



DIVERSIDAD GENÉTICA DE LINÁLOE EN POBLACIONES DEL BOSQUE TROPICAL CADUCIFOLIO EN MÉXICO

GENETIC DIVERSITY OF LINALOE IN TROPICAL DECIDUOUS FOREST POPULATIONS IN MEXICO

Iris Jacaranda Cruz-Larios¹, Carlos Ramírez-Herrera^{1*}, Martha Hernández-Rodríguez², Mario Valerio Velasco-García³, Víctor Manuel Cetina-Alcalá¹ y Juan Ignacio Valdez-Hernández¹

¹Colegio de Postgraduados (CP), Posgrado en Ciencias Forestales, Montecillo, Texcoco, Estado de México, México. ²CP, Posgrado en Recursos Genéticos y Productividad-Genética, Montecillo, Texcoco, Estado de México, México. ³Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias, Centro de Investigaciones Interdisciplinarias – Conservación y Mejoramiento de Ecosistemas Forestales, Coyoacán, Ciudad de México, México.

*Autor de correspondencia (kmcram@colpos.mx; kmcramcolpos@gmail.com)

RESUMEN

La diversidad genética es importante para la adaptación de una especie a los cambios ambientales, por lo que el conocimiento del nivel y distribución de la diversidad es útil para elaborar estrategias de conservación y manejo de una especie; sin embargo, la información sobre diversidad genética es escasa para especies arbóreas que habitan en el bosque tropical caducifolio, como es el caso de lináloe [*Bursera linanoe* (La Llave) Rzed., Calderón & Medina], una especie que crece en dos subprovincias bióticas en el bosque tropical seco de los estados de Guerrero, Morelos, Puebla y Oaxaca en México. Por lo anterior, el objetivo del presente estudio fue estimar la diversidad y estructura genética de *Bursera linanoe* en poblaciones naturales en dos subprovincias bióticas. En 2019 se recolectó follaje de 92 árboles de lináloe en cuatro poblaciones en las subprovincias bióticas Balsasana y Cañadiana. Posteriormente, el ADN se extrajo del follaje con el protocolo CTAB. Cinco intermicrosatélites (ISSR) se utilizaron, y los fragmentos fueron separados en geles de agarosa. Los siguientes estimadores de diversidad genética se calcularon: porcentaje de loci polimórficos (P), heterocigosidad esperada (He), número efectivo de alelos por locus (Ne) e índice de Shannon (IS); además, se estimó el F_{ST} de Wright y se realizó un análisis de varianza molecular (AMOVA). También, la estructura genética se evaluó con el software STRUCTURE. Los valores de los estimadores de la diversidad genética para lináloe fueron: P = 100 %, He = 0.352, Ne = 1.618 e IS = 0.522, el valor de F_{ST} fue 0.160. La partición de la diversidad genética fue de 74 % dentro de poblaciones, 21 % entre poblaciones y 5 % entre subprovincias. Cuatro grupos (K) se formaron con los árboles de lináloe de las cuatro poblaciones. El número de migrantes fue 1.3 por generación. Se encontró una diversidad genética alta y una diferenciación alta entre poblaciones de *Bursera linanoe*.

Palabras clave: *Bursera linanoe*, estructura genética, F_{ST} de Wright, heterocigosidad esperada, marcadores ISSR.

SUMMARY

Genetic diversity is important for the adaptation of a species to environmental changes, thus knowledge of the level and distribution of diversity is useful for developing conservation and management strategies for a species; however, information on genetic diversity is scarce for tree species that habit in the tropical deciduous forest as is case of linaloe [*Bursera linanoe* (La Llave) Rzed., Calderón & Medina], a species that grows in two biotic subprovinces in the dry tropical forest of the states of Guerrero, Morelos, Puebla and Oaxaca in Mexico. Therefore, the objective of this study was to

estimate the genetic diversity and structure of *Bursera linanoe* in natural populations at two biotic subprovinces. In 2019, foliage was collected from 92 linaloe trees in four populations of the biotic subprovinces Balsasana and Cañadiana. Subsequently, the DNA was extracted from the foliage with the CTAB protocol. Five inter-microsatellites (ISSR) were used, and the fragments were separated on agarose gels. The following estimators of genetic diversity were calculated: percentage of polymorphic loci (P), expected heterozygosity (He), effective number of alleles per locus (Ne) and Shannon index (SI). In addition, the Wright's F_{ST} was estimated, and an analysis of molecular variance (AMOVA) was performed. Also, the genetic structure was evaluated with the STRUCTURE software. The values of the genetic diversity estimators were P = 100 %, He = 0.352, Ne = 1.618 and SI = 0.522, the F_{ST} value was 0.160. The partition of genetic diversity was 74 % within populations, 21 % between populations and 5 % between subprovinces. Four groups (K) were formed with the linaloe trees of the four populations. The number of migrants was 1.3 per generation. High genetic diversity and high genetic differentiation between population of *Bursera linanoe* were found.

