mitton et al. (1977, Apéndice 1) tuvieron buena resolución las enzimas Malato deshidrogenasa (MDH), Fosfatasa ácida (AcPH, dos locus) y la Enzima málica (ME).

### **Tinción**

Se dejó correr el frente del gel una distancia de entre 9 y 10 centímetros a partir del origen. Para obtener las rebanadas de tinción, se cortó el gel horizontalmente obteniéndose de 4 a 5 por gel. Cada rebanada se colocó en una caja de tinción a la que se le agregaron los reactivos específicos para cada enzima (ver Apéndice 1). La detección de la enzima se basa en la precipitación de indicadores solubles que tiñen el gel en la zona de actividad enzimática (Wendel y Weeden, 1989). Después de incubar las rebanadas en la solución (ver Apéndice 1), se fijaron en una solución de alcohol al 50% en el refrigerador durante 12

horas. La ME fue leída sin fijar, pues al fijarla se diluía la zona de tinción de bandas de actividad enzimática.

### **Interpretación de los geles**

Los geles teñidos presentan un patrón de bandas, del que se puede inferir el genotipo para cada individuo. En un locus, el número de bandas que se observan depende de si los individuos son homocigos o heterocigos y de la estructura cuaternaria de la enzima. Si se trata de un monómero, los homocigos presentan una banda y los heterocigos dos. Si se trata de una enzima dimerica los heterocigos presentan tres bandas y si es tetramérica, cinco (Wendel y Weeden, 1989).

Para la lectura de las bandas se numeraron los loci y los alelos. El número 1 se asignó al locus más alejado del origen (el de mayor movilidad electroforética), y de manera descendente a los siguientes. Este mismo criterio se siguió con las aloenzimas.

### **Análisis de datos**

Se obtuvieron las frecuencias alélicas para 8 loci (17 alelos), y se realizó una prueba  $R \times C$  de Fisher (Sokal y Rolf, 1995) para determinar si existen diferencias significativas en las frecuencias alélicas de cada locus entre poblaciones. Adicionalmente se realizó un análisis de probabilidad combinada de Fisher (Sokal y Rolf, 1995) para obtener la significancia global sobre todos los loci. Ambos análisis se hicieron con el programa TFPGA (Miller, 1997).

Para estimar la variación genética se obtuvieron las siguientes medidas:

- Proporción de loci polimórficos  $P = x/m$ , donde  $x$  es el número de loci polimórficos y  $m$  es el número total de loci analizados. Se utilizó el criterio de polimorfismo del 95% (el alelo más común no excede la frecuencia de 0.95, Hedrick, 1985). Un valor de  $P = 1$  indica que todos los loci tienen dos o más alelos.

- Heterocigosis promedio esperada ( $H_e$ ) como  $H = 1 - \sum p_i^2$ , donde  $p_i$  es la frecuencia observada del alelo  $i$  en un locus. Se obtuvo también por conteo directo la heterocigosis observada por población y el promedio para todas las poblaciones ( $H_o$ ).  $H$  toma valores de cero a uno. También se calculó el número promedio de alelos por locus como  $N_a = \sum n_i / m$ , donde  $n_i$  es el número de alelos observados en el locus  $i$ , y  $m$  es el número de loci analizados (Hedrick, 1985).

Para estimar la significancia de las diferencias entre los valores de variabilidad entre regiones y poblaciones, se utilizó una prueba de Chi-cuadrada de Kruskal-Wallis (Sokal y Rolf, 1985).

Para describir la estructura genética dentro y entre poblaciones se estimaron los estadísticos  $F$  de Wright ( $F_{it}$ ,  $F_{is}$  y  $F_{st}$ ) y el índice de fijación ( $F$ ) (Hedrick, 1985).

- El índice de fijación se calcula como  $F = 1 - H/2pq$ , 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 bajo condiciones de equilibrio.  $F$  toma valores de  $-1$  a  $+1$ , indicando los valores extremos exceso o deficiencia de heterocigotos, respectivamente. Valores de cero indican que la población se encuentra en equilibrio de Hardy-Weinberg (Hedrick, 1985).
- $F_{is}$  mide la reducción en la heterocigosis individual promedio debida a apareamientos no aleatorios dentro de cada población (que en términos de estos estadísticos pueden considerarse como subpoblaciones) como  $F_{is} = 1 - H_o/H_s$ , donde  $H_s$  es la heterocigosis promedio esperada para todos los loci y  $H_o$  la observada al nivel de subpoblación (Hedrick, 1985).
- $F_{it}$  mide el grado de endogamia total en las poblaciones, estimando la reducción en la heterocigosis individual promedio al nivel de toda la población (el conjunto de las subpoblaciones) como  $F_{it} = 1 - H_o/H_t$ , donde  $H_o$  es la heterocigosis individual promedio

observada por subpoblación y  $H_t$  es la heterocigosis promedio esperada en una población de apareamiento aleatorio (Hedrick, 1985).

- $F_{st}$  es una medida de diferenciación genética entre subpoblaciones, e implica una reducción en la heterocigosis de una subpoblación (Hartl y Clark, 1989) y se calcula como  $F_{st} = 1 - H_s/H_t$  (Hedrick, 1985).

Estos estadísticos se obtuvieron mediante el programa TFPGA, que los calcula como  $f$ ,  $F$  y  $\theta$  usando el procedimiento de Weir y Cockerham (1984) y que equivalen a  $F_{is}$ ,  $F_{it}$  y  $F_{st}$ , respectivamente. Estos consideran el número de individuos y de localidades en la estimación de los parámetros, reduciendo el sesgo en los estadísticos obtenidos con tamaños de muestra pequeños. Este método parte del supuesto de que un número  $r$  de poblaciones de igual tamaño han descendido en forma independiente de una sola población ancestral que estaba en equilibrio de Hardy-Weinberg y de ligamiento. Por esto las poblaciones se mantienen bajo las mismas condiciones y las diferencias observadas tienen que ver con el muestreo genético entre generaciones.

La significancia de los estadísticos se obtuvo mediante el programa TFPGA (Miller, 1997), que calcula la desviación estándar de los estimados mediante un método de remuestreo (jackknife) sobre todos los loci, y calculando los intervalos de confianza de los estimados (al 95%) mediante la técnica de remuestreo denominada "Bootstrap". Adicionalmente se calculó la significancia de los estadísticos  $f(F_{is})$ ,  $F(F_{it})$  por locus y el índice de fijación ( $F$ ) aproximándolos al estimador  $F^2 N (K-1)$ , distribuido como chi-cuadrada con  $K(K-1) / 2$  grados de libertad, donde  $N$  es el tamaño de muestra y  $K$  el número de alelos (Eguiarte, 1990), y los de  $F_{st}$  como  $2N F_{st} (K-1)$  distribuido como chi-cuadrada con  $(K-1) (s-1)$  grados de libertad, donde  $N$  es el tamaño de muestra,  $K$  el número de alelos y  $s$  el número de subpoblaciones (Workman y Niswander, 1970).

Al analizar los datos, se observó que había muchos genotipos multiloci iguales en las poblaciones. La probabilidad de que dos genotipos multilocus sean idénticos si la reproducción es exclusivamente sexual es muy baja, por lo que se decidió comparar la

diversidad genotípica de *B. microphylla* con la de plantas con reproducción asexual. Para ello, se contaron los genotipos multilocus únicos por población. Cada genotipo multilocus único fue considerado como un clon. Para comparar la diversidad genotípica se calcularon dos medidas de diversidad génica usadas para especies clonales (Ellstrand y Roose, 1987). Los estadísticos descriptivos de la diversidad de especies pueden ser utilizados para plantas clonales. El primero es el índice de diversidad de Simpson, y se calcula como  $D = 1 - \frac{\sum\{[n_i(n_i-1)]\}}{[N(N-1)]}$ , donde  $n_i$  es el número de individuos del genotipo  $i$  y  $N$  es el tamaño de muestra (Pielou, 1969).  $D$  toma valor de 0 si todos los genotipos son iguales, y de 1 si todos son distintos. El segundo fue la tasa de descubrimiento genotípica calculada como  $G / N$  donde  $G$  es el número de genotipos multilocus únicos y  $N$  es el tamaño de muestra (Pleasants y Wendel, 1989).  $G/N$  representa la probabilidad de encontrar distintos genotipos en una población, por lo tanto si la tasa es baja, significa que la población es clonal, y si toma valor de 1, que no se repiten genotipos. Adicionalmente se calculó el número de genotipos posibles como  $N_g = \frac{1}{2} \prod_{i=1}^L [a_i(a_i+1)]$ , donde  $N_g$  es el número de genotipos únicos,  $a_i$  es el número de alelos detectados para el locus  $i$  y  $L$  es el número de loci analizados (Cheliak y Pitel, 1984), para tener una referencia de la “clonalidad” en las poblaciones. Para establecer si el número de loci examinados por población tenía relación con el número de genotipos detectados, se realizó una prueba de correlación de Kendall (Menken et al. 1995).

El estadístico  $F_{st}$  permite estimar indirectamente el flujo génico (Slatkin, 1994) mediante la expresión derivada por Wright (Crow y Aoki, 1987 citado en Del Valle, 1996)  $F_{st} = 1 / 4Nm+1$ , donde  $N$  es el tamaño de la población y  $m$  es la fracción de inmigrantes. No existe forma de estimar  $m$  de manera independiente de  $N$  (Eguiarte et al. 1993; Slatkin, 1994 citado en Núñez-Farfán y Eguiarte 1997) por lo que la aproximación es estimar  $Nm$  a partir de  $F_{st}$ . Los estimadores promedio de  $Nm$  requieren, para ser confiables, ser insensibles a la acción de otras fuerzas evolutivas como la mutación y la selección natural. También se estimó  $Nm$  por medio del análisis de alelos raros (Slatkin, 1985), utilizando la frecuencia promedio de alelos encontrados en una sola población  $p$ , mediante la fórmula  $\log_{10} [p(1)] = \log_{10} a(Nm) + b$ ; donde  $a$  y  $b$  son variables de la pendiente que dependen del número de

individuos muestreados por población. Como resultado de varias simulaciones, Slatkin (1985) encontró que para 50 individuos colectados  $a = -0.61$  y  $b = -1.1$ .

A partir de las frecuencias alélicas se calculó otra medida indirecta de flujo génico. Para ello se estima la  $F_{st}$  entre pares de poblaciones separadas una distancia  $k$ , y se obtiene un estimado de  $Nm$  designado como  $\hat{M}$  (Slatkin, 1993). Para el caso de flujo génico en una dirección  $\hat{M} = 4Nm/k$ . Con este parámetro se puede obtener información sobre el aislamiento por distancia. Para poblaciones en equilibrio entre la deriva y la migración la relación  $\log(\hat{M}) = a + b \log(k)$  predice una pendiente ( $b$ ) de  $-1$  cuando el flujo ocurre en una dimensión, y de  $-0.5$  si ocurre en dos (Slatkin, 1993). Para estimar  $\hat{M}$  entre pares de poblaciones se usó el programa desarrollado por Slatkin (1993). Para determinar si la relación entre  $\hat{M}$  y la distancia geográfica es estadísticamente significativa, se obtuvo el coeficiente de determinación  $r^2$  para regresión lineal y se realizó una prueba de Mantel, mediante el programa TFPGA. Esta prueba genera  $n$  (10,000) matrices distintas de  $\log(\hat{M})$  al reorganizar aleatoriamente las filas (o columnas) de la matriz original. Después calcula el coeficiente de correlación de Spearman ( $r$ ) para cada una de los pares de matrices de  $\log(\hat{M})$  y log distancia. También el programa genera intervalos de confianza (95%) para evaluar la significancia de la correlación ( $p$ ) (Comes y Abbott, 1998).

