



Diversidad genética de *Oreomunnea mexicana* (Juglandaceae), relictas del bosque de niebla de Sierra Juárez, Oaxaca. México

Genetic diversity of *Oreomunnea mexicana* (Juglandaceae), a relict species of the Sierra Juárez cloud forest, Oaxaca

Sunem Pascual-Mendoza¹, Ricardo Clark-Tapia², Jorge E. Campos³, Alejandro Monsalvo-Reyes³, María Delfina Luna-Krauletz², Nelly Pacheco-Cruz³, Montserrat Gorgonio-Ramírez², Francisco Naranjo-Luna⁴ y Cecilia Alfonso-Corrado^{2*}

¹ Instituto Politécnico Nacional. Unidad Oaxaca. Centro Interdisciplinario para el Desarrollo Integral Regional. tsunami_pame@hotmail.com

² Universidad de la Sierra Juárez. Instituto de Estudios Ambientales. Ixtlán de Juárez, Oaxaca, México. rclark@unsij.edu.mx; mtkrauletz@unsij.edu.mx; montse_grmz@hotmail.com

³ Universidad Nacional Autónoma de México. Unidad de Biotecnología y Prototipos. Facultad de Estudios Superiores de Iztacala. Tlalnepantla, Estado de México, México. jcampos@servidor.unam.mx; reyesac@servidor.unam.mx; nellyjazmin92@gmail.com.mx

⁴ Instituto Tecnológico Superior de Jesús Carranza, Veracruz, México. rancobio@gmail.com.mx

* Autor de correspondencia. liana@unsij.edu.mx

RESUMEN

Oreomunnea mexicana es una especie relictas y amenazada, que constituye un elemento arbóreo dominante en el bosque de niebla de la Sierra Juárez, Oaxaca. La especie es emblemática y se encuentra incorporada en la cosmovisión de los habitantes de la región, donde, además, desempeña funciones ecológicas y servicios ecosistémicos muy importantes. El objetivo del presente trabajo fue analizar la diversidad y estructura genética, así como evaluar la estructura genética espacial a escala fina, utilizando marcadores moleculares con fines de conservación *in situ*. Se utilizaron marcadores dominantes denominados *inter simple sequence repeat* con los que se analizaron individuos de nueve poblaciones (25 por población) y 120 individuos de una parcela de 400 m². Los resultados mostraron niveles altos de diversidad genética ($H_e = 0.405 \pm 0003$) y moderados de flujo génico ($N_m = 2.25$) y baja diferenciación genética ($P < 0.001$; 8%). La estructura genética espacial fina mostró una distribución aleatoria, mientras que el análisis de parentesco exhibió alta similitud genética entre los individuos analizados. Los niveles altos de diversidad sugieren que la especie no se encuentra degradada genéticamente, sin embargo, debido a su distribución fragmentada y alta vulnerabilidad ambiental, se sugiere para su conservación *in situ*, se dé prioridad para su protección inmediata a las poblaciones de El Relámpago (por su gran riqueza alélica), El Panteón y El Orquidiario debido a su baja diversidad genética y por la alta vulnerabilidad por perturbación antrópica y ambiental.

PALABRAS CLAVE: conservación, estructura genética espacial, fragmentación, marcador molecular, poblaciones.

ABSTRACT

Oreomunnea mexicana is relict and threatened species; it constitutes a dominant tree element in the foggy forest of the Sierra Juárez, Oaxaca. The species is emblematic and is incorporated into the worldview of the inhabitants of the region, where, in addition, it performs very important ecological functions and ecosystem services. The aim of the present work was to analyze the diversity and genetic structure, as well as to evaluate the spatial genetic structure on a fine scale using molecular markers for *in situ* conservation activities. Dominant markers called *inter simple sequence repeat* were used with which individuals from nine populations (25 per population) and 120 individuals from a plot of 400 m² were analyzed. The results showed high levels of genetic diversity ($H_e = 0.405 \pm 0003$) and moderate levels of gene flow ($N_m = 2.25$) and low genetic differentiation ($P < 0.001$; 8%). The fine spatial genetic structure showed a random distribution, while the kinship analysis exhibited high genetic similarity among the analyzed individuals. High levels of diversity suggest that the species is not genetically degraded, however, due to its fragmented distribution and high environmental vulnerability, it is suggested for its conservation *in situ*, priority should be given for immediate protection to the populations of El Relámpago (due to its great genetic diversity), the Panteon and the Orquidiario due to its low genetic diversity and the high vulnerability due to anthropic and environmental disturbance.