Index words: *Bursera linanoe*, expected heterozygosity, genetic structure, ISSR markers, Wright's F_{ST}

INTRODUCCIÓN

Una diversidad genética alta es importante para la adaptación de especies a los cambios ambientales (Hartl, 2020), y una disminución en esta puede contribuir a la extinción de una especie (Höglund, 2009). También, la diversidad genética es útil en la selección de individuos sobresalientes para el establecimiento de plantaciones forestales comerciales, con altos rendimientos para un producto deseado (White *et al.*, 2007). Ensayos de jardín común, marcadores morfológicos y moleculares y secuenciación de ADN son procedimientos para evaluar la diversidad genética de una especie (White *et al.*, 2007). Un ensayo de jardín común es una prueba donde se incluyen familias de árboles de diferentes procedencias de una especie en uno o varios sitios para conocer el nivel de contribución de la varianza genética y varianza ambiental a la varianza total de características fenotípicas de interés, y

seleccionar los individuos con mayor potencial adaptativo a las condiciones ambientales (Neale y Wheeler, 2019). Se han usado diferentes marcadores moleculares, entre los que se encuentran aloenzimas, fragmentos de restricción de longitud polimórfica (RFLPs), amplificación aleatoria de ADN polimórfico (RAPDs), polimorfismo de un nucleótido (SNPs) y microsatélites o secuencias simples repetidas (SSRs) e inter secuencia simple repetidas (ISSRs) para estimar la diversidad genética (Neale y Wheeler, 2019); además, la secuenciación de genomas de diferentes especies es común en los últimos años (Neale y Wheeler, 2019); sin embargo, el costo de esta sigue siendo elevado en los países en desarrollo (Nurchis *et al.*, 2024).

El género *Bursera* Jacq. ex L tiene una amplia diversidad, con un número que rebasa las 100 especies (Rzedowski *et al.*, 2004). Es importante mencionar que hay pocos estudios sobre diversidad genética en especies del género *Bursera*; sin embargo, algunas especies de este género poseen una diversidad genética de media a alta; por ejemplo, *Bursera simaruba* (L.) Sarg. tiene diversidad genética alta evaluada a través de la secuenciación de ADN ribosomal en poblaciones en la reserva de la biosfera Selva el Ocote en Chiapas, México (Cruz-Salazar *et al.*, 2021). También, esta especie presenta una diversidad media estimada con ISSR en ocho poblaciones pequeñas en Colombia (Bocanegra-González *et al.*, 2019). La presencia de diversidad genética en una especie es la clave para una potencial adaptación de ésta a los factores de estrés ocasionados por factores ambientales; además, un nivel considerado de diversidad genética es útil en la selección de individuos con características deseables en especies domesticadas (Hartl, 2020).

El lináloe [*Bursera linanoe* (La Llave) Rzed., Calderón & Medina] es una especie arbórea endémica de México que habita en poblaciones pequeñas en el bosque tropical caducifolio en los estados de Morelos, Guerrero, Puebla y Oaxaca (Castellanos-Bolaños y Gómez-Cárdenas, 2022; Cruz-Larios *et al.*, 2022). Una población es considerada pequeña cuando el tamaño efectivo (N_e) es menor a 50 árboles con posibilidad de aparearse para evitar los efectos de depresión endogámica (Frankham *et al.*, 2004), aunque, el tamaño efectivo de población por lo regular representa el 10 % del censo poblacional (N) (Frankham *et al.*, 2004). Localmente, se recolectan frutos y madera del lináloe para extraer un aceite aromático para la elaboración de cosméticos (Gutiérrez-Santiago *et al.*, 2016). También, se aprovecha la madera para la elaboración de artesanías (Rendon, 2020). Por otro lado, las semillas de esta especie presentan latencia, por lo que la germinación es baja (Guzmán-Pozos *et al.*, 2018), y como consecuencia hay una pobre reincorporación de nuevos individuos (Castellanos-Bolaños y Gómez-Cárdenas, 2022).

La densidad es baja en las poblaciones de lináloe (Cruz-Larios *et al.*, 2022), por lo que los factores antes descritos pueden influir en la disminución del tamaño de las poblaciones. El presente estudio de diversidad genética aporta información útil para establecer estrategias de conservación para *Bursera linanoe* por lo que se plantea como objetivo estimar la diversidad y estructura genética de *Bursera linanoe* en cuatro poblaciones naturales de dos subprovincias bióticas usando inter secuencias simples repetidas (ISSRs). Los marcadores moleculares inter secuencias simples repetidas son altamente polimórficos, relativamente fácil de desarrollar y menos costosos comparados con otros marcadores moleculares (Gemmill y Grierson, 2021). La hipótesis planteada es que la diversidad genética es baja con una diferenciación alta como consecuencia del aislamiento entre poblaciones de *B. linanoe*, y un número reducido de migrantes entre poblaciones (Cruz-Larios *et al.*, 2022; Frankham *et al.*, 2004).

MATERIALES Y MÉTODOS

Recolección de follaje

En 2019 se recolectó follaje de 92 árboles de *Bursera linanoe* de cuatro poblaciones en los estados de Morelos, Guerrero y Oaxaca en las subprovincias bióticas Balsasana y Cañadiana en México (Cuadro 1). Estas se identificaron con un número consecutivo, nombre de la subprovincia y el sitio donde el árbol crece. La distancia entre dos árboles donde se recolectó follaje fue variable; sin embargo, se evitó muestrear follaje de árboles ubicados a una distancia menor de 20 m. Las muestras de follaje fueron transportadas en caja de plástico con hielo al laboratorio del posgrado en Ciencias Forestales, Campus Montecillo del Colegio de Postgraduados, donde se almacenaron a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta la extracción del ADN.

El follaje se molió en mortero añadiendo nitrógeno líquido con el método CTAB modificado para la extracción de ADN (Doyle y Doyle, 1987). A continuación, se colocaron 100 mg de tejido liofilizado, amortiguador de extracción a $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ y $2\text{ }\mu\text{L}$ de β -mercaptoetanol en un tubo Eppendorf de 2 mL; después, el tubo fue colocado en un vórtex para agitar el contenido por 5 s; posteriormente, los tubos se colocaron en un termobloque (Select Bio Products, West Palm Beach, Florida, EUA) para la incubación por 90 min a $65\text{ }^{\circ}\text{C}$; luego, el contenido en los tubos se mezcló en un agitador vórtex (Benchmark, Tempe, Arizona, EUA) por 10 min, y después se agregaron $500\text{ }\mu\text{L}$ de cloroformo-alcohol isoamílico (24:1). Posteriormente, los tubos fueron invertidos para mezclar el contenido por 10 min. A continuación, el contenido en los tubos se centrifugó a 13,500 rpm a $4\text{ }^{\circ}\text{C}$

Cuadro 1. Ubicación de cuatro poblaciones de *Bursera linanoe* en tres estados y dos subprovincias bióticas de México.