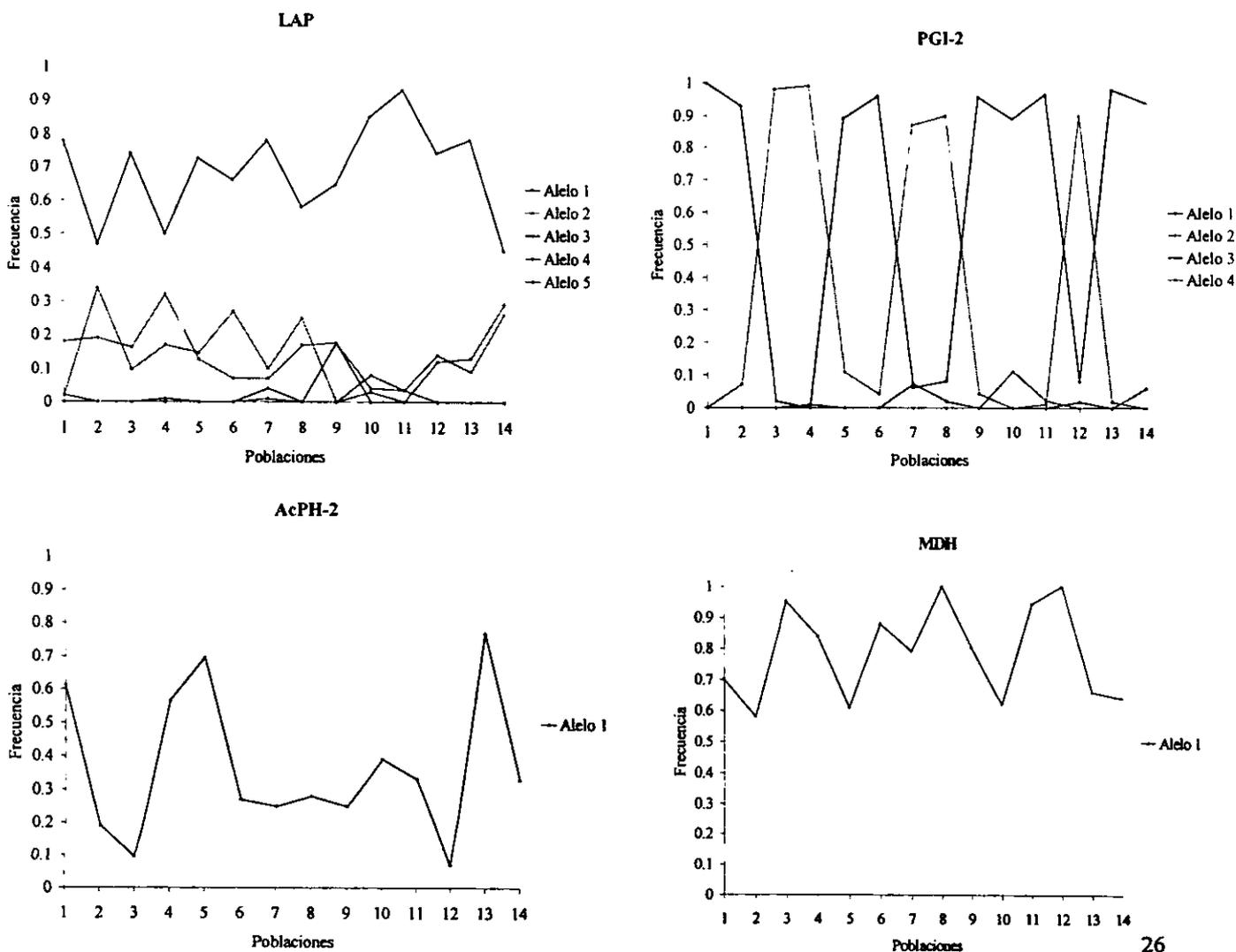
Se obtuvo una matriz de distancia e identidad genética. La identidad ( $I$ ) de Nei se obtiene como  $I = J_{xy} / (J_x J_y)^{1/2}$  donde  $J_{xy}$  es la probabilidad de escoger un par de alelos idénticos, uno de la población  $x$  y otro de la población  $y$ ;  $J_x$  y  $J_y$  son las probabilidades de homocigosis en la población  $X$  y  $Y$ , respectivamente (Hartl y Clark, 1989). La distancia genética toma valores de 0 si las poblaciones tienen frecuencias alélicas idénticas, hasta  $\infty$  si las poblaciones no comparten alelos, y se estima como  $D = -\ln I$  (Hedrick, 1985).

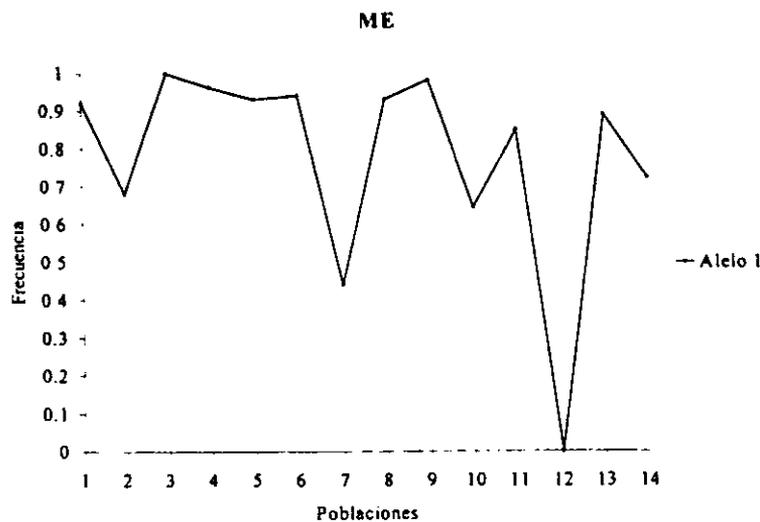
Con el fin de obtener las relaciones genéticas entre las poblaciones, se realizaron análisis de cúmulos (cluster analysis) usando el estimador insesgado de similitud y distancia genéticas de Nei (1978). El fenograma se obtuvo utilizando el método UPGMA (unweighted pair group method with arithmetic mean, Sokal y Michener, 1958) con el programa TFPGA (Miller, 1997).

# RESULTADOS

## Variación genética

Se analizaron un total de 6 sistemas enzimáticos (8 loci) para la especie: LAP, PGI-1, PGI-2, RUB (sistema C, Apéndice 1), AcPH-1, AcPH-2, MDH, ME (sistema Mitton, Apéndice1). De los 8 loci ensayados, 6 fueron polimórficos al menos para una población (LAP, PGI-2, RUB, AcPH-2, MDH y ME). Fueron monomórficos para todas las poblaciones los loci PGI-1 y AcPH-1 (ver Apéndice 2). Las poblaciones de Pta. Cirios y Abulón fueron monomórficas para la ME, mientras que para la MDH lo fueron Abulón e Isla San Esteban. La RUB fue polimórfica solamente en la población de Bahía Kino. El análisis RxC de Sokal y Rolf (1985) reveló diferencias significativas en las frecuencias alélicas entre poblaciones para todos los loci (Figura 4, Apéndice 2).





**Figura 4.** Frecuencias alélicas en las 14 poblaciones de *B. microphylla*. No se incluyen los datos de la RUB, pues solo fue polimórfica en una población. Para las enzimas AcPH-2, MDH y ME sólo se muestran la frecuencia del alelo  $\alpha$ . Se encontraron diferencias significativas para las frecuencias alélicas entre todas las poblaciones (Ver apéndice 2).

El valor promedio en la proporción de loci polimórficos para la especie fue de 51.8% ( $P=0.518$ ), alcanzando el nivel más alto en la población de Bahía Kino ( $P=0.750$ ), y el menor en las poblaciones de Hermosillo, Punta Cirios, Isla San Lorenzo y Abulón, ( $P=0.375$ , Tabla 2). El número promedio de alelos por locus fue de 1.82, y el valor más alto fue el de Isla Tiburón (2.1). La heterocigosis observada ( $H_o$ ) promedio para todas las poblaciones fue de 0.112, alcanzando nuevamente el valor más alto en Bahía Kino ( $H_o=0.187$ ) y el menor en Abulón ( $H_o=0.035$ ). El promedio de heterocigosis esperada ( $H_e$ ) fue de 0.183, siendo el valor más alto de  $H_e=0.286$  y el menor de  $H_e=0.092$ , para Bahía Kino y Abulón y Pta. Cirios, respectivamente (Tabla 2, Figura 5). Los valores promedio de  $H_o$  y  $H_e$  fueron significativamente distintos ( $\chi^2 = 8.3816$ ,  $p= 0.4478$ ). Al comparar los niveles de variación entre regiones, se detectó un patrón geográfico en los niveles de variación genética entre Sonora y Baja California, siendo la  $H_o$  promedio más alta en Sonora ( $H_o=0.129$ ) que en Baja California ( $H_o=0.087$ ), mientras que para las Islas la  $H_o=0.124$ , aunque ninguna de las diferencias fue significativa ( $\chi^2 = 3.2686$ ,  $p= 0.0406$ ). Tampoco hubo diferencias significativas en  $H_e$  entre Islas, Sonora y Baja California ( $\chi^2 = 4.0$ ,  $p= 0.0072$ , 2 gl.; Figura 5). No hubo diferencias significativas entre regiones para el número de alelos por locus y el porcentaje de loci polimórficos. No se detectó ningún patrón latitudinal en la variabilidad genética. Las islas tuvieron niveles de variación similares a los de las poblaciones continentales. Sine embargo algunos datos muestran

tendencias geográficas en la variabilidad genética. El alelo *a* de la LAP se encuentra solamente en las poblaciones de Hermosillo y las Islas Tiburón y San Lorenzo (en ninguna de Baja California), y el alelo *a* de la ME está fijo en la población de Punta Cirios en Sonora, mientras que el *b* lo está para la de Abulón en Baja California (Figura 4, Apéndice 2).

**Tabla 2.** Variación genética dentro de las poblaciones estudiadas de *B. microphylla* en el Desierto Sonorense. Errores estándar entre paréntesis.

| Población             | Número prom. de individuos por locus | Número de alelos por locus | Loci polimórficos (%) | Ho               | He*              |
|-----------------------|--------------------------------------|----------------------------|-----------------------|------------------|------------------|
| 1. SAN CARLOS         | 49.9<br>(0.1)                        | 1.8<br>(0.4)               | 50.0                  | 0.101<br>(0.066) | 0.177<br>(0.075) |
| 2. BAHIA KINO         | 50<br>(0.0)                          | 1.9<br>(0.3)               | 75.0                  | 0.187<br>(0.064) | 0.286<br>(0.082) |
| 3. PUNTA CIRIOS       | 52<br>(0.0)                          | 1.6<br>(0.3)               | 37.5                  | 0.057<br>(0.036) | 0.092<br>(0.052) |
| 4. HERMOSILLO         | 53<br>(0.0)                          | 1.9<br>(0.4)               | 37.5                  | 0.116<br>(0.053) | 0.186<br>(0.089) |
| 5. QUITOBAC           | 50.9<br>(0.1)                        | 1.8<br>(0.3)               | 62.5                  | 0.130<br>(0.059) | 0.204<br>(0.072) |
| 6. PINACATE           | 50<br>(0.0)                          | 1.8<br>(0.3)               | 50.0                  | 0.180<br>(0.078) | 0.162<br>(0.068) |
| 7. ISLA TIBURON       | 49.8<br>(0.3)                        | 2.1<br>(0.5)               | 62.5                  | 0.135<br>(0.053) | 0.228<br>(0.071) |
| 8. ISLA SAN ESTEBAN   | 49.9<br>(0.1)                        | 1.8<br>(0.3)               | 50.0                  | 0.110<br>(0.059) | 0.163<br>(0.078) |
| 9. ISLA SAN LORENZO   | 48<br>(0.0)                          | 1.8<br>(0.3)               | 37.5                  | 0.128<br>(0.064) | 0.168<br>(0.074) |
| 10. RUMOROSA          | 49.9<br>(0.1)                        | 1.9<br>(0.4)               | 62.5                  | 0.125<br>(0.046) | 0.236<br>(0.078) |
| 11. BAHIA LOS ANGELES | 42.9<br>(0.1)                        | 1.9<br>(0.3)               | 50.0                  | 0.083<br>(0.048) | 0.129<br>(0.057) |
| 12. ABULON            | 50<br>(0.0)                          | 1.6<br>(0.3)               | 37.5                  | 0.035<br>(0.027) | 0.092<br>(0.054) |
| 13. LORETO            | 49.9<br>(0.1)                        | 1.8<br>(0.3)               | 50.0                  | 0.078<br>(0.031) | 0.178<br>(0.068) |
| 14. SAN BARTOLO       | 50<br>(0.0)                          | 1.8<br>(0.3)               | 62.5                  | 0.112<br>(0.055) | 0.263<br>(0.093) |
| <b>PROMEDIO</b>       | <b>49.72</b>                         | <b>1.82</b>                | <b>51.8</b>           | <b>0.112</b>     | <b>0.183</b>     |

\* Estimador no sesgado (Nei, 1978)

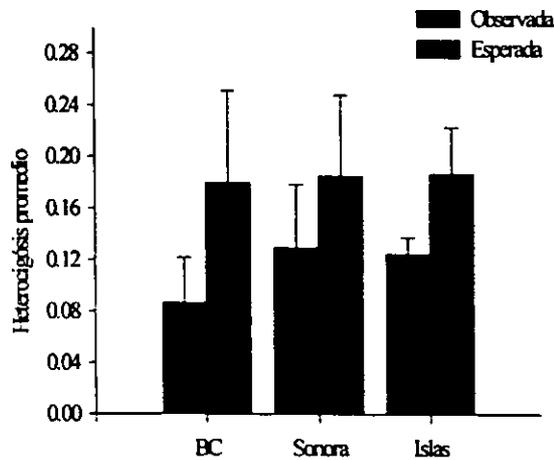


Figura 5. Heterocigosis promedio esperada ( $H_e$ ) y observada ( $H_o$ ) para las poblaciones de Sonora, Baja California e Islas del Mar de Cortéz. Las barras representan los errores estándar.

### Indices de fijación

Los valores de los índices de fijación  $F$  por locus para cada población se muestran en la Tabla 3. Treinta y ocho fueron positivos y significativamente distintos de cero, y once fueron negativos e iguales a cero. De los valores promedio para cada población, 10 fueron positivos y significativamente distintos de cero (Tabla 3), indicando que las poblaciones están fuera del equilibrio de Hardy-Weinberg. Tres de las poblaciones que no se desvían de las proporciones Hardy-Weinberg están en Sonora, y una es de una Isla, siendo todas positivas. La única población con valor de  $F$  negativo fue la de El Pinacate, aunque no fue significativamente distinto de cero. En cuanto a los promedios por locus, la PGI-2, MDH y ME presentaron valores significativamente distintos de cero (Tabla 3).