KEYWORDS: conservation, spatial genetic structure, fragmented, molecular marker, population.

INTRODUCCIÓN

Las especies relictas se definen como aquellas que en el pasado tenían una amplia distribución geográfica y actualmente tienen un espacio geográfico muy restringido (Lomolino, Riddle y Brown, 2006; Habel, Assmann, Schmitt y Avise, 2010). Estas se caracterizan por presentar poblaciones con bajo número de individuos (García-González *et al.*, 2008), distribución discontinua y poblaciones fragmentadas por pérdida de su hábitat (Habel *et al.*, 2010). Son especies susceptibles a procesos de cambio climático (Rodríguez-Sánchez, 2011) y pérdida de diversidad genética (Habel *et al.*, 2010; Dantas *et al.*, 2015) con estructuración genética de sus poblaciones (Tang *et al.*, 2008), por lo que se ha recomendado su estudio, para realizar acciones adecuadas de conservación a mediano y largo plazo (Habel *et al.*, 2010).

La conservación de las especies relictas requiere un enfoque de conservación local *in situ* (Alfonso-Corrado *et al.*, 2017). El enfoque de conservación *in situ*, es uno de los nuevos paradigmas de la biología de la conservación, donde el conocimiento biológico de la especie permite la participación y vinculación entre científicos y las comunidades locales. El conocimiento científico y tradicional permite que las estrategias de conservación a escala local sean exitosas sin la necesidad de decretar áreas protegidas (Primack, 2012). En México, las especies relictas están presentes principalmente en los bosques tropicales y de niebla en donde ocurre una alta diversidad de estas especies (Vargas-Rodríguez, 2011). Los bosques de niebla en el país son ecosistemas que albergan especies de origen tropical y templado, entre las que sobresalen las especies endémicas y relictas (Anta-Fonseca *et al.*, 2010; Vargas-Rodríguez, 2011); además, son considerados estratégicos por los servicios ecosistémicos de tipo hidrológico y captación de carbono (Álvarez-Arteaga, García-Calderón, Krasilnikov y García-Oliva, 2013; Alfonso-Corrado *et al.*, 2017).

Entre las especies relictas del bosque de niebla de México, *Oreomunnea mexicana* (Standl.) J. F. Leroy (Juglandaceae) es de relevancia; esta especie surgió en el Mioceno tardío y Plioceno temprano, hace aproxima-

damente 23 millones de años (Rzedowski y Palacios, 1977), y es considerada en peligro de extinción en la Lista Roja de árboles del bosque de niebla mexicano (González-Espinosa, Meave, Lorea-Hernández, Ibarra-Manríquez y Newton, 2011). *O. mexicana* es el elemento arbóreo dominante en diversas áreas del bosque de niebla de la Sierra Juárez localizado en Oaxaca (Rzedowski y Palacios, 1977; Alfonso-Corrado *et al.*, 2017). En este bosque de niebla, uno de los más conservados y extensos de México (Anta-Fonseca *et al.*, 2010), la especie aporta importancia biológica al considerarse un elemento clave para la conservación y mantenimiento de la biodiversidad asociada (*e.g.* *Panthera onca* Linnaeus), además que se encuentra inmersa en la cosmovisión de la cultura indígena chinanteca, es utilizada en la construcción de casas (Alfonso-Corrado *et al.*, 2017). Sin embargo, a nivel ecológico las poblaciones en la Sierra Juárez muestran reducción por el efecto de cambio ambiental (Alfonso-Corrado *et al.*, 2017), además de su baja germinación, ya que sus semillas tienen requerimientos de hábitats específicos para lograr un establecimiento exitoso (Pacheco-Cruz *et al.*, 2019).