Subprovincia	Población	Estado	Latitud Norte	Longitud Oeste	Altitud (msnm)	Número de árboles
Balsasana	Atenango del Río	Guerrero	18°05'54.10"	99°07'46.6"	754	28
	Tlaquiltenango	Morelos	18°28'27.2"	99°00'01.3"	1205	29
Cañadiana	Tecomavaca	Oaxaca	17°51'57.46"	97°02'11.17"	758	18
	Cuicatlán	Oaxaca	17°49'26.81"	96°57'37.34"	914	17

Extracción de ADN.

por 10 min. La fase acuosa superior fue vertida a un tubo de 1.7 mL, y se agregó isopropanol en proporción 1:1 con base en la cantidad de fase acuosa obtenida, la cual se agitó en un vórtex, y homogenizó por inmersión por 10 min. A continuación, los tubos fueron almacenados en un refrigerador a 4 °C durante 1 h, y posteriormente estos fueron colocados en una centrifuga que operó a 13,500 rpm por 15 min para formar la pastilla, la cual se precipitó al fondo del tubo, y el isopropanol se decantó. Se añadió 1 mL de etanol para lavar el isopropanol y la pastilla por inversión lenta la cual se decantó al final. Algunas muestras se lavaron dos veces con etanol; luego, el líquido se decantó y evaporó en una campana de extracción. La pastilla fue resuspendida en 50 µL de agua destilada estéril. Se agregó 1 µL de cada muestra al pedestal del Nanodrop 1000 c (Thermo Scientific, Waltham, Massachusetts, EUA) para tomar lecturas de absorbancia a 260 y 280 nm para comprobar la calidad del ADN. Después de medir la calidad del ADN, cada una de las muestras fueron homogenizadas a 50 ng µL⁻¹. La integridad del ADN se confirmó mediante electroforesis en geles de agarosa 1.5 % (p/v).

Amplificación por PCR y electroforesis

Cinco ISSR amplificaron de nueve que se probaron. La solución de la reacción de PCR se elaboró para los iniciadores ISSR1 e ISSR4 (Coppi *et al.*, 2010) en un volumen total de 25 µL el cual consistió en 100 ng de ADN, 4 µL de amortiguador 1X, 1.2 µL de MgCl₂ 1.5 mM, 2 µL de iniciador 10 mM, 0.4 µL de DNTPs 0.2 mM y 1.4 unidades de taq polimerasa (Promega). La misma reacción se realizó para el iniciador ISSR5 (Coppi *et al.*, 2010), pero con 50 ng de ADN. La reacción de la PCR se hizo para los iniciadores ISSRUBC827 e ISSRUBC840 (Dos Santos Araújo *et al.*, 2016) en un volumen de 12 µL que contenía 100 y 150 ng de ADN respectivamente, 1.2 µL de amortiguador 1X, 0.96 µL de MgCl₂ 25 mM, 0.39 µL de iniciador 0.33 µM, 0.3 µL de DNTPs 0.25 mM y 0.5 unidades de taq polimerasa (Promega).

El termociclador (Techne TC-512, Heison Products, Chelmsford, Essex, UK) fue programado para la reacción de la PCR con los iniciadores ISSR1, ISSR4 e ISS5, como

se indica a continuación: el primer paso consistió en 94 °C durante 5 min para desnaturalizar el ADN, seguido por 35 ciclos a 94 °C por 40 s (desnaturalización), 43 °C por 45 s (alineamiento), y 72 °C por 90 s (extensión); un ciclo final a 94 °C por 45 s, 42 °C por 45 s y 72 °C por 5 min, mientras que para la reacción de PCR para ISSRUBC827 e ISSRUBC840 se siguió el protocolo siguiente: se desnaturalizó el ADN a 94 °C por 2 min, 37 ciclos de 94 °C por 15 s (desnaturalización), 47 °C por 30 s (alineación) y 72 °C por 60 s (extensión), y una extensión final a 72 °C por 60 s.

Los productos (5 µL de la reacción con los iniciadores ISSR1, ISSR4 e ISSR5 y 10 µL para ISSRUBC827, ISSRUBC840) de la PCR se colocaron en geles de agarosa 2 %, y se agregaron 2 µL de bromuro de etidio. En los pozos a los lados del gel, se vertieron 6 µL de marcador de peso molecular Phi y de 100 pb (Promega) y 2 µL del colorante Diamond (Promega). Los geles de agarosa se colocaron en una cámara de electroforesis que se aforó con amortiguador TBE 1X, y conectó a una fuente de poder que suministró una corriente eléctrica de 75 V por 2 h y 30 min. Al finalizar, los geles se visualizaron bajo luz ultravioleta en un fotodocumentador (UVP Epi Chemi II™ Darkroom, Upland, California, EUA), y se tomó una fotografía de cada gel. La interpretación de los geles se hizo asignando 1 cuando se observó la presencia de una banda y 0 cuando la banda estuvo ausente para las muestras de cada uno de los árboles. Cada banda observada se consideró como un locus en las muestras estudiadas.