### Estructura poblacional

Los valores de  $f$  por locus estuvieron entre  $-0.1666$  y  $0.6460$ , siendo todos significativamente distintos de cero excepto la RUB, cuyo valor de  $f$  no es en realidad un promedio, pues sólo fue polimórfica para una población (Tabla 4). El promedio de  $f$  para todas las poblaciones es de  $0.3873$ , lo que indica un alto nivel de endogamia dentro de

poblaciones (38.7%). El intervalo de confianza del 95% muestra que el valor promedio de  $f$  es significativamente distinto de cero. Al analizar por separado las poblaciones de Sonora, Baja California y las Islas, los promedios son de  $f = 0.3035$ ,  $f = 0.5238$  y  $f = 0.3696$  respectivamente, siendo significativamente distintos los valores de Sonora y Baja California a juzgar por las desviaciones estándar (Figura 6). En todos los casos, los valores fueron significativamente distintos de cero (I.C. al 95%, Tabla 4). Las  $F$  van de  $-0.0001$  a  $0.7940$ , siendo todas significativamente distintas de cero excepto para la RUB, cuyo valor no es un promedio. El promedio es de  $0.4966$ , presentando la misma tendencia que la  $f$  para Sonora, Baja e Islas ( $0.3923$ ,  $0.6450$  y  $0.4612$  respectivamente, Tabla 4, Figura 6). La diferenciación entre poblaciones ( $\theta$ ) tiene valor promedio de  $0.1785$ , esto es alrededor de 18% de diferenciación. Los valores de  $\theta$  por locus van de  $0.0221$  a  $0.4180$ , siendo todos significativamente distintos de cero excepto la RUB (Tabla 4). A decir por la no superposición de las desviaciones estándar, la  $\theta$  promedio es mayor para las poblaciones de Baja California ( $0.2544$ ) que para las de Sonora y las Islas ( $0.1275$  y  $0.1454$  respectivamente, Tabla y Figura 6). Los intervalos de confianza indican que todos los valores son distintos de cero (Tabla 4).

**Tabla 3.** Índices de fijación para 6 loci en 14 poblaciones de *B. microphylla* en el Desierto Sonorense. Significancia calculada con Chi-cuadrada. El promedio entre loci no incluye el valor de la RUB.

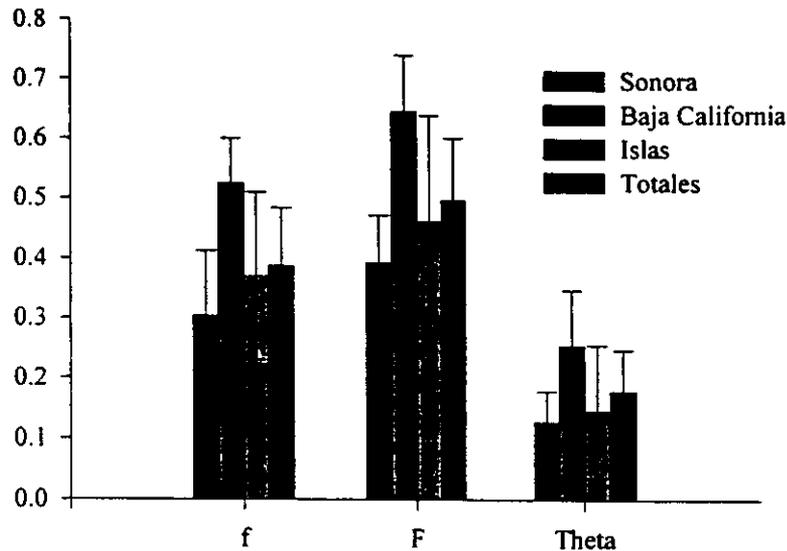
| Locus | San Carlos         | Bahía Kino         | Punta Cirios       | Hermosillo         | Quitobac           | Pinacate | Isla Tiburón       | Isla San Esteban   | Isla San Lorenzo   | Rumorosa           | Bahía Angeles      | Abulón             | Loreto             | Sn. Bartolo        | X                  |
|-------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|----------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| LAP   | 0.442 <sup>2</sup> | 0.171              | 0.306 <sup>1</sup> | 0.603 <sup>2</sup> | 0.280 <sup>1</sup> | -0.274   | 0.307 <sup>1</sup> | 0.266              | 0.119              | 0.479 <sup>2</sup> | 0.297              | 0.474 <sup>2</sup> | 0.400 <sup>2</sup> | 0.319              | 0.299              |
| PGI-2 | ----               | 0.539 <sup>2</sup> | 1.00               | -0.010             | 0.694 <sup>2</sup> | -0.042   | 0.744 <sup>2</sup> | 0.563 <sup>2</sup> | 1.00               | 0.489 <sup>2</sup> | 0.657 <sup>2</sup> | 0.782 <sup>2</sup> | -0.020             | 1.00               | 0.569 <sup>2</sup> |
| APH-2 | 0.118              | 0.025              | 0.336 <sup>1</sup> | 0.232              | -0.066             | 0.036    | -0.111             | 0.206              | 0.111              | 0.285 <sup>1</sup> | 0.036              | 0.846 <sup>2</sup> | 0.492 <sup>2</sup> | 0.593 <sup>2</sup> | 0.207              |
| RUB   | ----               | -0.176             | ----               | ----               | ----               | ----     | ----               | ----               | ----               | ----               | ----               | ----               | ----               | ----               | -0.176             |
| MDH   | 0.810 <sup>2</sup> | 0.754 <sup>2</sup> | 0.370 <sup>1</sup> | 0.089              | 0.683 <sup>2</sup> | -0.136   | 0.458 <sup>2</sup> | ----               | 0.409 <sup>2</sup> | 0.406 <sup>2</sup> | 0.363 <sup>1</sup> | ----               | 0.733 <sup>2</sup> | 0.653 <sup>2</sup> | 0.466 <sup>2</sup> |
| ME    | 1.00               | 0.632 <sup>2</sup> | ----               | 0.480 <sup>2</sup> | 0.233              | -0.064   | 0.675 <sup>2</sup> | 0.538 <sup>2</sup> | -0.021             | 0.689 <sup>2</sup> | 0.728 <sup>2</sup> | ----               | 0.693 <sup>2</sup> | 0.802 <sup>2</sup> | 0.532 <sup>2</sup> |
| X     | 0.592 <sup>2</sup> | 0.324              | 0.503 <sup>2</sup> | 0.279              | 0.365 <sup>1</sup> | -0.096   | 0.415 <sup>1</sup> | 0.393 <sup>1</sup> | 0.324              | 0.470 <sup>2</sup> | 0.416 <sup>1</sup> | 0.701 <sup>2</sup> | 0.460 <sup>2</sup> | 0.673 <sup>2</sup> | 0.416 <sup>1</sup> |

<sup>1</sup>P < 0.05, <sup>2</sup>P < 0.001 ---- Monomórfico

**Tabla 4.** Estadísticos F de Wright (Weir y Cockerham, 1984) para todos los loci analizados. La significancia por locus se calculó mediante una Chi-cuadrada y las totales con intervalos de confianza mediante "Bootstrap" con el programa TFPGA. Se incluye el promedio y el intervalo de confianza (IC) al 95%. El flujo génico se calculó a partir de  $\theta$  según la fórmula de Wright corregida por Crow y Aoki (1987).

| Locus                | f                         | F                         | $\theta$                  | Nm     |
|----------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|--------|
| LAP                  | 0.3024 <sup>1</sup>       | 0.3555 <sup>1</sup>       | 0.0762 <sup>1</sup>       | 3.0308 |
| PGI-2                | 0.6438 <sup>1</sup>       | 0.6100 <sup>1</sup>       | 0.0221 <sup>1</sup>       | 11.062 |
| AcPH-2               | 0.1782 <sup>1</sup>       | 0.3332 <sup>1</sup>       | 0.1887 <sup>1</sup>       | 1.0748 |
| RUB                  | -0.1666                   | -0.0001                   | 0.1427                    | 1.5019 |
| MDH                  | 0.5433 <sup>1</sup>       | 0.5959 <sup>1</sup>       | 0.1152 <sup>1</sup>       | 1.9201 |
| ME                   | 0.6460 <sup>1</sup>       | 0.7940 <sup>1</sup>       | 0.4180 <sup>1</sup>       | 0.3480 |
| Promedio<br>(IC 95%) | 0.3873<br>(0.2460-0.5966) | 0.4966<br>(0.3483-0.7106) | 0.1785<br>(0.0762-0.3174) | 1.1506 |
| X Sonora<br>(IC 95%) | 0.3035<br>(0.1696-0.4864) | 0.3923<br>(0.3102-0.5506) | 0.1275<br>(0.0512-0.2314) | 1.7108 |
| X Baja<br>(IC 95%)   | 0.5238<br>(0.4138-0.6899) | 0.6450<br>(0.5136-0.8086) | 0.2544<br>(0.1079-0.4072) | 0.7327 |
| X Islas<br>(IC 95%)  | 0.3696<br>(0.1431-0.6515) | 0.4612<br>(0.1621-0.7463) | 0.1454<br>(0.0101-0.3136) | 1.4693 |

<sup>1</sup>P < 0.001 Intervalo de confianza calculado mediante Bootstrap al 95%



**Figura 6.** Estadísticos  $F$  de Wright (Weir y Cokerham, 1984) por región y total. Las desviaciones estándar (barras) se calcularon mediante Jaknife con el programa TFPGA.

### Medidas de diversidad para especies clonales

Dado que no todos los genotipos multilocus detectados fueron únicos y muchos de ellos se repetían en las poblaciones, lo cual es poco probable para organismos con reproducción exclusivamente sexual y dioicos, se evaluó la posibilidad de reproducción clonal en la especie. Para ello se estimó la diversidad genotípica de *B. microphylla* mediante dos medidas de diversidad para especies clonales (Tabla 5). Se observó un promedio de 25.8 genotipos multiloci distintos por población (rango de 13-44), y 802 posibles (108-2,916). En promedio los genotipos se encuentran distribuidos uniformemente dentro de poblaciones, es decir, no hay ninguno dominante ( $D = 0.9148$ ), aunque para las poblaciones de Abulón y Pta. Cirios si parece haber dominancia de algunos clones (Tabla 5). La misma tendencia se observa para el valor promedio de  $G/N$  (0.518, rango 0.26-0.88) (Tabla 6). Se observaron 170 genotipos distintos para todas las poblaciones (no se repiten en ninguna

población), de un total de 12,150 posibles para 5 loci polimórficos y 15 alelos. Se repiten un total de 530 genotipos entre las poblaciones.

Para determinar si el número de loci polimórficos analizados por población tenía relación con el número de genotipos multiloci únicos, se utilizó el coeficiente de correlación de Kendall ( $\tau$ ) (Menken, et al. 1995). La correlación fue significativa ( $\tau = 0.7106$ ,  $P < .0017$ ). La correlación también fue significativa entre el número de loci polimórficos y la diversidad  $D$  ( $\tau = 0.6184$ ,  $P < 0.0046$ ). Esto se observa claramente en las poblaciones de Abulón y Punta Cirios, que tienen los menores niveles de  $H_e$  y  $P$ , y los valores menores de  $D$ ,  $G$  y  $G/N$ ; lo contrario sucede para la población de Bahía Kino.

**Tabla 5.** Medidas de variación génica para especies clonales.  $G$  es el número de genotipos distintos observados;  $D$  es el índice de diversidad;  $G/N$  es la tasa de descubrimiento genotípica.  $N_g$  es el número de genotipos distintos posibles.

| Población             | G       | $N_g$       | D             | G/N         |
|-----------------------|---------|-------------|---------------|-------------|
| 1. SAN CARLOS         | 20      | 270         | 0.9184        | 0.40        |
| 2. BAHIA KINO         | 44      | 2,916       | 0.9951        | 0.88        |
| 3. PUNTA CIRIOS       | 15      | 162         | 0.7710        | 0.30        |
| 4. HERMOSILLO         | 27      | 810         | 0.9586        | 0.51        |
| 5. QUITOBAC           | 29      | 486         | 0.9553        | 0.57        |
| 6. PINACATE           | 21      | 486         | 0.9159        | 0.42        |
| 7. ISLA TIBURON       | 36      | 2,430       | 0.9836        | 0.72        |
| 8. ISLA SN ESTEBAN    | 25      | 324         | 0.9421        | 0.50        |
| 9. ISLA SN LORENZO    | 21      | 486         | 0.9424        | 0.42        |
| 10. RUMOROSA          | 32      | 810         | 0.9770        | 0.64        |
| 11. BAHIA LOS ANGELES | 16      | 972         | 0.8627        | 0.37        |
| 12. ABULON            | 13      | 108         | 0.6947        | 0.26        |
| 13. LORETO            | 28      | 486         | 0.9054        | 0.56        |
| 14. SAN BARTOLO       | 35      | 486         | 0.9853        | 0.70        |
| Promedio              | 25.8    | 802         | 0.9148        | 0.518       |
| (rango)               | (13-44) | (108-2,916) | (0.695-0.995) | (0.26-0.88) |

### Flujo génico

El valor de  $Nm$  calculado (usando la corrección de Crow y Aoki, 1984) a partir de la  $F_{st}$  promedio estimada con el método de Weir y Cockerham es de 1.1506 (Tabla 7). Por locus la mayor cantidad de flujo entre poblaciones es el de la PGI-2 ( $Nm = 11.062$ ) y el menor el de la ME ( $Nm = 0.3480$ ). Existe mayor flujo génico entre las poblaciones de Sonora y las

Islas ( $Nm$  de 1.7108 y 1.4693, respectivamente) que entre las de Baja California (0.7327). El valor de  $Nm$  obtenido mediante el método de alelos raros fue de -1.653.