Dada la importancia biológica y cultural de la especie, para su conservación *in situ* a mediano y largo plazo, son necesarios los estudios que permitan tomar decisiones adecuadas. El estudio genético de poblaciones permite tomar acciones preventivas, para que la diversidad genética de una especie no se erosione y junto con ella, la capacidad para responder a factores bióticos y abióticos (Dvorak, 2012), pero también son útiles para determinar cuáles son las poblaciones críticas que permite tomar acciones adecuadas de conservación *in situ* y *ex situ* (Primack, 2012).

OBJETIVOS

El objetivo de este estudio es evaluar la diversidad y estructura genética de *Oreomunnea mexicana* en el bosque de niebla de Sierra Juárez, Oaxaca. Además, analizar en una población la estructura genética espacial a escala fina. Por ser una especie relicto amenazada, con poblaciones fragmentadas se espera encontrar niveles bajos de diversidad genética y aislamiento genético entre poblaciones. Dada la dispersión por viento de sus semillas se espera obtener una estructura genética espacial a escala fina aleatoria.



MATERIALES Y MÉTODOS

Sitio de estudio

La Sierra Juárez se localiza en una zona de transición biogeográfica al norte de la ciudad de Oaxaca, México, ubicada (17° 19' de latitud norte y 96° 29' de longitud oeste) dentro de la Sierra Madre de Oaxaca. El clima del área de estudio es semicálido húmedo con abundantes lluvias en verano, temperatura media anual de 18 °C, y una precipitación media anual de 1500 mm (Clark-Tapia, Suárez-Mota, Venegas-Barrera y Velasco-Hipólito, 2016). El relieve tiene pendientes muy pronunciadas (> 50 °) que generan gran diversidad de microclimas y difícil acceso (Naranjo-Luna, 2014). El muestreo se realizó en el bosque de niebla ubicado en los municipios de Santiago Comaltepec e Ixtlán de Juárez (Fig. 1).

Especie de estudio

Oreomunnea mexicana (nombre común: caudillo; nombre en Chinanteco: *maá hue loó*; que significa árbol que se descascara), pertenece al orden Fagales (mismo que los encinos) y familia Juglandaceae, es un árbol relicto de la era (Rzedowski y Palacios, 1977) y se distribuye de forma discontinua en México (Oaxaca, Chiapas y Veracruz), Guatemala, Nicaragua, Panamá y Costa Rica, principalmente entre 1100 m y 2000 m snm (González-Espinosa *et al.*, 2011). Esta especie puede tener hasta 40 m de altura y presenta hojas perennes pinnadas y el fruto es una nuez globosa encerrada por la base de la bráctea abaxial y el lóbulo bracteolar adaxial. La corteza exfoliada que se desprende en pedazos grandes y el fruto con la larga bráctea trilobada son características importantes para distinguir la especie (Russell y Cohn, 2012).

Elección de sitios y recolecta del material biológico

De enero a mayo de 2013, muestras de tejido foliar de 225 individuos (25 por sitio) de *O. mexicana* se recolectaron en nueve sitios (tres en el municipio de Ixtlán de Juárez y seis en el municipio de Santiago Comaltepec (Fig. 1), a lo largo de un transecto de 1.25 km. Un individuo se recolectó cada

50 m para evitar el parentesco entre individuos cercanos. Adicionalmente, muestras de tejido foliar de 120 individuos se recolectaron en una parcela de 20 m² × 20 m² (400 m²) en el sitio de San Bernardo (Fig. 1) y su ubicación espacial (latitud y longitud) se registró con un GPS submétrico Mobilemapper Field y Office v. 10 (Marca Ashtech).

Análisis genéticos

Se extrajo ADN a hojas jóvenes de 345 individuos siguiendo el protocolo de DNeasy Plant Minikit (QIAGEN, 2004). La cantidad y calidad del DNA se visualizaron en geles de agarosa de 1.0%. Se utilizaron para el análisis 12 oligonucleótidos (814, 844A, 844B, 17898A, 17899B, HB8, HB9, HB11, HB12, HB13, HB14 y HB15) de tipo inter simple sequence repeats (ISSRs) diseñados por Wolfe, Xiang and Kephartas (1998).