Análisis de la información

Los siguientes estimadores de diversidad genética fueron calculados con el programa GenAlEx V6.5 (Blyton y Flanagan, 2012): porcentaje de loci polimórficos (P), heterocigosidad esperada (He), número efectivo de alelos (Ne) e índice de Shannon-Weaver. También se calcularon las distancias genéticas de Nei (Nei, 1978), se elaboró un dendrograma con el método UPGMA y se hizo un análisis de varianza molecular (AMOVA) con el programa GenAlEx V6.5 (Blyton y Flanagan, 2012); además, se calculó la F_{ST} de Wright (Hartl, 2020) con el programa Excel de Microsoft.

Posteriormente, se estimó el número de migrantes por generación (Nm). También, la estructura genética se evaluó con el programa Structure V 2.3.4 que coloca los grupos (K) sin considerar el origen de cada individuo (Pritchard *et al.*, 2000). Se determinó el número de grupos (K) en los que se incluyen los árboles de lináloe con base en el procedimiento descrito por Evanno *et al.* (2005). El coeficiente de correlación de Spearman fue calculado entre las distancias genéticas y las distancias geográficas entre poblaciones.

RESULTADOS

Diversidad genética

Se encontró el máximo porcentaje de loci polimórficos considerando todas las poblaciones de *B. linanoe* (Cuadro 2). Los mayores valores se registraron para los cuatro estimadores de diversidad genética de lináloe en la población en Atenango del Río, mientras que los menores valores en los estimadores de diversidad genética se encontraron en la población de Cuicatlán (Cuadro 2).

Estructura genética

El índice F_{ST} de Wright fue 0.160 entre las poblaciones estudiadas de *B. linanoe*. El número de migrantes (Nm) fue 1.3 por generación, mientras que, se encontró un F_{ST} de 0.05 entre subprovincias, y se estimaron cuatro migrantes por generación (Nm) entre subprovincias. El AMOVA indicó que 74 % de la diversidad genética se distribuye dentro de poblaciones, 21 % entre poblaciones y 5 % entre subprovincias.

La mayor distancia genética en los árboles de lináloe se presentó entre las poblaciones de Tlaquiltenango y Tecomavaca (Cuadro 3); estas poblaciones se localizan a

218 km una de la otra. Por otro lado, la menor distancia genética fue entre las poblaciones de Atenango del Río y Cuicatlán (Cuadro 3; Figura 1), las cuales se ubican a 231 km una de la otra. Se apreció una clara diferenciación genética de la población en Tlaquiltenango con respecto a las otras tres poblaciones (Figura 1). El coeficiente de correlación de Spearman fue -0.029 entre las distancias genéticas y distancias geográficas de las poblaciones de lináloe en las dos subprovincias bióticas.

Una estructura poblacional se encontró donde se definieron cuatro grupos (K = 4) con una probabilidad media estimada (lnK) y una varianza igual a -4891.55 y 199.87, respectivamente (Figura 2). El grupo K1, representado por el color amarillo, se formó con individuos de lináloe de Atenango del Río y árboles de Cuicatlán (Figura 2). Por otro lado, se agruparon árboles de Tecomavaca en el grupo K2, color rojo (Figura 2). También, el grupo K3 (color azul) se integró con árboles de Cuicatlán y Tecomavaca (Figura 2); asimismo, se construyó el grupo K4 (color verde) con individuos de las poblaciones Tlaquiltenango y Atenango del Río (Figura 2).

DISCUSIÓN

Diversidad genética

Bursera linanoe presentó una diversidad genética alta en las poblaciones estudiadas derivada de la interacción entre mutación, migración, deriva genética, selección y tipo de reproducción. Cuando un gen tiene solo dos alelos como es el caso de los marcadores moleculares dominantes (Hartl, 2020), los valores de heterocigosidad esperada varían entre 0 y 0.5, y los valores del número de alelos por locus varían entre 1 y 2, mientras que el índice de Shannon varía entre 0 y 0.693 (Blyton y Flanagan, 2012). Con base

Cuadro 2. Estimadores de diversidad genética para *Bursera linanoe* en cuatro poblaciones de dos subprovincias bióticas en México.

Subprovincia	Población	Porcentaje de loci polimórficos (P)	Heterocigosidad esperada (He)	Número de alelos efectivo (Ne)	Índice Shannon (IS)
Balsasana [†]		95.65	0.342 ± 0.020	1.601 ± 0.041	0.505 ± 0.025
	Atenango del Río	89.86	0.324 ± 0.020	1.563 ± 0.041	0.480 ± 0.027
	Tlaquiltenango	79.71	0.286 ± 0.026	1.497 ± 0.045	0.426 ± 0.031
Cañadiana [†]		89.86	0.323 ± 0.210	1.565 ± 0.042	0.477 ± 0.079
	Tecomavaca	84.06	0.295 ± 0.022	1.510 ± 0.049	0.439 ± 0.036
	Cuicatlán	68.12	0.278 ± 0.025	1.502 ± 0.044	0.403 ± 0.030
Total		100	0.352 ± 0.018	1.618 ± 0.039	0.522 ± 0.023

[†]Valores de los estimadores de diversidad genética en cada subprovincia.

Cuadro 3. Distancia de Nei (bajo la diagonal) y distancia geográfica (km) (sobre la diagonal) para cuatro poblaciones de *Bursera linanoe*.