### Aislamiento por distancia

La regresión lineal del flujo génico entre pares de poblaciones estimado por  $\hat{M}$  y su distancia geográfica se muestra en la Figura 7. El valor de la pendiente para el total de las poblaciones resultó ser ligeramente positiva ( $m = 0.2205$ ), mientras que la  $r^2$  obtenida fue baja (0.0239), es decir, la distancia explica solo el 2.29% de la varianza en flujo génico. La prueba de Mantel muestra que no existe relación significativa entre  $\hat{M}$  y la distancia geográfica ( $p = 0.0930$  a  $0.9080$ ,  $r = 0.1504$ ) Estos resultados sugieren que no existe aislamiento por distancia. Tampoco se detectó un patrón de aislamiento por distancia al analizar los datos por regiones (no se muestran los resultados). Tampoco se detectó un patrón de aislamiento cuando se realizó el análisis suponiendo que el flujo génico se da sólo por vía terrestre o a través de las islas del Golfo (no se muestran los datos).

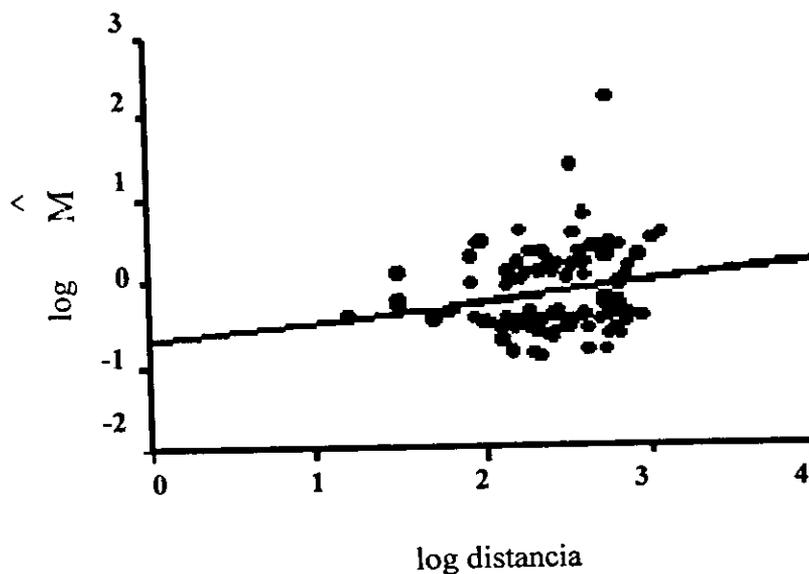
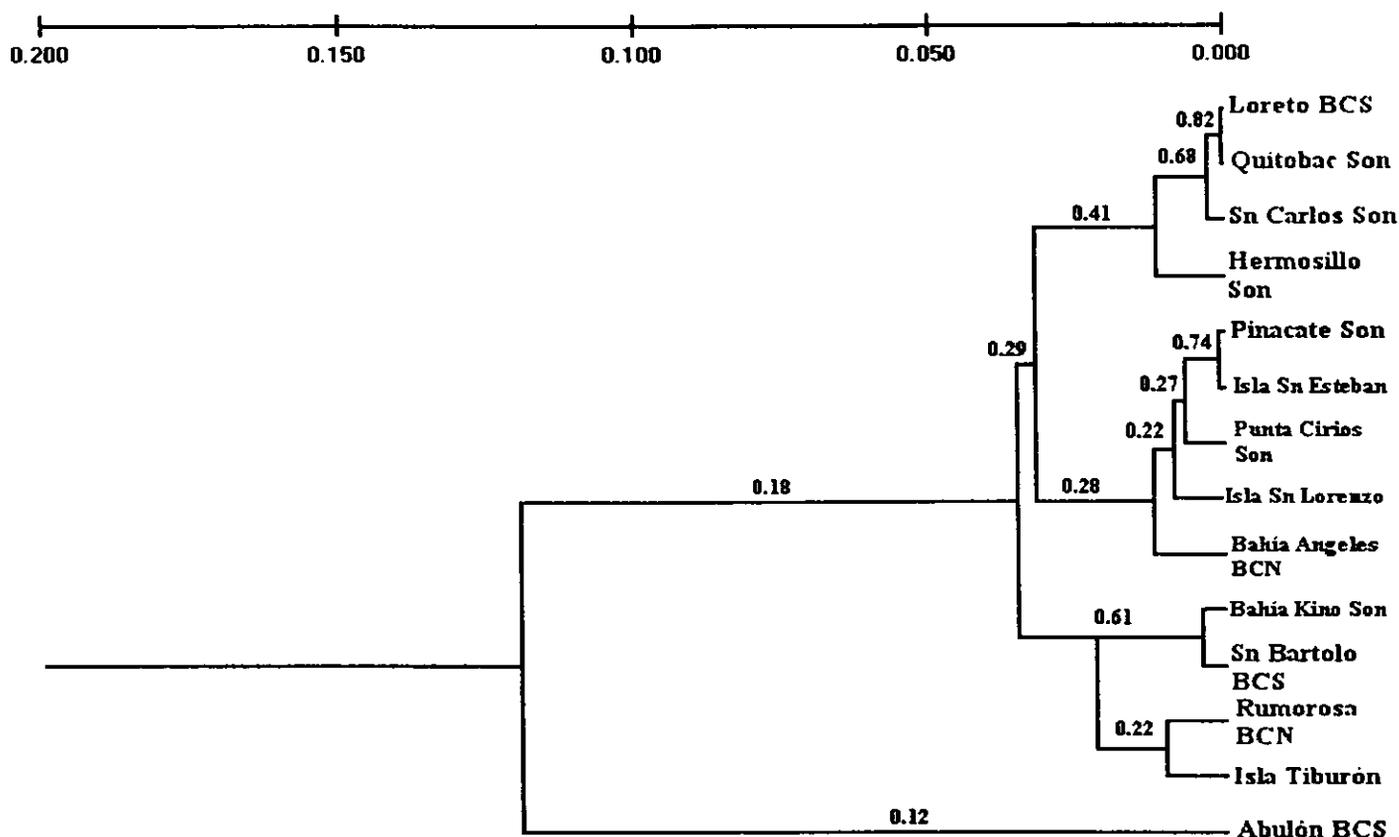


Figura 7. Regresión lineal de  $\log \hat{M}$  contra  $\log$  distancia geográfica para pares de poblaciones de *B. microphylla* en el Desierto Sonorense ( $m = 0.2205$ ,  $r^2 = 0.0239$ ).

## Distancias genéticas

El promedio de las distancias ( $D$ ) genéticas de Nei para todas las poblaciones fue de 0.0500 ( $I = 0.9500$ ). El valor más alto corresponde a la distancia entre las poblaciones de Loreto y Abulón, ( $D = 0.2233$ ), y el menor se da entre las poblaciones de Loreto y Quitobac ( $D = .0002$ ). Se obtuvo el fenograma utilizando el algoritmo de UPGMA a partir de las distancias genéticas insesgadas de Nei de 1978 (Figura 8). No se encontró un patrón geográfico en las distancias genéticas, pues quedan mezcladas poblaciones de Sonora, Baja California y las Islas.



**Figura 6.** Fenograma de relaciones genéticas entre poblaciones de *B. microphylla* construido con datos de distancia genética (Nei, 1978, barra superior) usando el procedimiento UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean, Felsestein, 1993) Los números sobre las líneas representan la proporción de replicas similares.

## DISCUSION

La falta de concordancia entre la distribución geográfica y la diferenciación genética entre poblaciones, unido a una alta endogamia y valores de  $\approx$  relativamente altos, sugieren que la deriva génica ha sido la fuerza evolutiva fundamental en la evolución de las poblaciones de *B. microphylla* en el Desierto Sonorense. Cabe resaltar que la diferenciación genética entre poblaciones es mayor entre las poblaciones ubicadas en la Península de Baja California que entre las de las de Sonora e Islas del mar de Cortéz. Sin embargo, los niveles de variación genética son cuando menos tan altos como los promedios en plantas con características semejantes de historia de vida y para especies del Desierto Sonorense. Lo anterior indica que la variación genética se distribuye tanto dentro como entre poblaciones. Este mismo patrón se observa en *Rizophora mangle* (Núñez-Farfán et al. 1996).

### Variabilidad genética

Al comparar la variación genética de *B. microphylla* con la de plantas con características semejantes de historia vida, como árboles dioicos leñosos perennes ( $P = 64.7$ ,  $H_e = 0.177$ ), se encontró que los valores son semejantes, incluso comparados con los de especies de distribución amplia ( $P = 58.9$ ,  $H_e = 0.202$ ; Hamrick y Godt, 1990). Los valores de diversidad para varias especies perennes del desierto Sonorense son similares a los encontrados para *B. microphylla* (Tabla 6). Los niveles de variación genética encontrados son semejantes a lo que se reporta para especies que se entrecruzan ( $P = 50.1$ ,  $H_e = 0.167$ ; Hamrick y Godt, 1990) que es el caso de *B. microphylla* por ser dioica. La variación genética encontrada para *B. microphylla* es menor a la de *B. hindsiana* (Tabla 6) y a la reportada para *B. cuneata* ( $P = 71.4$ ,  $H_e = 0.299$ ; Del Valle, 1996). Los niveles de variación en las poblaciones de las islas fueron similares a los de las poblaciones continentales (Tabla 2), quizá por estar estas muy cerca de las costas.

**Tabla 6.** Valores de variación genética para 11 especies perennes del Desierto Sonorense. *H* es la heterocigosis esperada bajo Hardy-Weinberg; *P* es la proporción de loci polimórficos, *A* es el número de alelos por locus y *N* es el número de loci analizados (Valores obtenidos de Schuster et al. 1994; para *Lophocereus* de Parker y Hamrick, 1992).

| Especies                        | N    | A    | P (%) | H      | Estudio                |
|---------------------------------|------|------|-------|--------|------------------------|
| <i>Encelia farinosa</i>         | 21   | 2.28 | 78.9  | 0.210  | Schuster et al. 1994   |
| <i>Larrea tridentata</i>        | 20   | 1.80 | 50.0  | 0.134  | Schuster et al. 1994   |
| <i>Gutierrezia microcephala</i> | 15   | 2.00 | 60.0  | 0.180  | Schuster et al. 1994   |
| <i>Coleogyne ramosissima</i>    | 23   | 2.00 | 78.9  | 0.168  | Schuster et al. 1994   |
| <i>Lophocereus schottii</i>     | 8    | 1.55 | 34.4  | 0.126  | Parker y Hamrick, 1992 |
| <i>Agave subsimplex</i>         | ---- | ---- | 78.6* | 0.142* | Navarro, 1999          |
| <i>Agave cerulata</i>           | ---- | ---- | 77.6* | 0.181* | Navarro, 1999          |
| <i>Agave deserti</i>            | ---- | ---- | 80.9* | 0.196* | Navarro, 1999          |
| <i>Stenocereus gummosus</i>     | 11   | 1.96 | 75.0  | 0.261  | Clark, 1999            |
| <i>Stenocereus eruca</i>        | 8    | 1.48 | 46    | 0.154  | Clark, 1999            |
| <i>Bursera hindsiana</i>        | 10   | 2.50 | 90.9  | 0.297  | Vargas, 1999           |
| <i>Bursera microphylla</i>      | 8    | 1.83 | 51.8  | 0.183  | Este estudio           |

\* Valores obtenidos con RAPD's

El sistema de cruzamiento podría estar jugando un papel esencial en la determinación de los niveles de variación encontrados, ya que, en general, las especies que se entrecruzan presentan niveles de variación mayores a las que se autofecundan (Hamrick y Godt, 1998). Esto es congruente con los datos de variabilidad encontrados para *B. microphylla*, que hasta donde se sabe, es una especie dioica (Rzedowsky y Kruse, 1979), sin embargo, como se discutirá mas adelante, podría presentarse alguna forma de reproducción asexual. El mecanismo de dispersión de semillas también es relevante en los niveles de variación genética. El principal consumidor de semillas de *B. microphylla* es el ave migratoria *Vireo vicinor*, que podría mover semillas a distancias considerables. Esto concuerda con los valores reportados para especies con dispersión por ingestión de animales ( $P = 45.7$ ,  $H_e = 0.176$ ; Hamrick y Godt, 1990). También podría haber relación entre los niveles de variabilidad y las condiciones xéricas, como se ha observado para especies de zonas áridas (Nevo y Beiles, 1989). Aunque en este estudio no se consideraron aspectos ambientales, podría pensarse que en las poblaciones de las zonas más áridas (las más norteñas, ubicadas en el Pinacate y la Rumorosa) se detectaría mayor variación. Sin embargo este no parece el caso, pues no se encontró ningún patrón geográfico en los niveles de variación. Mas adelante se discutirán los efectos de eventos históricos en los niveles de variación.

## Endogamia y clonalidad

En 10 de 14 poblaciones, los índices de fijación ( $F$ ) se encuentran fuera del equilibrio de Hardy-Weinberg por deficiencia de heterocigos. También la  $f (F_{is})$  y  $F (F_{it})$  promedio presentan un valor alto (0.3873 y 0.4966), sugiriendo un alto nivel de endogamia dentro de y para el total de las poblaciones.