La reacción de PCR de amplificación utilizada tuvo 25 µl de volumen total; que contuvo 17.63 µl de agua purificada (Invitrogen™), 2 µl (50 mM) de oligonucleótido, 0.3 µl de *taq* polimerasa (Invitrogen™), 2 µl de ADN molde, 5.07 µl de master stock [1.38 µl de agua purificada, 2.6 µl de *buffer* (Invitrogen™, pH = 8.4), 0.05 µl de MgCl₂ (1M) y 0.26 µl (0.1 mM) de cada dNTPs (0.26 µl × 4 = 1.04 µl) (Invitrogen™)]. La amplificación se realizó con el termociclador Mycycler Thermal Cycler-BIORAD (2012) y el programa de PCR consistió en pre-naturalización a 94 °C durante cinco minutos, seguida de 44 ciclos para la etapa de naturalización a 94 °C por un minuto. Se utilizó una etapa de alineamiento de 38 °C para cada oligonucleótido con duración de un minuto, una etapa de extensión de 72 °C de dos minutos y una extensión final de 72 °C de 13 minutos. Los productos de PCR obtenidos se visualizaron en geles de agarosa a 1.4% a 110 V durante 180 minutos y se tiñeron con bromuro de etidio, para luego visualizarlos con luz ultravioleta.

La base de datos se obtuvo a través de la observación visual directa de cada gel, a partir de la cual se construyó una matriz de presencias y ausencias (ceros y unos) de las bandas para cada locus de cada individuo.