	Subprovincia Balsasana		Subprovincia Cañadiana	
	Atenango del Río	Tlaquiltenango	Tecomavaca	Cuicatlán
Atenango del Río	-----	44	223	231
Tlaquiltenango	0.116	-----	218	228
Tecomavaca	0.131	0.159	-----	9
Cuicatlán	0.083	0.134	0.105	-----

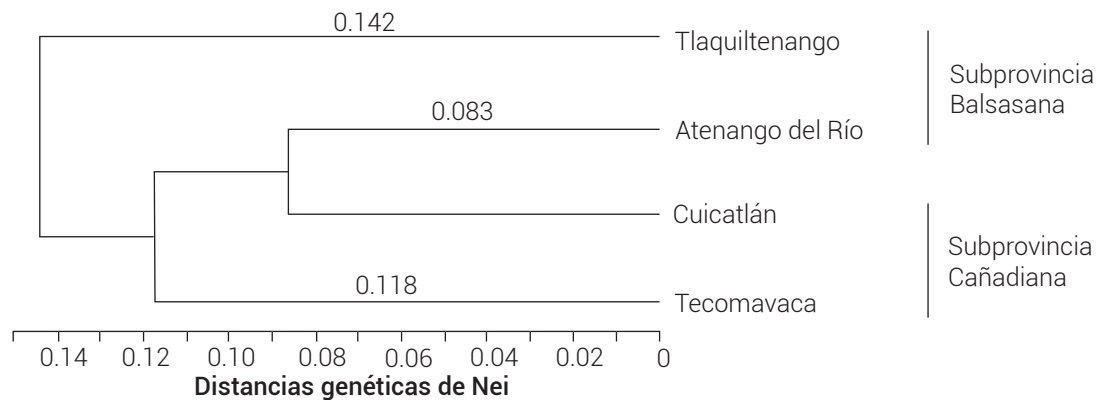


Figura 1. Dendrograma construido con distancias genéticas de Nei de cuatro poblaciones de *Bursera linanoe* en dos subprovincias bióticas de México.

en lo anterior, incluso la población de lináloe en Cuicatlán, con los valores menores de los estimadores de diversidad genética en el presente estudio, tiene un nivel considerable de diversidad genética como resultado del apareamiento entre árboles diferentes, lo cual es común en lináloe debido a que esta especie tiene un sistema de reproducción dioico (Gutiérrez-Santiago *et al.*, 2016). La reproducción sexual es una de las principales fuentes de diversidad genética como consecuencia de la recombinación de cromosomas y segregación independiente en la meiosis (Krebs *et al.*, 2018). La mayor diversidad genética en la subprovincia Balsasana puede deberse a la presencia de un mayor número de árboles en cada una de las poblaciones en esta subprovincia, donde se encontró la densidad arbórea mayor (560 árboles ha⁻¹) en Atenango del Río y, en contraste, la densidad menor (33 árboles ha⁻¹) se encontró en Cuicatlán (Cruz-Larios *et al.*, 2022), población donde se registró la menor diversidad genética. Esto significa que el tamaño efectivo (Ne) de la población influyó en la magnitud de la diversidad genética encontrada.

Existen pocos estudios de diversidad genética en especies arbóreas que habitan el bosque tropical caducifolio tomando en consideración el número alto de especies de plantas que habitan en este bioma

(Rzedowski *et al.*, 2004). La diversidad genética fue mayor en *B. linanoe* que en *Bursera simaruba* (He = 0.25, índice de Shannon = 0.37) en el bosque tropical caducifolio en Colombia (Bocanegra-González *et al.*, 2019). También, la diversidad genética fue mayor en *B. linanoe* que aquella en *Boswellia sacra* Flück (He = 0.222), una especie de la familia Burseraceae (Coppi *et al.*, 2010). Quintero *et al.* (2021) reportaron que la diversidad genética obtenida con microsatélites del cloroplasto fue menor para *Bursera bipinnata* (Moc. & Sessé ex DC.) Engl. (He = 0.197), *B. cuneata* (Schltdl.) Engl. (He = 0.175) y *B. palmeri* S. Watson (He = 0.072) que para *B. linanoe*.

Por su parte, el porcentaje de loci polimórficos fue mayor en *B. linanoe* que en *Simarouba glauca* DC (14.43 %) (Kumar y Agrawal, 2017); sin embargo, el genoma del cloroplasto es pequeño comparado con el genoma nuclear de una planta (Neale y Wheeler, 2019). También, marcadores moleculares distintos son informativos de secciones diferentes del genoma de una especie (Sagar *et al.*, 2023), por lo que, además, es recomendable estimar la diversidad genética de lináloe con otros marcadores moleculares codominantes como microsatélites (SSR) y polimorfismo de nucleótido único (SNPs) que pueden proporcionar información adicional para proponer

estrategias de conservación para esta especie.

Estructura genética

La divergencia genética entre subprovincias es baja, a pesar de que las subprovincias Balsasana y Cañadiana se separaron en el periodo geológico Mioceno (Alaniz-Álvarez y Nieto-Samaniego, 2005; De-Nova *et al.*, 2012). El bajo número de migrantes (flujo génico) entre subprovincias puede ser la causa de la poca diferenciación genética entre subprovincias. Cuatro migrantes por generación son insuficientes para mantener una divergencia genética alta entre poblaciones (Hartl, 2020); sin embargo, la diferenciación genética es alta entre las cuatro poblaciones de *B. linanoe*. Hartl (2020) menciona que valores de $F_{ST} \leq 0.15$ y ≥ 0.25 indican una divergencia genética alta entre poblaciones. Valores > 0.25 indican una diferenciación genética muy alta (Hartl, 2020). También, se presentan niveles muy altos ($F_{ST} = 0.38$) de diferenciación entre poblaciones de *Boswellia sacra*, una especie de la familia de las Burseraceae (Coppi *et al.*, 2010). Por otro lado, se encontró una diferenciación moderada ($F_{ST} = 0.122$) entre *Bursera graveolens* (Kunth) Triana & Planch., *B. malacophylla* B. L. Rob. y el híbrido putativo de estas especies en las islas Galápagos, mientras que se halló una diferenciación alta ($F_{ST} = 0.221$) cuando se incluyeron poblaciones alopátricas de estas especies (Weeks y Tye, 2009).