El sistema de apareamiento es un factor determinante en la estructura genética, y también en los niveles de endogamia. Se sabe que la mayoría de las especies del género *Bursera* son dioicas (Rzedowski y Cruse, 1979), por lo que la endogamia se estaría produciendo por cruzamiento entre parientes. Sin embargo, observaciones recientes sugieren que existe una gran variación en los sistemas de cruzamiento para el género *Bursera*, sobre todo al nivel de especies (Becerra y Venable, 1999 en prensa), aunque esto no ha sido documentado. Existen reportes para distintas especies del género que van desde poblaciones completamente compuestas por hembras (probablemente agamospérmicas), otras por machos, hembras e individuos andromonóicos hasta hermafroditas (Becerra y Venable, 1999 en prensa). Al analizar los datos, se encontró que una gran cantidad de genotipos multilocus eran iguales en las poblaciones, lo cual es muy poco probable en organismos con reproducción totalmente sexual. Tanto los altos niveles de endogamia como el reducido número de genotipos multiloci únicos, sugieren que podría existir apomixis en la especie.

Para establecer si la diversidad genotípica encontrada para *B. microphylla* es similar a la reportada para especies apomícticas, se calcularon dos índices de diversidad genotípica. Los valores de diversidad obtenidos para *B. microphylla* son mayores que para otras especies agamospérmicas (Tabla 7). Cabe resaltar que los valores presentados son todos de la familia *Asteraceae*, y fueron calculados para poblaciones predominantemente apomícticas. Sin embargo nuestros valores son semejantes a los reportados para otras especies clonales no necesariamente agamospérmicas (Ellstrand y Roose, 1987; Ayres y Ryan, 1997; Mayes et al. 1998; R. Clark, en preparación). Los valores de diversidad genotípica por población (Tabla 5) muestran también valores similares a los de especies clonales. En promedio, se detectaron 25.8 genotipos multiloci únicos por población, lo que

indica que, en promedio, la mitad de genotipos por población son clones. Esto se observa en el valor de la tasa de descubrimiento genotípico  $G/N$  promedio, que es de 0.518. Esto significa que la probabilidad de muestrear genotipos distintos en una población es del 50%. Hay poblaciones en la que esta tasa es muy baja, como en Abulón (0.26), lo que indica un alto nivel de clonalidad. En cambio, en Bahía Kino la probabilidad de encontrar genotipos distintos es de 88%.

Es importante destacar que, entre mayor sea el número de loci polimórficos utilizados, se obtiene mejor resolución en las estimaciones de diversidad clonal. En este caso, se encontró una relación positiva entre el número de loci analizados y el de genotipos únicos por población, pues la población con mayor número de polimorfismos (Bahía Kino) fue en la que se detectó mayor cantidad de genotipos. En la de Abulón, por el contrario, se detectaron solo 13 genotipos, ya que es la de menor número de loci polimórficos (3).

**Tabla 7.** Diversidad genotípica para especies agamospérmicas.  $N$  es el tamaño de muestra (poblaciones- individuos);  $G$  es el total de genotipos distintos y  $D$  es el índice de diversidad (datos en Ellstrand y Roose, 1987, excepto para *E. compositus* y *Taraxacum s Ruderalia*).

| Especie                         | N      | G   | G/N              | D                | Referencia               |
|---------------------------------|--------|-----|------------------|------------------|--------------------------|
| <i>Erigeron annuus</i>          | 3-300  | 17  | 0.06             | 0.87 (0.85-0.87) | Hancock y Wilson, 1976   |
| <i>Taraxacum obliquum</i>       | 2-64   | 1   | 0.02             | ----             | Van Oostrum, et al. 1985 |
| <i>Taraxacum officinale</i> (A) | 3-284  | 4   | 0.01             | 0.47 (0.36-0.57) | Solbrig y Simpson, 1974  |
| <i>Taraxacum officinale</i> (B) | 22-518 | 50  | 0.10             | 0.57 (0.17-0.89) | Lyman y Ellstrand, 1984  |
| <i>Taraxacum officinale</i> (C) | 1-177  | 20  | 0.11             | 0.85             | Nilsson, 1947            |
| <i>Taraxacum tortilobum</i>     | 20-334 | 15  | 0.04             | 0.56 (0.29-0.90) | Van Oostrum et al. 1985  |
| <i>Taraxacum s Ruderalia</i>    | 11-374 | 57  | 0.41 (0.19-0.55) | 0.82 (0.71-0.89) | Menken et al. 1995       |
| <i>Erigeron compositus</i>      | 7-230  | 24  | 0.10 (0.03-0.31) | 0.48 (0-0.870)   | Noyes y Soltis, 1996     |
| <i>Bursera microphylla</i>      | 14-700 | 170 | 0.52 (0.26-0.88) | 0.93 (0.69-0.99) | Presente trabajo         |

El que los valores de diversidad genotípica promedio y por población sean similares al de otras plantas clonales, sugiere que podrían existir ciertos niveles de apomixis en las poblaciones de *B. microphylla*. Este fenómeno se observó para la especie dioica *Antenaria media*, para la que se encontró una población con predominio de plantas “hembra” casi totalmente apomícticas (apomixis “obligada”), algunos individuos con apomixis parcial (apomixis “facultativa”) y algunos estrictamente “sexuales” (anfimícticos). Para una segunda subpoblación de *Antenaria*, con proporciones de machos y hembras parecidas, se encontraron principalmente plantas anfimícticas, algunas apomícticas obligadas y ninguna apomíctica facultativa (Bayer et al. 1990).

Una aproximación para probar la existencia de apomixis en las poblaciones de *B. microphylla* sería analizar los genotipos de la progenie con respecto a la planta madre. Para ello sería necesario coleccionar tejido foliar y semillas de “plantas madre” para generar plántulas y comparar los genotipos entre madres y progenie. Si la forma predominante de reproducción fuera sexual, se esperaría encontrar genotipos distintos entre la progenie, resultado de la recombinación. Si la apomixis fuera predominante, los genotipos serían iguales al de la madre. Otra manera de estimar la existencia de apomixis sería realizando tratamientos de exclusión directamente en el campo. Para ello se aislarían las flores femeninas del contacto con cualquier posible polinizador (cubriendo la flor con una malla) y registrando si se producen semillas y/o frutos y en que proporción. Los tratamientos de exclusión pueden afectar, por la manipulación en sí o por errores, la producción de frutos y semillas, por lo que lo ideal sería combinar ambos métodos. Adicionalmente se podría contar el número cromosómico en distintas poblaciones, pues la apomixis por lo general se presenta en plantas poliploides (Menken, et al. 1995; Bayer et al. 1990).

En el estudio comparativo realizado por Noyes y Soltis (1996) de la estructura y variabilidad genética entre poblaciones predominantemente agamospérmicas y sexuales de *Erigeron compositus*, los valores de variabilidad genética ( $P$ ,  $H_e$ ,  $N_a$ ) fueron similares entre las poblaciones sexuales y asexuales, y las principales diferencias se observaron en la estructura poblacional, sobre todo en los niveles de heterocigosis observada. Para evaluar si en este caso la clonalidad afecta la estructura genética (niveles de endogamia y diferenciación) se eliminaron de la base de datos los genotipos “repetidos” dentro de poblaciones y se calcularon nuevamente los estadísticos  $F$  de Wright y los estimadores de variación genética. El promedio de  $H_e$  y  $H_o$  para todas las poblaciones fue más alto (0.231 y 0.141, respectivamente), en tanto el promedio de loci polimórficos y alelos por locus fue igual. Esto indica que los genotipos repetidos podrían ser en su mayoría homocigos. Es de destacar que los coeficientes de endogamia dentro de poblaciones ( $f$ ) y entre poblaciones ( $F$ ) no fueron muy distintos, presentando valores promedio para todas las poblaciones de 0.3801 y 0.4513, respectivamente. Esto sería un indicio de que la posible existencia de apomixis no contribuiría en gran medida al exceso de homocigosis en las poblaciones. La

diferenciación genética en cambio, disminuyó a la mitad ( $\theta = 0.0891$ ). Esto podría deberse a que, al eliminar genotipos repetidos, las diferencias en las frecuencias alélicas entre poblaciones disminuyen considerablemente (al igual que el tamaño de muestra).

La endogamia podría deberse a varias causas: tamaños efectivos de población ( $N_e$ ) pequeños (Ellstrand y Elam, 1993, Nunney, 1995), efecto Wahlund o de subdivisión (Futuyma, 1998; Hartl y Clark, 1989), apareamiento preferencial positivo (entre genotipos similares) o selección a favor de homócigos. Si la densidad de individuos reproductivos es baja, se promueve la cruce entre parientes por disminución de  $N_e$ . Este fenómeno se ha observado en plantas con baja dispersión de semillas (i.e. por gravedad, Foster y Sork, 1997), pues individuos emparentados quedan muy cerca unos de otros (subdivisión). Este no parecería ser el caso para *B. microphylla*, pues sus semillas son dispersadas por el vireo gris (*Vireo vicinor*) que tiene gran capacidad de desplazamiento. Otra posible causa de subdivisión es el poco movimiento de polen, lo cual podría ser el caso de *B. microphylla*, pues sus polinizadores (abejas solitarias, Turner et al. 1995) tienen poca capacidad de desplazamiento, por lo que el flujo de polen sería bajo. El apareamiento preferencial se ha observado en especies que presentan distintos tipos florales controlados genéticamente, como *Primula vulgaris* (Hedrick, 1985), en la que los individuos con flores de estigma alto y anteras pequeñas (*Pin*) solo se entrecruzan con individuos tipo *Thrum*, y los individuos tipo *Thrum* (anteras altas y estigma pequeño) con plantas *Pin*. Esto sería muy difícil de detectar para *B. microphylla*, pues sus flores son muy pequeñas y no existen estudios de su biología reproductiva. También podría pensarse en efectos de cuello de botella o efecto fundador (eventos históricos de extinción-recolonización), aunque no se observan niveles bajos de variabilidad genética.

### **Diferenciación y flujo génicos**

Por otro lado, la diferenciación genética encontrada para las poblaciones de *B. microphylla* ( $\theta = 0.1785$ ) es mayor al promedio reportado para plantas leñosas perennes (0.076); menor que el de plantas con distribución regional o amplia (0.216 y 0.210, respectivamente) y similar al promedio para plantas que se entrecruzan (0.197) (Hamrick y

Godt, 1990, 1998). La diferenciación genética entre poblaciones es mayor para *B. microphylla* que para *B. cuenata* y similar a la de *B. hindsiana* ( $F_{st} = 0.119$  y  $F_{st} = 0.162$ , respectivamente) (Vargas, J. en prep; Del Valle, 1996).

Sin embargo, como se observa en el fenograma de distancias genéticas, no existe un patrón geográfico de agrupación de las poblaciones, y por lo tanto se puede inferir que la diferenciación no se da como resultado de la distancia. Esto se confirma por la ausencia de un patrón de aislamiento por distancia. Esto concuerda con el valor de  $Nm$  promedio, que es de 1.1404, que al ser mayor que 1, podría estar contrarrestando la diferenciación. Cabe destacar que este valor está muy cerca del valor umbral de  $Nm$ . Si este es menor que uno, se esperaría más diferenciación por efecto de la deriva génica, y si es mayor se esperaría menos diferenciación. La ausencia de aislamiento por distancia indica que las poblaciones están fuera del equilibrio entre deriva génica y migración (Slatkin, 1993), ya sea por eventos históricos, como expansiones recientes en su rango de distribución o a que el flujo génico es suficientemente grande, incluso entre poblaciones muy alejadas, como para disminuir la diferenciación.

El flujo génico en plantas puede darse por dos vías: el polen y las semillas. Los polinizadores más probables de *B. microphylla*, por el tipo de flores que presenta, son abejas y pequeñas moscas, cuya capacidad de desplazamiento es limitada. Se sabe que los vireos grises (*Vireo vicinor*) se alimentan casi exclusivamente de los frutos de *B. microphylla* durante los meses de invierno (Bates, 1987). Siendo una especie migratoria, podría dispersar semillas a distancias considerables y a través de las islas del mar de Cortéz. Además puede pensarse que con un patrón de dispersión tan amplio, el flujo génico puede darse no sólo en una o dos dimensiones (*stepping stone model*, que supone flujo sólo entre poblaciones adyacentes), sino de manera más compleja y entre poblaciones distantes. El uso de marcadores moleculares de herencia materna, como el DNA de cloroplasto (cpDNA), permitiría establecer más claramente la importancia relativa de semillas vs. polen en el flujo génico (Comes y Abbott, 1998). Si efectivamente el flujo génico se está dando vía semillas, se esperaría encontrar menor diferenciación para el cpDNA que para los genes nucleares (isoenzimas) de herencia biparental.

Es de resaltar que se observaron diferencias significativas en la estructura poblacional entre las poblaciones de Sonora y Baja California. La endogamia es más alta en Baja California ( $f = 0.5238$ ;  $F = 0.6450$ ) que en Sonora ( $f = 0.3035$ ;  $F = 0.3923$ ). También la diferenciación entre poblaciones es mayor para Baja California ( $\theta = 0.2544$ ) que en Sonora ( $\theta = 0.1275$ ). Esto indica que en Baja California existe más endogamia y diferenciación, tal vez por falta de algún polinizador, menor dispersión, tamaños efectivos más pequeños o diferencias selectivas (selección a favor de homócigos) con respecto a Sonora. Harían falta estudios ecológicos y de biología reproductiva para establecer claramente las causas de este patrón en la estructura genética, como la presencia o ausencia de los polinizadores y la demografía de las poblaciones. También podría pensarse que las poblaciones de la Península son producto de eventos de fundador, pero no se observaron niveles menores de variación genética con respecto a las poblaciones de Sonora y las Islas.