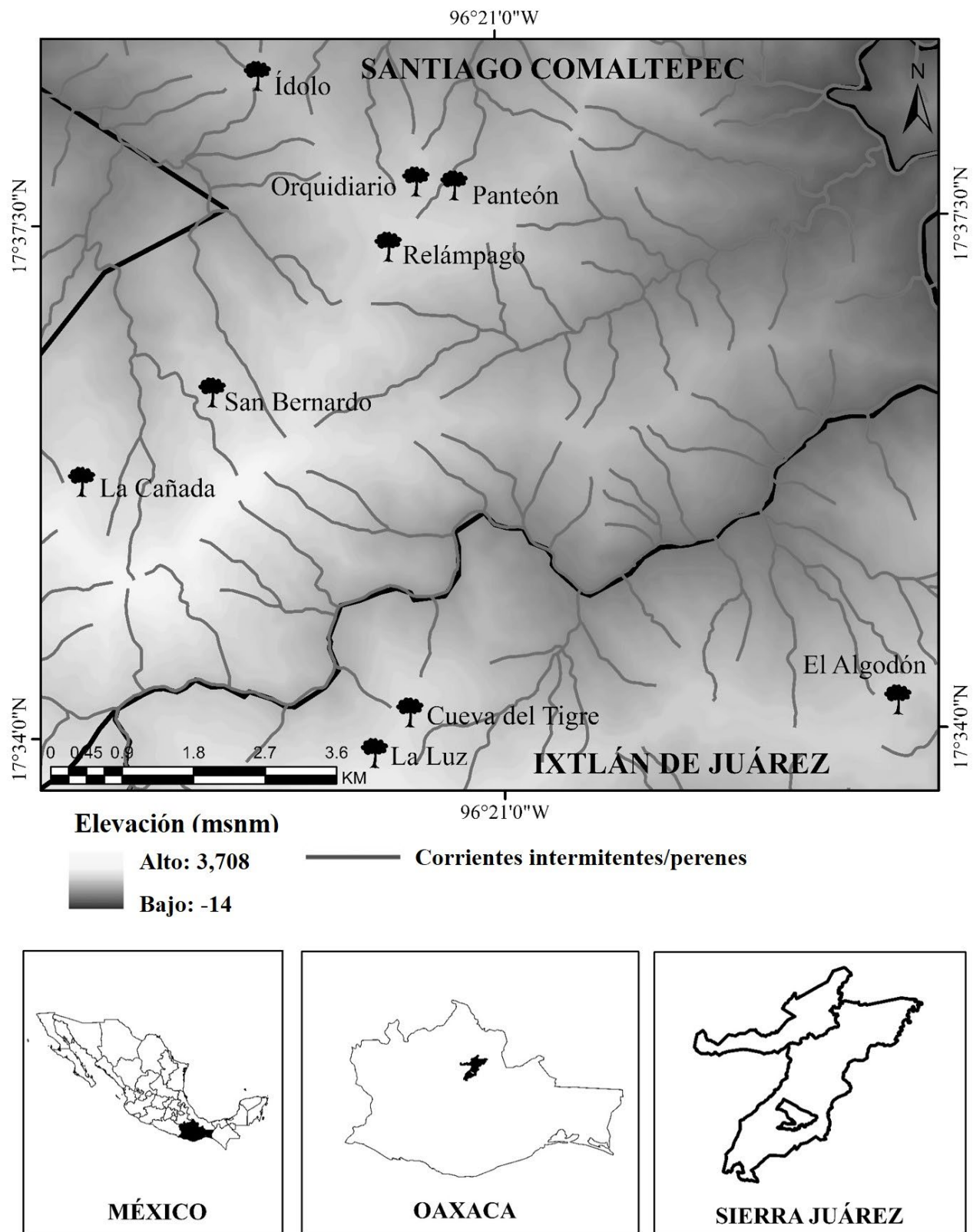


FIGURA 1. Localización de los sitios de estudio en Sierra Juárez, Oaxaca.



Análisis estadísticos de datos genéticos

Por medio del programa GenAlEx v. 6.501 (Peakall y Smouse, 2012) se determinó el número de bandas polimórficas observadas (I_o), exclusivas (I_e) por sitio, y bandas totales de los sitios (I_T). Los siguientes parámetros de diversidad genética tales como porcentaje de loci polimórficos con el criterio de 95% (% P), heterocigosis esperada (H_e) e índice de Shannon (I) (Hedrick, 2011) se obtuvieron en los nueve sitios muestreados.

La estructura genética se evaluó con el estadístico F_{st} de Wright (1951), el cual es una medida de diferenciación genética entre las poblaciones. Posterior al cálculo de F_{st} se estimó número de migrantes por generación (N_m) de Crow y Aoki (1984). También, para entender las relaciones geográficas e interrelaciones genética entre los sitios se realizó un análisis de agrupamiento (clúster análisis) usando el estimador de similitud de distancias genéticas de Nei (1978). Además, para analizar la existencia de una relación entre las distancias geográficas y las distancias genéticas se realizó una prueba de Mantel (1967) calculadas a partir de los valores F_{st} entre los sitios y convertidos a valores de flujo génico, $N_m = F_{st}/(1-F_{st})$ con estimaciones de densidad de Kernel a los gráficos de correlación (Jombart, 2008). Esta prueba identifica la correlación que existe entre dos matrices simétricas y devuelve el valor del coeficiente de correlación de Pearson, en dónde valores cercanos a 1 reflejan completa dependencia positiva, valores cercanos a 0 son independientes y valores cercanos a -1 indican completa dependencia negativa.

Asimismo, para estimar la estructura genética espacial a escala fina en el sitio de San Bernardo se construyó un mapa utilizando las coordenadas geográficas y los genotipos multilocus de cada individuo ($n = 120$ individuos) utilizando el programa ArcMap v.9.3. (Environmental System Research Institute [ESRI], 2008) y una prueba de autocorrelación espacial se realizó con base en la similitud/disimilitud del patrón de bandeo de los ISSRs usando el índice de distancia de Tanimoto's (D_k) (Deichsel and Trampisch, 1985). Para probar que la población tuviera desviaciones significativas de la distribución espacial