El análisis molecular de varianza (AMOVA) confirmó la diferenciación baja entre subprovincias y una diferenciación alta entre poblaciones de lináloe. También, se registraron niveles muy altos de diversidad genética (40 y 52 %) entre poblaciones de *Chrysodracon auwahiensis* (Lu & Morden) y *C. hawaiiensis* (Degener & Degener) Lu & Morden, endémicas de Hawai con el uso de ISSR (Lu *et al.*, 2016); además, *Pinus cembroides* Zucc., una especie arbórea que

crece en las zonas áridas presentó una diversidad genética muy alta (26 %) entre poblaciones usando ISSR como marcador molecular (Fuentes-Amaro *et al.*, 2019), valor similar a lináloe en la presente investigación.

Generalmente, las distancias genéticas se usan para medir la diferenciación entre poblaciones con base en las frecuencias alélicas (Frankham *et al.*, 2002). Los valores de distancias genéticas (Cuadro 3) para lináloe están dentro del intervalo reportado para plantas, los cuales varían entre 0.02 y 0.07 para subespecies y entre 0.05 y 0.79 para especies (Nei, 1987); sin embargo, algunos valores de las distancias genéticas fueron menores en lináloe que los valores de 0.09 a 0.235 reportados entre poblaciones de *P. cembroides* (Fuentes-Amaro *et al.*, 2019).

El análisis a través del software STRUCTURE muestra una estructura genética clara de las poblaciones de lináloe con un número de grupos (K) igual al número de poblaciones naturales incluidas en el estudio. El grupo K1 se formó con árboles que tienen origen en Atenango del Río y Cuicatlán, confirmando la menor similitud que se detectó con las distancias genéticas entre estas dos poblaciones (Cuadro 3), aunque K puede ser sobreestimado cuando se presenta apareamiento entre árboles emparentados de una población (Hubisz *et al.*, 2009). Quizás se pudo presentar apareamiento entre árboles genéticamente relacionados en la población de lináloe en Cuicatlán, donde la densidad de árboles (33 árboles ha⁻¹) y la diversidad genética fueron menores (Cuadro 2) (Cruz-Larios *et al.*, 2022), bajo el supuesto de que una menor densidad de árboles es un indicador de un tamaño efectivo (N_e) reducido de la población donde la probabilidad de apareamiento entre individuos genéticamente emparentados aumenta, disminuyendo la diversidad genética (Frankham *et al.*, 2004).

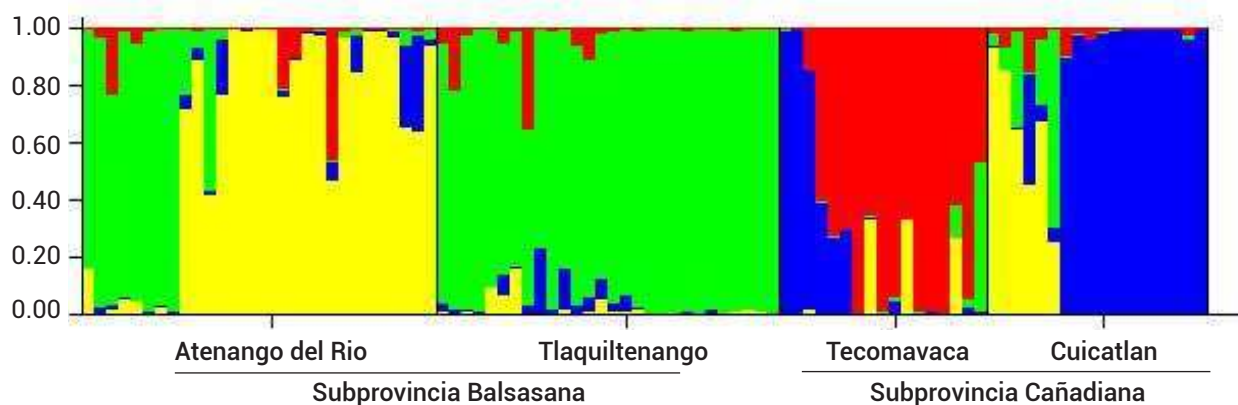


Figura 2. Agrupamiento sin considerar el origen de los individuos de *Bursera linanoe* de cuatro poblaciones naturales. Cada color representa un grupo (K) formado por el programa STRUCTURE.

Los valores altos de heterocigosidad esperada para *B. linanoe* indican que la selección puede ser la fuerza evolutiva que está conduciendo a la diferenciación de las poblaciones de lináloe debido a que la migración inhibe los efectos de la deriva genética (Hartl, 2020). El número de migrantes entre poblaciones de *B. linanoe* es suficiente para evitar la diferenciación entre poblaciones de esta especie y mantener la diversidad genética a través del flujo génico o migración y favoreciendo los niveles altos de diversidad genética a través de la selección de individuos genéticamente diferentes y un apareamiento cruzado favorecido por una polinización por insectos (Daly *et al.*, 2022; Rivas-Arancibia *et al.*, 2015). Un migrante por cada dos generaciones es suficiente para evitar la diferenciación por efecto de deriva genética (Hartl, 2020). También, se presenta un número de migrantes suficiente ($N_m = 3.57$) para evitar el efecto de deriva genética para *B. simaruba*, una especie con amplia distribución en el bosque tropical caducifolio (Dunphy y Hamrick, 2007).

Por los resultados, se recomienda establecer una estrategia de conservación donde se consideren como prioritarias las cuatro poblaciones de lináloe; también se sugiere incluir otras poblaciones de *B. linanoe* en estudios de diversidad genética utilizando marcadores moleculares, secuenciación y estudios de jardín común para generar información como base para la conservación de lináloe.