La deriva génica podría tener mayor impacto en los niveles de diferenciación de las poblaciones de Baja California que en las de Sonora e Islas. Al parecer los niveles de flujo génico son altos (los promedios para todas las poblaciones), aún entre poblaciones muy alejadas, lo que estaría contrarrestando el efecto de la deriva. También podría pensarse que los niveles de selección son distintos entre Sonora y Baja, y que las adaptaciones locales a distintos ambientes causarían distintos niveles de diferenciación. A nivel morfológico, se observó que los individuos de las zonas más áridas (El Pinacate, Rumorosa) son pequeños arbustos y los folíolos son muy pequeños, mientras que en el sur de la Península de Baja California (sierra de la Laguna), alcanzan alturas hasta de 10 m y presentan folíolos más grandes. En el estudio de Mooney y Emboden (1968) se detectaron grupos de poblaciones según la morfología de folíolos y corteza (longitud y ancho de folíolos, tamaño de las lenticelas, color de la corteza) que parecen deberse a adaptaciones a condiciones ambientales similares. Esto podría ser válido también para las diferencias que encontraron en los niveles y composición de terpenos entre poblaciones de Sonora y Baja California. Para determinar si la mayor diferenciación poblacional en Baja California se debe a adaptaciones locales, sería necesario conocer el valor adaptativo de los distintos alelos o si existe ligamiento a otros genes con valor adaptativo.

El promedio de las distancias genéticas de Nei ( $D$ ) fue de 0.05, valor propuesto como umbral entre subespecies y variedades (Nei, 1987). Debajo de este valor se puede hablar de variedades. Por ejemplo, el valor promedio de  $D$  para tres subespecies de *Agave* en el Desierto Sonorense fue de 0.0245. Sin embargo, existen otros reportes que muestran niveles altos de  $D$  en plantas, como el de *Agave subsimplex* ( $D= 0.41$ ; Salas-Benito en Navarro, 1999), y el de *Bursera hindsiana*, cuyo valor promedio de  $D$  es de 0.092 (Vargas 1999). La  $D$  máxima entre las poblaciones de *B. microphylla* fue de 0.2233, mientras que para los *Agaves* del Desierto Sonorense fue de .0414 (Navarro, 1999) y para *B. hindsiana* de 0.245 (Vargas, 1999). Esto refuerza la idea de que la deriva génica ha sido un factor muy importante en los procesos de divergencia genética entre poblaciones de *B. microphylla*.

### **Origen de *B. microphylla***

La otra posibilidad para explicar los niveles de flujo génico y los distintos niveles de diferenciación entre poblaciones de Sonora y Baja California, es que la divergencia de las poblaciones a partir de una población ancestral haya ocurrido hace poco tiempo, o que haya experimentado expansiones recientes en su rango de distribución (eventos de extinción-recolonización). El Golfo de California existe como barrera geográfica al menos hace 4.5 m.a. (Atwater, 1970), y las transgresiones marinas comenzaron hace 12 – 15 m.a (Karig y Jensky, 1972), por lo que es posible que las poblaciones de *B. microphylla* de la península y de Sonora hayan estado aisladas por un largo periodo de tiempo. Es también durante este intervalo de tiempo que surge la vegetación desértica en Norteamérica, que estaba ya establecida hace 5 m.a. (Van Devender, 1998). Considerando que la duración promedio de fósiles de plantas en los horizontes geológicos es de 3.5 m.a. (Niklas, 1997), podría pensarse que *B. microphylla* se originó con los cambios climáticos que dieron lugar al Desierto Sonorense y cuando ya existía el Golfo de California.

Las poblaciones peninsulares y las continentales presentan diferencias significativas en la composición de terpenos (Mooney y Emboden, 1968), existiendo mayor variedad de estos en la población de Guaymas, y, en general, menor en las poblaciones de Baja California

respecto a las de Sonora. Además, las semejanzas en la cantidad y tipo de terpenos fueron más grandes en sentido norte – sur (e.g. norte con sur de Sonora) que este – oeste (e.g. Sta. Rosalia – Guaymas), a pesar de que las distancias geográficas este – oeste son menores. Esto sugiere un largo periodo de separación y ausencia de migración a través de las islas del mar de Cortéz (Mooney y Emboden, 1968), y el posible origen continental de la especie y su posterior migración a la península (Johnsossn, 1992).

Sin embargo, tanto el fenograma de distancias genéticas como la ausencia de un patrón de aislamiento por distancia, sugieren un escenario distinto. Es posible que eventos históricos más recientes hayan “borrado” la diferenciación genética y el aislamiento causado por la barrera del Golfo de California. Estudios de paleovegetación en la zona indican que la vegetación desértica se estableció hace alrededor de 17 – 7 m.a. (Martínez y Ramírez, 1996; Van Devender, 1998), ya con el Golfo como barrera. Sin embargo, en los últimos 20,000 años ha habido fluctuaciones climáticas y del tipo de vegetación en la zona debidas a los periodos glaciales e interglaciales. Para estos periodos se tienen registros muy completos para la zona norte del desierto de Vizcaíno y para Cataviña, y muestran que durante cada uno de los 15 – 20 periodos glaciales - interglaciales del Pleistoceno se sucedieron secuencias similares de pinos – juniperos – encinos- bosque abierto / chaparral; juniperos – encinos chaparral y matorral xerófilo Vizcaíno – Sonorense (Van Devender, 1997). Siendo *B. microphylla* una especie de ambientes muy secos y calientes, es posible que durante los periodos fríos de vegetación tipo pino – encino, quedara restringida a zonas bajas más cálidas, como chaparrales y matorrales xerófilos. Además, durante los periodos fríos, en el cuaternario, hubo drásticos descensos en el nivel del mar (de 100-130 m) debido al crecimiento de los casquetes polares (Lowe y Walker, 1984), dejando descubiertas grandes extensiones costeras poco profundas, sobre todo en la parte norte del golfo y de la costa de Sonora y Baja California (Calmus, com.pers.). En este escenario, las extensas zonas bajas servirían como refugio de poblaciones grandes, además de establecerse puentes entre el continente y las islas cercanas que permitirían mucho flujo génico.

Incluso en los últimos 10,000 años ha habido cambios en la composición de la vegetación, relacionadas con el último periodo glacial. Por ejemplo, la composición de las comunidades

en la región árida del Pinacate (montañas Hornaday), en el Noroeste de Sonora, cambió continuamente desde el glacial tardío al presente (hace 10,000 años), y también en periodos más cortos (Van Devender, et.al, 1990). En general durante el Holoceno hubo gran variabilidad en la composición de comunidades vegetales, reflejando así mismo una gran variabilidad climática. Hace 1,700 años, en esta región, *B. microphylla* reaparece como un importante componente de la vegetación, tras un declive en su abundancia de hace 1,900 años (Van Devender, et.al, 1990); y aparece junto con *Juniperus* en secuencias de 9,700 años. Un patrón de variación semejante se observó para Sierra Bacha, al sur de Puerto Libertad, con cambios constantes en la composición de comunidades durante el Holoceno tardío. En estas localidades, los registros de *B. microphylla* desaparecen alrededor de hace 9,700 años, para reaparecer alrededor de hace 5,400 y aumentando su abundancia hace aproximadamente 2,700 años (Van Devender et al, 1994), aunque en este caso la vegetación es predominantemente desértica durante este lapso de tiempo. Para Baja California, particularmente en la región de Sn. Fernando, también se han registrado grandes cambios en la vegetación desde hace 31,000 años, habiendo registros de *Bursera* desde 19,000 años, coexistiendo con pinos, encinos y cipreses, aumentando su abundancia desde hace 9,000 años aproximadamente, junto con la de especies de matorral xerófilo (Peñalba, C. Com.pers.).

Bajo el escenario propuesto por Mooney y Emboden, e incluso para el más complejo de eventos de extinción-recolonización más recientes, se esperaría encontrar menor variación genética en las poblaciones de Baja California que en las de Sonora, como resultado de eventos de recolonización (efecto fundador) (Broyles, 1998). En estudios de eventos de recolonización por efectos de las glaciaciones, se ha observado mayor variabilidad genética en las poblaciones sureñas (refugios) que en las del norte (Strand et al. 1996; Comes y Abbott, 1998; Broyles, 1998; Laurence, et al. 1997; Parks et al. 1994). Sin embargo, tanto el promedio de loci polimórficos, el número de alelos por locus y la  $H_e$  son esencialmente iguales para las poblaciones peninsulares, insulares y continentales (no se muestran los datos, excepto para  $H_e$ ), y no se encontró un patrón de variabilidad latitudinal norte – sur (no se muestran los datos).

Sin embargo, algunos datos muestran tendencias geográficas en la variabilidad genética. Por ejemplo, para la LAP, el alelo *a* esta presente solamente en las poblaciones de Hermosillo, Sonora, y en las Islas Tiburón y San Lorenzo, en el Mar de Cortéz; el alelo *a* de la ME está fijo para la población de Pta. Cirios, Sonora, mientras que el *b* lo esta para la de Abulón, en Baja California (Figura 4, Apéndice 2). La población de Bahía Kino, Sonora, presentó a su vez el mayor valor de polimorfismo (75%) y de  $H_e$  (0.286), aunque los valores más bajos fueron para una población de Baja California (Abulón) y para una de Sonora (Punta Cirios). Todo lo anterior es compatible con la hipótesis propuesta por Mooney y Emboden. Sin embargo, no existen diferencias significativas en los niveles de variación genética entre regiones. Además la distribución más amplia de la especie en Baja California que en Sonora, permite suponer que *B. microphylla* pudo también haberse originado en la Península y posteriormente migró, primero hacia Sonora y por ultimo a las islas. Podría pensarse también que su ancestro bien podría haber sido una especie de selva baja, pues la punta sur de la península estuvo en contacto con lo que actualmente son Jalisco y Nayarit (Bahía de Banderas), cuya vegetación es de selva baja; y que al surgir la vegetación y clima desérticos, hubiera ocurrido el evento de especiación (alopátrica). Esto es compatible con los datos de paleovegetación citados anteriormente.

El hecho de que las poblaciones insulares no presenten valores significativamente menores de variabilidad genética como se esperaría, podría deberse a la cercanía de las islas a las costas tanto de Baja California como de Sonora, lo cual permitiría la dispersión de semillas por aves, o a que los eventos de fundador ocurrieron hace relativamente poco tiempo e involucraron un gran numero de migrantes. Es posible que por lo reciente de la formación de las islas (hace 2 m.a., Lonsdale, 1989) por eventos tectónicos y transgresiones marinas, la colonización ocurriera hace poco tiempo. Además, al descender el nivel del mar durante los periodos glaciales, estas pudieron quedar en contacto con el continente. Este es el caso para la Isla Tiburón (T. Calmus, com.pers.) que además presenta el mayor valor de numero de alelos por locus (Tabla 2).

Nei, Maruyama y Chakraborty (1975) demostraron que la magnitud de la disminución en la variación genética ( $H_e$  y número de alelos por locus) después de un cuello de botella, puede

no ser muy alta si el número de migrantes es grande y la tasa de crecimiento demográfico de la población fundadora es alto, lo cual podría haber ocurrido considerando que los puentes terrestres entre el continente y la península con las islas y las grandes extensiones de tierras bajas durante los periodos interglaciales podrían haber mantenido grandes fracciones de las poblaciones originales e incrementar el flujo génico.

## CONCLUSIONES

Los niveles de variación genética encontrados para *Bursera microphylla* son similares a los reportados para árboles dioicos perennes y a los de otras especies del Desierto Sonorense. La heterocigosis esperada está dentro del rango de lo reportado para especies que se entrecruzan y que son dispersadas por animales.

Los valores de los índices de fijación muestran que todas las poblaciones, excepto Bahía Kino, Hermosillo, El Pinacate e Isla Sn. Lorenzo, están fuera del equilibrio de Hardy-Weinberg por deficiencia de heterocigos, lo cual, junto con los valores de  $f$  y  $F$ , indica niveles altos de endogamia. Esto, al ser una especie dioica, debiera ser resultado de cruce entre parientes. Harían falta estudios sobre la biología reproductiva y sistema de cruzamiento para determinar las posibles causas de la endogamia.

La fracción de la variación genética repartida entre poblaciones es de alrededor del 18% ( $\theta = 0.1785$ ) que es similar al de plantas con caracteres de historia semejantes. Esta diferenciación no es provocada por factores geográficos, pues no se observa ningún patrón en los grupos formados por distancia/identidad genética.

Para determinar las causas de las diferencias en la estructura poblacional entre Sonora y Baja California serían necesarios estudios demográficos, ecológicos y de biología reproductiva para la especie.

No existe patrón de aislamiento por distancia, lo que sugiere que las poblaciones no están en equilibrio entre deriva y flujo génico. El valor de  $Nm$  es ligeramente mayor que 1, lo cual podría estar rompiendo el aislamiento. También puede deberse a eventos históricos de expansión en la distribución de la especie.

El patrón de colonización de *B. microphylla* hacia la península de Baja California parece ser más complejo del propuesto por Mooney y Emboden. Parece que la penetración a la

península no se dio únicamente por el delta del río Colorado, e incluso pudo ocurrir de la península hacia el continente y también a través de las Islas, pues existe flujo génico a través de las Islas del Golfo y pudo haberse dado por puentes terrestres al disminuir el nivel del mar.