aleatoria de la media del valor D_k se realizaron permutaciones utilizando el método de Monte Carlo a intervalos de confianza de 95%. Cada permutación consistió en una redistribución al azar de cada perfil de los ISSRs sobre las coordenadas espaciales de los individuos muestreados, el análisis se realizó utilizando el software de SGS v.1.0c (Degen, 2001). Finalmente, para determinar la relación de parentesco entre los individuos se realizó un análisis de red de expansión mínima (MSN), el cual agrupa genotipos multilocus (MLG) por distancias genéticas entre ellos. Cada MLG es un nodo y la distancia genética es representada por las aristas (líneas que conectan los nodos). Los nodos se encuentran conectados por la distancia mínima entre los individuos, que permite obtener un conjunto de nodos conectados entre ellos por distancias genéticas idénticas con base en un índice de disimilitud (e.g. Kamvar *et al.*, 2015), en este estudio, la de Hamming. El análisis se realizó con el programa R v. 3.5.3 con la librería *poppr* y las funciones *bitwise.dist* y *poppr.msn*.

RESULTADOS

En promedio 122.7 ± 3.5 bandas polimórficas claramente detectables y reproducibles se encontraron para la especie (Tabla 1) y no se detectó ninguna banda única. El intervalo en el número de bandas fue de 117 (El Panteón y El Orquidiario) a 125 (El Relámpago, La Luz, Cueva del Tigre y El Algodón). La heterocigosis esperada promedio fue de $H_e = 0.405 \pm 0.003$, mientras que, en promedio se encontró $97.16\% \pm 1.17\%$ de loci polimórficos y un Índice Shannon promedio de 0.578 ± 0.004 .

El sitio El Relámpago mostró la mayor diversidad genética en comparación con el sitio La Cueva del Tigre que obtuvo la menor diversidad de acuerdo con H_e y H' (Shannon). Los sitios El Algodón, La Cañada, La Cueva del Tigre, El Relámpago y La Cañada mostraron un porcentaje de loci polimórficos mayor al promedio, mientras que El Ídolo, El Panteón y El Orquidiario presentaron valores menores al promedio (Tabla 1). El índice de fijación poblacional (F_{st}) fue de 0.077 ± 0.018 y el flujo génico (N_m) de 2.25 migrantes por generación.

TABLA 1. Diversidad genética por sitio y promedio de la especie *Oreomunnea mexicana* en Sierra Juárez, Oaxaca.

Sitio	n	IS	I_o	I_e	uH_e	%P
San Bernardo	25	0.576 ± 0.013	123	0	0.404 ± 0.011	97.60
El Ídolo	25	0.535 ± 0.018	123	0	0.366 ± 0.014	92.00
El Panteón	25	0.549 ± 0.019	117	0	0.389 ± 0.014	91.20
El Orquidiario	25	0.572 ± 0.016	117	0	0.405 ± 0.012	93.60
El Relámpago	25	0.632 ± 0.005	125	0	0.451 ± 0.005	100.00
La Luz	25	0.617 ± 0.005	125	0	0.436 ± 0.005	100.00%
El Algodón	25	0.598 ± 0.006	125	0	0.418 ± 0.005	100.00
Cueva del Tigre	25	0.532 ± 0.008	125	0	0.358 ± 0.007	100.00
La Cañada	25	0.597 ± 0.005	125	0	0.416 ± 0.005	100.00
Promedio	25	0.578 ± 0.004	122.78 ± 3.18	0	0.405 ± 0.003	97.16 ± 1.27

n = número de individuos por muestra; IS = índice de Shannon, I_o =número de bandas observadas; I_e = número de bandas exclusivas; H_e = heterocigosidad esperada; y %P = porcentaje de loci polimórficos. En paréntesis están las desviaciones estándares.

Las relaciones genéticas entre los sitios de *O. mexicana* mostró dos grupos, uno integrado por las poblaciones de Ixtlán de Juárez asociadas con dos poblaciones de Santiago Comaltepec (El Orquidiario y La Cañada) y el otro integrado por dos subconjuntos de poblaciones de Santiago Comaltepec (Fig. 2). La prueba de Mantel mostró una correlación negativa débil no significativa entre la relación de distancia geográfica y genética ($r = -0.123$; $P = 0.575$), no obstante, se observó diversas relaciones entre sitios de Santiago Comaltepec e Ixtlán de Juárez apartados en el diagrama con valores de correlación bajos en la estimación de densidad de Kernel (Fig. 3).