CONCLUSIONES

Bursera linanoe presenta una diversidad genética alta, la mayor diversidad genética se exhibió en Atenango del Río en la subprovincia Balsasana, mientras que la menor diversidad genética se identificó en Cuicatlán en la subprovincia Cañadiana. La mayor diversidad genética se registró dentro de poblaciones; sin embargo, se encontró una alta diversidad genética entre poblaciones, que está conduciendo a una diferenciación entre poblaciones de *B. linanoe*.

AGRADECIMIENTOS

El primer autor agradece a CONAHCYT por la beca nacional durante sus estudios. También se agradece al Colegio de Postgraduados por el financiamiento para desarrollar la investigación, así como a los ejidos Huautla Morelos, Santa María Tecomavaca y San Juan Bautista Cuicatlán, especialmente a Romeo Adalberto Salinas González. Asimismo, a la M.C. Yanet Jiménez Salmerón y M.C. Areli Madai Guzmán Pozos por apoyar en el muestreo del follaje. Finalmente, agradecemos al personal del laboratorio de cultivo *in vitro* del posgrado de Recursos Genéticos y Productividad, especialmente a la M. C. Verónica Martínez Bustamante.

BIBLIOGRAFÍA

- Alaniz-Álvarez S. A. y A. F. Nieto-Samaniego (2005) El sistema de fallas Taxco-San Miguel de Allende y la Faja Volcánica Transmexicana, dos fronteras tectónicas del centro de México activas durante el Cenozoico. *Boletín de La Sociedad Geológica Mexicana* 57:65-82, <https://doi.org/10.18268/BSGM2005v57n1a4>
- Blyton M. D. J. and N. S. Flanagan (2012) A comprehensive Guide to: GenAIE Genetic Analysis in Excel 6.5. Australian National University. Canberra, Australia. 131 p.
- Bocanegra-González K. T., E. Thomas, M. L. Guillemín, C. Alcázar C., L. G. Moscoso H., M. A. Gonzalez y D. De Carvalho (2019) Diversidad y estructura genética de cuatro especies arbóreas clave del bosque seco tropical en Colombia. *Caldasia* 41:78-91, <https://doi.org/10.15446/caldasia.v41n1.71327>
- Castellanos-Bolaños J. F. y M. Gómez-Cárdenas (2022) Caracterización silvícola de poblaciones naturales de *Bursera linanoe* en los estados de Oaxaca, Puebla y Guerrero. *eCUCBA* 9:57-65, <https://doi.org/10.32870/ecucba.vi18.241>
- Coppi A., L. Cecchi, F. Selvi and M. Raffaelli (2010) The Frankincense tree (*Boswellia sacra*, Burseraceae) from Oman: ITS and ISSR analyses of genetic diversity and implications for conservation. *Genetic Resources and Crop Evolution* 57:1041-1052, <https://doi.org/10.1007/s10722-010-9546-8>
- Cruz-Larios I. J., C. Ramírez-Herrera, J. I. Valdez-Hernández, M. V. Velasco-García, V. M. Cetina-Alcalá y J. Jasso-Mata (2022) Estructura y patrón de distribución horizontal de *Bursera linanoe* en dos subprovincias bióticas en México. *Bosque* 43:179-191, <https://doi.org/10.4067/S0717-92002022000200179>
- Cruz-Salazar B., L. Ruiz-Montoya, N. Ramírez-Marcial and M. García-Bautista (2021) Relationship between genetic variation and diversity of tree species in tropical forests in the El Ocote biosphere reserve, Chiapas, Mexico. *Tropical Conservation Science* 14:1-14, <https://doi.org/10.1177/1940082920978143>
- Daly D. C., R. O. Perdiz, P. V. A. Fine, G. Damasco, M. C. Martínez-Habibe and L. Calvillo-Canadell. (2022) A review of neotropical Burseraceae. *Brazilian Journal of Botany* 45:103-137, <https://doi.org/10.1007/s40415-021-00765-1>
- De-Nova J. A., R. Medina, J. C. Montero, A. Weeks, J. A. Rosell, M. E. Olson, ... and S. Magallón (2012) Insights into the historical construction of species-rich Mesoamerican seasonally dry tropical forests: the diversification of *Bursera* (Burseraceae, Sapindales). *New Phytologist* 193:276-287, <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2011.03909.x>
- Dos Santos Araujo F., M. V. Pacheco, F. A. Vieira, C. S. Ferrari, F. C. Félix e K. P. T. das Chagas (2016) ISSR molecular markers for the study of the genetic diversity of *Mimosa caesalpiniaefolia* Benth. *Idesia* 34:47-52, <https://doi.org/10.4067/S0718-34292016000300007>
- Doyle J. J. and J. L. Doyle (1987) A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin* 19:11-15.
- Dunphy B. K. and J. L. Hamrick (2007) Estimation of gene flow into fragmented populations of *Bursera simaruba* (Burseraceae) in the dry-forest life zone of Puerto Rico. *American Journal of Botany* 94:1786-1794, <https://doi.org/10.3732/ajb.94.11.1786>
- Evanno, G., S. Regnaut and J. Goudet (2005) Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Molecular Ecology* 14:2611-2620, <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2005.02553.x>
- Frankham R., J. D. Ballou and D. A. Briscoe (2002) Introduction to Conservation Genetics. Cambridge University Press. New York, USA. 617 p.
- Frankham R., J. D. Ballou and D. A. Briscoe (2004) A Prime of Conservation Genetics. Cambridge University Press. New York, USA. 220 p.
- Fuentes-Amaro S. L., J. P. Legaria-Solano y C. Ramírez-Herrera (2019) Estructura genética de poblaciones de *Pinus cembroides* de la región central de México. *Revista Fitotecnia Mexicana* 42:57-65, <https://doi.org/10.35196/rfm.2019.1.57>
- Gemmill C. E. C. and E. R. P. Grierson (2021) Inter-simple sequence repeats (ISSR), microsatellite-primed genomic profiling using universal primers. In: Molecular Plant Taxonomy: Methods and Protocols, Methods in Molecular Biology, Vol. 2222. P. Besse