## Referencias

- Affre, L., J.D. Thompson and M. Debussche. 1997. Genetic structure of continental and island populations of the mediterranean endemic *Cyclamen balearicum* (Primulaceae). *Amer. J. Bot.* 84: 437-451
- Atwater, T. 1970. Implications of plate tectonics for the Cenozoic tectonic evolution of western North America. *Geol. Soc. Amer. Bull.* 81: 3513-3536
- Awise, J.C. 1994. *Molecular Markers, Natural History and Evolution*. Chapman and Hall. London, U.K.
- Barrett, S.C.H. and B.C. Husband. 1990. The genetics of plant migration and colonization in Brown, H.D., M.T. Clegg, A.L. Kahler and B.S. Weir (editors) *Plant Population Genetics, Breeding, and Genetic Resources*. Sinauer Associates. USA
- Bates, J.M. 1992. Frugivory on *Bursera microphylla* (Burseraceae) by wintering gray Vireos (*Vireo vicinor*, Vireonidae) in the coastal deserts of Sonora, Mexico. *The Southwestern Naturalist* 37(3): 252-258
- Bayer, R.J., K. Ritland and B.G. Prudy. 1990. Evidence of partial apomixis in *Antennaria media* (Asteraceae: Inuleae) detected by the segregation of genetic markers. *Amer. J. Bot.* 77: 1078-1083
- Becerra, J. X. 1994. Squirt-gun defense in *Bursera* and the Chrysomelid counterploy. *Ecology* 75: 1991-1996
- Becerra, J. X. and D.L. Venable. 1999. Nuclear ribosomal DNA phylogeny and its implications for evolutionary trends in Mexican *Bursera* (Burseraceae). *Amer. J. Bot.* In press.
- Breceda, A., L. Arriaga, and Y. Maya. 1997. Forest resources of the tropical dry forest and riparian communities of Sierra de la Laguna Biosphere reserve, Baja California Sur, Mexico. *Journal of the Arizona-Nevada Academy of Science* 30: 1-16
- Broyles, S.B. 1998. Postglacial migration and the loss of allozyme variation in northern populations of *Asclepias exaltata* (Asclepiadaceae). *Amer. J. Bot.* 85: 1091-1097
- Cheliak, W.M. and J.A. Pitel. 1984. Techniques for starch gel electrophoresis of enzymes from forest tree species. Information report PI-X-42. Detawawa National Forestry Institute
- Clark, R. 1999. En preparación. Estructura genética de poblaciones de *Stenocereus gummosus* y *Stenocereus erucca*, dos Cactáceas columnares clonales del Desierto Sonorense. Tesis de Maestría. Instituto de Ecología UNAM.

- Comes, H.P. and R.J. Abbott. 1998. The relative importance of historical events and gene flow on the population structure of a mediterranean ragwort, *Senecio gallicus* (Asteraceae). *Evolution* 52: 355-367
- Crow, J.F. and M. Kimura. 1970. An Introduction to Populations Genetics Theory. Harper and Row. London, U.K.
- Del Valle, M. 1996. Estructura genética de poblaciones de *Bursera cuneata* (Burseraceae). Tesis de Licenciatura Biología. Facultad de Ciencias, UNAM
- Eguiarte, L.E. 1986. Una guía para principiantes a la genética de poblaciones. En 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* en los Tuxtlas, Veracruz. Tesis Doctoral. Centro de Ecología, UNAM.
- Eguiarte, L.E., A. Búrquez, J. Rodríguez, M. Martínez-Ramos, J. Sarukhán y D. Piñero. 1993. Direct and indirect estimates of neighborhood and effective population size in a tropical palm, *Astrocaryum mexicanum*. *Evolution*: 47: 75-87
- Eldredge, B. and H.A. Lessios. 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
- Ellstrand, N.C. and D.R. Elam. 1993. Population genetic consequences of small population size: Implications for plant consevation. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 24: 217-242
- Ellstrand, N.C. and M.L. Roose. 1987. Patterns of genotypic diversity in clonal plant species. *Amer. J. Bot.* 74: 123-131
- Felger, R.S. and M.B. Moser. 1985. People of the desert and sea- ethnobotany of the Seri Indians. The University of Arizona Press, Tucson, Arizona. 435 pp
- Felsenstein, J. 1993. PHYLIP – Phylogeny inference package. Version 3.5. *Cladistics* 5: 164-166
- Foster, P.F. and V.L. Sork. 1997. Population and genetic structure of the west African rain forest liana *Ancistrocladus korupensis* (Ancistrocladaceae). *Amer. J. Bot.* 84: 1078-1091.
- Frankham, R. 1997. Do island populations have less genetic variation than mainland populations? *Heredity* 78: 311-327
- Futuyma, D.J. 1998. Evolutionary Biology. Sinauer Associates. USA
- Grant, V. 1981. The genetic goal of speciation. *Biol. Zentralblatt* 100: 473-482

- Grant, V. 1991. *The Evolutionary Process*. Columbia University Press. New York. USA
- Hakim-Elahi, A. 1976. Temporal changes in the population structure of the slender wild oat (*Avena barbata*) as measured by allozyme polymorphisms. Ph.D. Dissertation, University of California, Davis
- Hamrick, J.L. and Godt, M.J.W. 1990. Allozyme diversity in plant species *in* Brown, H.D., M.T. Clegg, A.L. Kahler and B.S. Weir (editors) *Plant Population Genetics, Breeding and Genetic Resources*. Sinauer Associates. USA
- Hamrick, J.L. and Godt, M.J.W. 1998. Conservation genetics of endemic plant species *in* *Conservation Genetics*, John C. Avise and J.L. Hamrick, editors. Chapman and Hall. USA
- Hartl, D.L. 1988. *A primer of populations genetics*. Sinauer Associates. USA
- Hartl, D.L. and A.G. Clark. 1989. *Principles of Population Genetics*. Sinauer Associates. USA
- Hedrick, P.W. 1985. *Genetics of Populations*. Jones and Bartlett. USA
- Hossaert-McKey, M., M. Valero, D. Magda, M. Jarry, J. Cuguen and P. Vernet. 1996. The evolving genetic history of a population of *Lathyrus sylvestris*: evidence from temporal and spatial genetic structure. *Evolution* 50: 1808-1821
- Inoue, K. and T. Kawahara. 1990. Allozyme differentiation and genetic structure in island and mainland Japanese populations of *Campanula punctata* (Campanulaceae). *Amer. J. Bot.* 77: 1440-1448
- Johnson, M.B. 1992. The genus *Bursera* (Burseraceae) in Sonora, Mexico and Arizona, U.S.A. *Desert Plants* 10: 126-143
- Karig, D.E. and W.A. Jensky. 1972. The proto-Gulf of California. *Earth and Planetary Science Letters* 17: 169-174
- Karron, J.D. 1987. A comparison of levels of genetic polymorphisms and self-compatibility in geographically restricted and widespread plant congeners. *Evolutionary Ecology* 1: 47-58
- Kohlman B. y S. Sánchez-Colón. 1984. Estudio aereográfico del género *Bursera* en México. *Cactáceas y Suculentas Mexicanas* 29: 27-32
- Laurence A., J.D. Thompson and M. Debussche. 1997. Genetic structure of continental and island populations of the mediterranean endemic *Cyclamen balearicum* (Primulaceae). *Amer. J. Bot.* 84: 437-451
- Lewontin, R.C. 1974. *The Genetic Basis of Evolutionary Change*. Columbia University Press. USA

- Lewontin, R.C. 1985. Population genetics in P.J. Greenwood, P.H. Harvey and M. Slatkin (eds.) *Evolution - Essays in Honour of John Maynard Smith*. Cambridge University Press. UK
- Linhart, Y., and M.C. Grant. 1996. Evolutionary significance of local genetic differentiation in plants. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 27: 237-277
- Lonsdale, P. 1989. Geology and tectonic history of the Gulf of California. In Winterer, E.L., Hussong, D.M. and Decker, R.W. (eds). *The Eastern Pacific Ocean and Hawaii*. Geological Society of America. Boulder, Colorado.
- Loveless, M.D. and J.L. Hamrick. 1984. Ecological determinants of genetic structure in plant populations. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 15: 65-95
- Lowe, J. and M.J.C. Walker. 1984. *Reconstructing Quaternary Environments*. Addison Wesley Longman. U.K.
- Martin, P.S., D. Yetman, M. Fishbein, P. Jenkins, T.R. Van Devender and R.K. Wilson. 1998. *Gentry's Río Mayo Plants*. University of Arizona Press. USA
- Martínez H. E. y Ramírez, E. 1996. Palaeocorología de angiospermas de la flora mexicana durante el Mesozoico y Terciario. Algunas evidencias palinológicas. *Bol. Soc. Bot. México* 58: 87-97
- Mayr, E. 1963. *Populations, Species and Evolution*. The Bellknap Press of Harvard University Press. Cambridge, Massachusetts. USA
- Menken, S.B., E. Smit and H. Den Nijs. 1995. Genetical population structure in plants: gene flow between diploid sexual and triploid asexual dandelions (*Taraxacum* section *Ruderalia*). *Evolution* 49: 1108-1118
- Miller, M.P. 1997. *Tools for Population Genetic Analysis*. A windows program for the analysis of allozyme and molecular population genetic data. Software distributed by author
- Miranda, F. 1947. Estudios sobre la vegetación de México-V. Rasgos de la vegetación en la cuenca del río Balsas. *Rev. Soc. Mex. Hist. Nat.* 8: 95-114
- Mitton, J.B., Y. Linhart, J.L. Hamrick and J.S. Beckman. 1977. Observations on the genetic structure and mating systems of ponderosa pine in the Colorado Front Range. *Theoretical Applied Genetics* 51: 5-13
- Molina-Freaner, F. and S.K. Jain. 1992. Isozyme variation in Californian and Turkish populations of the colonizing species *Trifolium hirtum*. *Journal of Heredity* 83: 423-430

- Mooney, H.A. and W.A. Emboden. 1968. The relationship of terpene composition, morphology and distribution of populations of *Bursera microphylla* (Burseraceae). *Brittonia* 20: 44-51
- Murphy, R.W. 1983 b. The reptiles: origin and evolution. In T.J. Case and M.L. Cody (eds.). *Island Biogeography in the sea of Cortez*. University of California Press, Berkeley, 130-158
- Navarro, A. 1999. Estructura genética y procesos de especiación de *Agave cerulata* (Trel.) y *Agave subsimplex* (Trel.) en el Desierto Sonorense a partir de RAPD's. Tesis Licenciatura Biología. Facultad de Ciencias UNAM
- Neel, M.C., J. Clegg and N.C. Ellstrand. 1996. Isozyme variation in *Echinocereus engelmannii* var. *munzii* (Cactaceae). *Conservation Biology* 10: 622-631
- Nei, M. 1972. Genetic distance between populations. *American Naturalist* 106: 283-292
- Nei, M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics* 89: 583-590
- Nei, M., T. Maruyama and R. Chakraborty. 1975. The bottleneck effect and genetic variability in populations. *Evolution* 29: 1-10
- Nei, M. 1987. *Molecular Evolutionary Genetics*. Columbia University Press. USA
- Nevo, E. and A. Beiles. 1989. Genetic diversity in the desert: patterns and testable hypotheses. *J. Arid Environments* 17: 241-244
- Niklas, K.J. 1997. *The Evolutionary Biology of Plants*. University of Chicago Press. USA
- Noyes, R.D. and D.E. Soltis. 1996. Genotypic variation in agamosperous *Erigeron compositus* (Asteraceae). *Amer. J. Bot.* 83: 1292-1303
- Nunney, L. 1995. Measuring the ratio of effective population size to adult numbers using genetic and ecological data. *Evolution* 49: 389-392
- Núñez-Farfán, J. 1996. Estudio genético de las poblaciones de *Rhizophora mangle* en México. Reporte del proyecto CONABIO B007, México D.F.
- Núñez-Farfán, J. y L.E. Eguiarte. 1997. Resumen del proyecto "Genética de poblaciones y procesos de especiación en plantas del Desierto Sonorense" (PAPITT, DGPA, UNAM, IN211997).
- Parker, K.C. and J.L. Hamrick. 1992. Genetic diversity and clonal structure in a columnar cactus, *Lophocereus schottii*. *Amer. J. Bot.* 79: 86-96

- Parks, C.R., J.F. Wendel, M. Sewell and Y. Qiu. 1994. The significance of allozyme variation and introgression in the *Liriodendron tulipifera* complex (Magnoliaceae). *Amer. J. Bot.* 81: 878-889
- Pielou, E.C. 1969. An Introduction to Mathematical Ecology. Wiley-Interscience. New York
- Pleasants, J.M. and J.F. Wendel. 1989. Genetic diversity in a clonal narrow endemic, *Erythronium propullans*, and in its widespread progenitor, *E. albidum*. *Amer. J. Bot.* 76: 1136-1151
- Rzedowski, J. and H. Kruse. 1979. Algunas tendencias evolutivas en *Bursera* (Burseraceae). *Taxon* 28: 103-116
- Saitou, N. and M. Nei. 1987. The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol. Biol. Evol.* 4: 406-425
- Schuster, W.S., D.R. Sandquist, S.L. Phillips and J.R. Ehleringer. 1994. High levels of genetic variation in populations of four dominant arid plants species in Arizona. *J. Arid Environments* 27: 159-167
- Sokal, R.R. and C.D. Michener. 1958. A statistical method of evaluating systematic relationships. *Univ. Kansas Sci. Bull.* 28: 1409-1438
- Sokal, R.R. y F.J. Rolf. 1985. Biometría. Principios y Métodos Estadísticos en la Investigación Biológica. H. Blume Ediciones. Madrid
- 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
- Strand A.E., B.G. Milligan and C.M. Pruitt. 1996. Are populations islands? Analysis of chloroplast DNA in *Aquilegia*. *Evolution* 50: 1822-1829
- Stubber, C.W., J.F. Wendel, M.M. Goodman and J.S.C. Smith. 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.
- Swoford, D.L. and R.K. Selander 1989. BIOSYS-1 (release 1.7): a computer program for the analysis of allelic variation in population genetics and biochemical systematic. User manual. Illinois Natural Survey, USA
- Toledo, C.A. 1982. El Género *Bursera* en el estado de Guerrero. Tesis de Licenciatura Biología. Facultad de Ciencias UNAM