El índice de Tanimoto mostró ausencia de autocorrelación significativa, lo cual indicó que la distribución de los genotipos multilocus fue al azar (Fig. 4). El análisis de parentesco con el análisis de red de expansión mínima encontró una similitud mayor a 92%, y una conexión entre nodos inmediatos de 0.01 en distancia genética. El mayor número de conexiones a otros genotipos dentro de la población fue registrado por los genotipos o nodos principales 6, 11, 18, 12, 39 y 98 que mostraron una distancia promedio entre ellos de 0.022 (Fig. 5). Los genotipos multilocus que integraron cada nodo principal no se encontraron distribuidos de manera agregada, sino distribuidos espacialmente en el área de estudio.

DISCUSIÓN

La diversidad genética obtenida con marcadores dominantes (ISSRs), como los utilizados en las poblaciones de *O. mexicana* fue intermedia comparable al de especies endémicas con distribución restringida del orden Fagales en Oaxaca (Pacheco-Cruz, 2019), sin embargo es alta si se compara con estudios de especies de árboles relictos, como *Podocarpus sellowii* ($H_e = 0.072$) (Dantas *et al.*, 2015), *Gomortega keule* ($H_e = 0.2465 - 0.4627$) (García-González *et al.*, 2008) y *Abies ziyuanensis* ($H_e = 0.136$) (Tang *et al.*, 2008).

Se ha sugerido que el mantenimiento de la diversidad genética a través del tiempo en una planta relictos puede ser explicada en parte por la historia de vida común del género (Rodríguez-Barahona y Eguiarte, 2014). Entre las características de historia de vida que podrían amortiguar la pérdida de diversidad genética y que presenta la especie en Sierra Juárez, Oaxaca se encuentran: 1) una alta longevidad y alta abundancia de individuos, aspecto que cumplía la especie al momento de este estudio (cfr. Alfonso-Corrado *et al.*, 2017) y la distingue de otras relictos con bajo número de individuos en sus poblaciones (García-González *et al.*, 2008), 2) contar con un sistema de polinización por viento e incompatibilidad en el sistema reproductor (Stone, 1972; Russell y Cohn, 2012), 3) establecimiento constantes de nuevos individuos vía semilla, en cuyo proceso ocurre



recombinación genética y nueva diversidad genética (Hedrick, 2011) y 4) estar presente en hábitats de estadios sucesionales tardíos (Naranjo-Luna, 2014).

Un aspecto destacable, que se ha descrito recientemente es el efecto de las oscilaciones climáticas en el tamaño poblacional y variación genética de *Alsophylla firma*

en el bosque de niebla durante el Pleistoceno (Rodríguez-Barahona y Eguiarte, 2014). Este proceso de oscilación climática asociado con las características de historia de vida, podrían explicar los niveles actuales de variación genética en *O. mexicana*, a futuro un estudio filogeográfico con modelos paleoclimáticos permitiría analizar este suceso.