- (ed.). Humana Press-Springer. New York, USA. pp:249-262, https://doi.org/10.1007/978-1-0716-0997-2_14
- Gutiérrez-Santiago J., J. Jasso-Mata, S. A. Queenborough, M. Soto-Hernández, J. Rzedowski, M. Jiménez-Casas y C. R. Castillo-Martínez (2016)** Clasificación sexual de lináloe (*Bursera linanoe* Burseraceae) e implicaciones productivas de aceite esencial, en tres poblaciones naturales de Guerrero, México. *Agroproductividad* 9:66-72.
- Guzmán-Pozos A. M., C. Ramírez-Herrera, A. Aldrete y E. Cruz-Cruz (2018)** Germinación y emergencia de *Bursera linanoe* (La Llave) Rzedowski, Calderón & Medina. *Revista Fitotecnia Mexicana* 41:107-115, <https://doi.org/10.35196/rfm.2018.2.107-115>
- Hartl D. L. (2020)** A Prime of Population Genetics and Genomics. Fourth edition. Oxford University Press. New York, USA. 296 p.
- Höglund J. (2009)** Evolutionary Conservation Genetics. Oxford University Press. New York, USA. 189 p.
- Hubisz M. J., D. Falush, M. Stephens and J. K. Pritchard (2009)** Inferring weak population structure with the assistance of sample group information. *Molecular Ecology Resources* 9:1322-1332, <https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2009.02591.x>
- Krebs J. E., E. S. Goldstain and S. T. Kilpatrick (2018)** Lewin's Genes XII. Jones & Bartlett Learning. Burlington, Massachusetts, USA. 3194 p.
- Kumar J. and V. Agrawal (2017)** Analysis of genetic diversity and population genetic structure in *Simarouba glauca* DC. (an important bio-energy crop) employing ISSR and SRAP markers. *Industrial Crops and Products* 100:198-207, <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.02.035>
- Lu P. L., M. Yorkson and C. W. Morden (2016)** Population genetics of the endemic Hawaiian species *Chrysodracon hawaiiensis* and *Chrysodracon auwahiensis* (Asparagaceae): insights from RAPD and ISSR variation. *International Journal of Molecular Sciences* 17:1341, <https://doi.org/10.3390/ijms17081341>
- Neale D. B and N. C. Wheeler (2019)** The Conifers: Genomes, Variation and Evolution. Springer. Cham, Germany. 590 p, <https://doi.org/10.1007/978-3-319-46807-5>
- Nei M. (1978)** Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics* 89:583-590, <https://doi.org/10.1093/genetics/89.3.583>
- Nei M. (1987)** Molecular Evolutionary Genetics. Columbia University Press. New York, USA. 514 p.
- Nurchis M. C., F. C. Radio, L. Salmasi, A. H. Alizadeh, G. M. Raspolini, G. Altamura, ... and G. Damiani (2024)** Cost-effectiveness of whole-genome vs whole-exome sequencing among children with suspected genetic disorders. *JAMA Network Open* 7:e2353514, <https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2023.53514>
- Pritchard J. K., M. Stephens, N. A. Rosenberg and P. Donnelly (2000)** Association mapping in structured populations. *American Journal of Human Genetics* 67:170-181, <https://doi.org/10.1086/302959>
- Quintero M. E., Y. Rico, A. Lira N. and A. González R. (2021)** Molecular evidence and ecological niche modeling reveal an extensive hybrid zone among three *Bursera* species (section Bullockia). *PLoS ONE* 16:e0260382, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0260382>
- Rendon T. (2020)** Naturaleza encerrada entre los olores del lináloe y los grabados de Olinalá. *Graffilia* 4:109-112.
- Rivas-Arancibia S. P., E. Bello-Cervantes, H. Carrillo-Ruiz, A. R. Andrés-Hernández, D. M. Figueroa-Casto y S. Guzmán-Jiménez (2015)** Variaciones de la comunidad de visitantes florales de *Bursera copallifera* (Burseraceae) a lo largo de un gradiente de perturbación antropogénica. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 86:178-187, <https://doi.org/10.7550/rmb.44620>
- Rzedowski J., R. Medina L. y G. Calderón R. (2004)** Las especies de *Bursera* (Burseraceae) en la cuenca superior del río Papaloapan (México). *Acta Botánica Mexicana* 66:23-151, <https://doi.org/10.21829/abm66.2004.970>
- Sagar T., N. Kappor and R. Mahajan (2023)** Microsatellites as potential molecular markers for genetic diversity analysis in plants. In: *Molecular Techniques: A Potential Approach of Crop Improvement*. N. Kumar (ed). Springer. Singapore. pp:81-101, https://doi.org/10.1007/978-981-99-1612-2_5
- Weeks A. and A. Tye (2009)** Phylogeography of palo santo trees (*Bursera graveolens* and *Bursera malacophylla*; Burseraceae) in the Galápagos archipelago. *Botanical Journal of the Linnean Society* 161:396-410, <https://doi.org/10.1111/j.1095-8339.2009.01008.x>
- White T. L., W. T. Adams and D. B. Neals (2007)** Forest Genetics. CABI Publishing. Oxfordshire, UK. 682 p.