- Turner, R.M., J.E. Bowers and T.L. Burgess. 1995. *Sonoran Desert Plants*. University of Arizona Press. Tucson, Az. USA
- Vallejos, E. 1983. Enzyme activity staining. In S.D. Tanksley and T.J. Orton (editors) *Isozymes in Plant Genetics and Breeding*. Elsevier, Amsterdam
- Van Devender, T.R. 1987. Holocene vegetation and climate in the Puerto Blanco Mountains, southwestern Arizona. *Quaternary Research* 27: 51-72
- Van Devender, T.R., T.L. Burgess, R.S. Felger and R.M. Turner. 1990. Holocene vegetation of the Hornaday Mountains of northwestern Sonora, Mexico. *Proc. San Diego Soc. Nat. Hist.* 2: 1-19
- Van Devender, T.R., T.L. Burgess, J.C. Piper and R.M. Turner. 1994. Paleoclimatic implications of holocene plant remains from the Sierra Bacha, Sonora, Mexico. *Quaternary Research* 41: 99-108
- Van Devender, T.R. 1997. 21,000 Years of vegetation change in the northern Vizcaino, Baja California. Baja California Botanical Symposium (abstracts). San Diego Natural History Museum. USA
- Van Devender, T.R. 1998. Environmental history of the Sonoran Desert. Chapter for symposium on "Evolution, Ecology and Conservation of Columnar Cacti and their Mutualists", Tehuacan, Mexico, June 28 – July 3 1998
- Vargas, J. En preparación. Genética de poblaciones de *Bursera hindsiana* (Burseraceae) en el Desierto Sonorense. Tesis de Licenciatura Biología. Facultad de Ciencias UNAM
- Weir, B.S. and C.C. Cockerham. 1984. Estimating *F*-statistics for the analysis of population structure. *Evolution* 38: 1358-1370
- Wendel, J.F. and N.F. Weeden. 1989. Visualization and interpretation of plant isozymes. In D.E. Soltis and P.S. Soltis (editors) *Isozymes in Plant Biology*. Dioscorides Press. Portland, Oregon. USA
- Workman, P.L. and J.D. Niswander 1970. Population studies on Southwestern Indian Tribes. II local genetic differentiation in the Papago. *Amer. J. Hum. Genet.* 22: 24-29
- Wright, S. 1943.
- Wright, S. 1946. Isolation by distance under diverse systems of mating. *Genetics* 31: 39-59
- Wright, S. 1978. *Evolution and the genetics of populations, Vol. 4. Variability within and among populations*. University of Chicago Press. Chicago, IL, USA.

Yen, F.H. and D.M. O'Malley. 1980. Enzyme variation in natural populations of Douglas-Fir, *Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco from British Columbia. 1. Genetic variation patterns in coastal populations. *Silvae Genetica* 29: 83-92

ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA

# APENDICES

## *Apéndice 1*

### **Buffer de extracción para *Abies***

Se prepara con una mezcla 3/1 del buffer YO con el buffer Veg II (para 100ml).

YO (Yen, et al. 1980)

10 ml solución Tris-ácido cítrico

0.05 g NADP

0.05 g NAD

0.018 g ácido ascórbico

0.034 g EDTA

0.10 g albúmina bovina

0.33 ml 2-mercaptoetanol

Llevar a 100 ml con agua destilada

Veg II (Cheliak y Pitel, 1984)

0.31 g ácido bórico

2 ml tergitol 15-S-9

2 g PEG 8000

7 g PVP 40

1 g PVP 360

0.88 g ácido ascórbico

0.02 g NAD

0.1 g albúmina bovina

0.005 g piridoxal 5-fosfato

0.27 g sacarosa

0.19 g cisteína-HCL

0.66 ml 2-mercaptoetanol

Llevar a 100 ml con agua destilada, ajustar pH a 7.1 con NaOH

Preparación de la solución Tris-ácido cítrico pH 7.0

1.57 g Trizma base

0.83 g ácido cítrico

Llevar a 100 ml con agua destilada

### **Sistemas de buffer electroforéticos**

(Calculados para 1 litro)

Sistema C de Maíz (Stuber, 1977)

Buffer del electrodo

0.19 M ácido bórico 11.875 g

0.04 M Hidróxido de litio 1.60 g

Ajustar pH a 8.3 con ácido bórico

Buffer Trizma base

0.05 M Trizma base 6.20 g

0.007 M ácido cítrico 1.50 g

Ajustar pH a 8.3 con ácido cítrico

Buffer del gel

9 partes buffer Trizma base

1 parte buffer electrodo

Correr a 225 v – 60 mA

Sistema Mitton PP (Mitton et al, 1977)

Buffer del electrodo

0.031 M NaOH 1.25 g

0.295 M ácido bórico 18.25 g

Ajustar pH a 7.5 con NaOH o ácido bórico

Buffer del gel

0.015 M Trizma base 1.8 g

0.295 M ácido cítrico (monohidratado) 0.7 g

Ajustar pH a 7.6 con NaOH o ácido cítrico

### **Recetas de tinción de las isoenzimas montadas**

AcPH Fosfatasa ácida E.C.3.2.3.2 (Mod. de Hakim-Elahi, 1976)

Buffer 1 M de acetato de sodio (NaAc) pH 5.0 5 ml

Fast Garnet GBC salt 70 mg

Cloruro de magnesio (MgCl) 1 M 1 ml

æ-naphtyl acid phosphate (monosodium) 100 mg

Agua destilada 90 ml

Incubar en la oscuridad a temperatura ambiente

LAP Leucin aminopeptidasa E.C.3.4.11.1 (Mod. de Werth, 1985 citado en Del Valle, 1996)

Fast Black K salt 60 mg

(disolver en 5 ml de agua destilada justo antes de teñir)

Buffer 0.2 M Tris-ácido maleico pH 5.2 50 ml

L-leucina ÷-naphtylamida – HCl al 2.5% 2 ml

Incubar en la obscuridad a 37° C durante 30 minutos y posteriormente añadir el Fast Black K salt.

ME Enzima málica E.C.1.1.1.40 (Mod. de Wendel y Weeden, 1989)

50 mM Tris-HCl pH 8.0 50 ml

Acido málico 1 M 5 ml

Cloruro de magnesio (MgCl<sub>2</sub>) 50 mg

NADP 5 mg

MTT 10 mg

PMS 2 mg

Incubar en la obscuridad a temperatura ambiente

**MDH Malato deshidrogenasa E.C.1.1.1.37 (Mod. de Vallejos, 1983)**

0.2 M Tris-HCl pH 8.0 50 ml

DL-malato 1 M pH 8.0 3 ml

Cianuro de Sodio 20 mg

NAD 10 mg

NBT 15 mg

PMS 1 mg

Incubar en la obscuridad a temperatura ambiente

**PGI Fosfoglucosa isomerasa E.C.5.3.1.9 (Mod. de Vallejos, 1983)**

0.1 M Tris-HCl pH 7.0 50 ml

D-Fructosa 6-fosfato, sal disódica 20 mg

Glucosa 6-fosfato deshidrogenasa (NADP) 20u

MgCl<sub>2</sub> 1 M 1 ml

NADP 10mg

MTT 10 mg

PMS 5 mg

Incubar en la obscuridad a temperatura ambiente

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

Amido Black 25 mg

Acido acético 10 ml

Metanol 45 ml

Agua destilada 45 ml

Incubar a temperatura ambiente

Se ensayaron otras enzimas para el análisis electroforético en distintos sistemas, pero no se utilizaron, pues algunas presentaban poca o nula actividad o no eran consistentes en la lectura (ver Wendel y Weeden, 1989 para abreviaturas):

SDH, G-6-PDH, IDH, GDH, ENP, APX, EST, CAT, GOT, PGM, MNR, LDH, FDH,  
TOX, F-GAL, ADH, F-EST, GAL, SOD y DIA

Apéndice 2

Frecuencias alélicas en 14 poblaciones de *B. microphylla* en el Desierto Sonorense. Los números de población son los de la Tabla 1.

| Locus        | 1     | 2     | 3     | 4     | 5     | 6     | 7     | 8     | 9     | 10    | 11    | 12    | 13    | 14    | RxC    |
|--------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|--------|
| <b>LAP</b>   |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |        |
| (N)          | 50    | 50    | 52    | 53    | 51    | 50    | 50    | 50    | 48    | 50    | 43    | 50    | 50    | 50    |        |
| A            | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.009 | 0.000 | 0.000 | 0.040 | 0.000 | 0.177 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 |        |
| B            | 0.020 | 0.340 | 0.096 | 0.170 | 0.147 | 0.270 | 0.100 | 0.250 | 0.000 | 0.030 | 0.000 | 0.120 | 0.130 | 0.290 |        |
| C            | 0.780 | 0.470 | 0.740 | 0.500 | 0.725 | 0.660 | 0.780 | 0.580 | 0.646 | 0.850 | 0.930 | 0.740 | 0.780 | 0.450 |        |
| D            | 0.180 | 0.190 | 0.163 | 0.321 | 0.127 | 0.070 | 0.070 | 0.170 | 0.177 | 0.040 | 0.035 | 0.140 | 0.090 | 0.260 |        |
| E            | 0.020 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.010 | 0.000 | 0.000 | 0.080 | 0.035 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | p=.000 |
| <b>PGI-2</b> |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |        |
| (N)          | 50    | 50    | 52    | 53    | 51    | 50    | 50    | 50    | 48    | 50    | 43    | 50    | 50    | 50    |        |
| A            | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.009 | 0.000 | 0.000 | 0.070 | 0.020 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.020 | 0.000 | 0.000 |        |
| B            | 0.000 | 0.070 | 0.981 | 0.991 | 0.108 | 0.040 | 0.870 | 0.900 | 0.042 | 0.000 | 0.012 | 0.900 | 0.020 | 0.000 |        |
| C            | 1.000 | 0.930 | 0.019 | 0.000 | 0.892 | 0.960 | 0.060 | 0.080 | 0.958 | 0.890 | 0.965 | 0.080 | 0.980 | 0.940 |        |
| D            | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.110 | 0.023 | 0.000 | 0.000 | 0.060 | p=.000 |
| <b>APH-2</b> |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |        |
| (N)          | 49    | 50    | 52    | 53    | 51    | 50    | 48    | 50    | 48    | 50    | 42    | 50    | 50    | 50    |        |
| A            | 0.612 | 0.190 | 0.096 | 0.566 | 0.696 | 0.270 | 0.250 | 0.280 | 0.250 | 0.390 | 0.333 | 0.070 | 0.770 | 0.330 |        |
| B            | 0.388 | 0.810 | 0.904 | 0.434 | 0.304 | 0.730 | 0.750 | 0.720 | 0.750 | 0.610 | 0.667 | 0.930 | 0.230 | 0.670 | p=.000 |
| <b>RUB</b>   |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |        |
| (N)          | 50    | 50    | 52    | 53    | 51    | 50    | 50    | 50    | 48    | 50    | 43    | 50    | 50    | 50    |        |
| A            | 1.000 | 0.850 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 |        |
| B            | 0.000 | 0.150 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | p=.000 |
| <b>MDH</b>   |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |        |
| (N)          | 50    | 50    | 52    | 53    | 50    | 50    | 50    | 50    | 48    | 50    | 43    | 50    | 50    | 50    |        |
| A            | 0.700 | 0.580 | 0.952 | 0.840 | 0.670 | 0.880 | 0.790 | 1.000 | 0.802 | 0.620 | 0.942 | 1.000 | 0.660 | 0.640 |        |
| B            | 0.300 | 0.420 | 0.048 | 0.160 | 0.330 | 0.120 | 0.210 | 0.000 | 0.198 | 0.380 | 0.058 | 0.000 | 0.340 | 0.360 | p=.000 |
| <b>MAE</b>   |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |        |
| (N)          | 50    | 50    | 52    | 53    | 51    | 50    | 50    | 49    | 48    | 49    | 43    | 50    | 49    | 50    |        |

|   |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |        |
|---|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|--------|
| A | 0.920 | 0.680 | 1.000 | 0.962 | 0.931 | 0.940 | 0.440 | 0.929 | 0.979 | 0.643 | 0.849 | 0.000 | 0.888 | 0.720  |
| B | 0.080 | 0.320 | 0.000 | 0.038 | 0.069 | 0.060 | 0.560 | 0.071 | 0.021 | 0.357 | 0.151 | 1.000 | 0.112 | 0.280  |
|   |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       | P=.000 |

Significancia para todos los loci: Chi-cuadrada = 118.8419 (12 g.l)