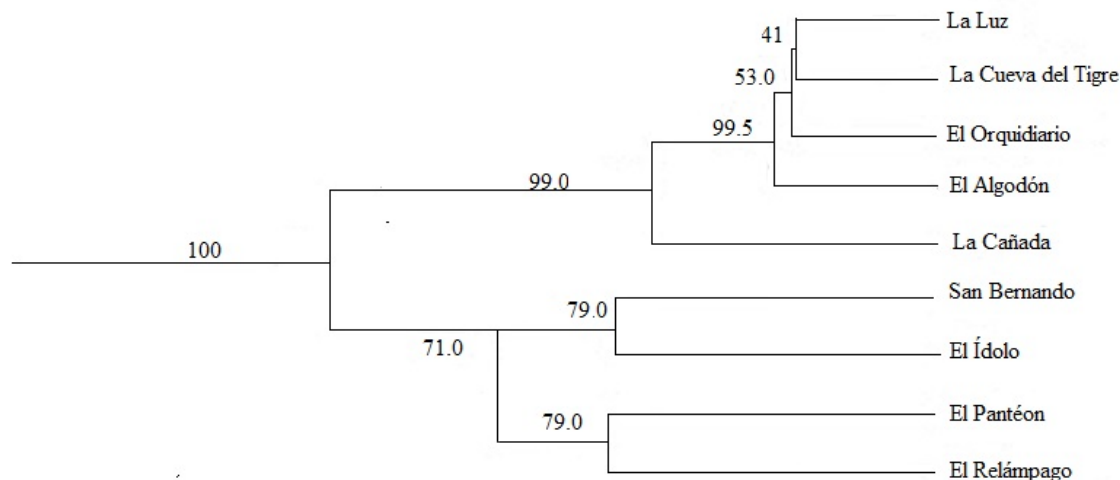


FIGURA 2. Fenograma de las poblaciones de *O. mexicana* en Sierra Juárez, Oaxaca. En cada nodo se indica el número de replicas que lo sustentan.

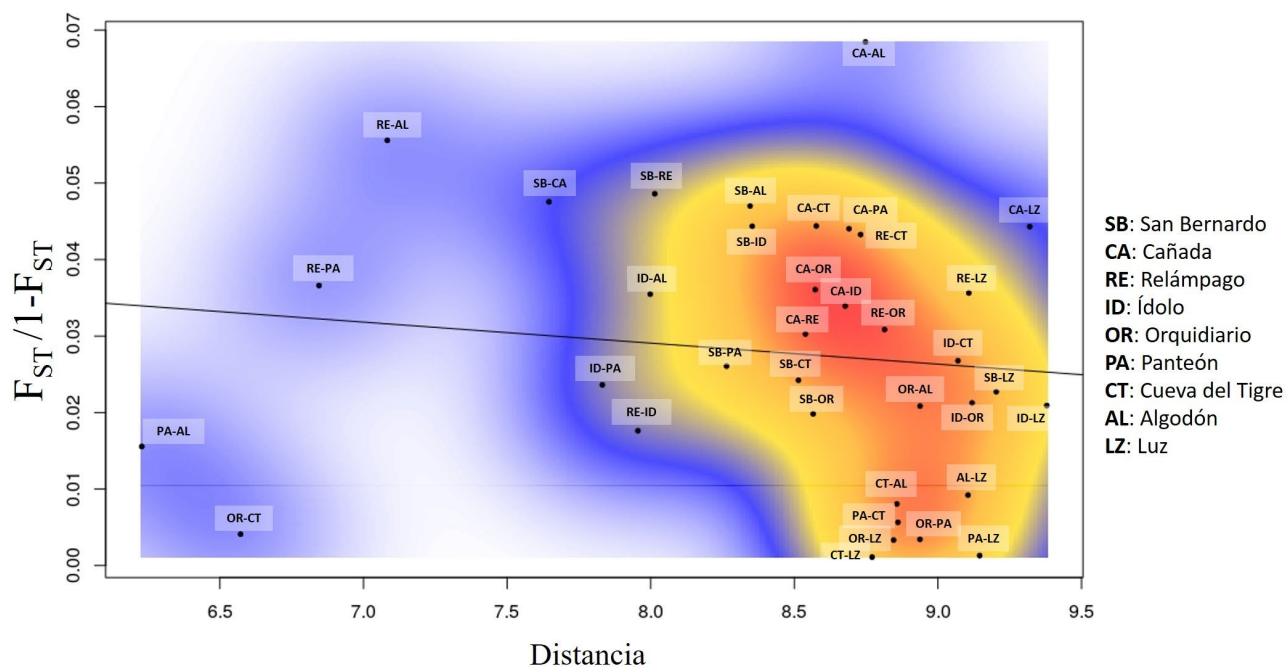


FIGURA 3.- Prueba de Mantel entre una matriz de distancias geográficas (Km) y una de distancias genéticas representadas por flujo génico (Nm) con estimaciones de densidad de Kernel. Los colores representan el valor acumulado de la relación entre pares de poblaciones de mayor (rojo) a menor (blanco).

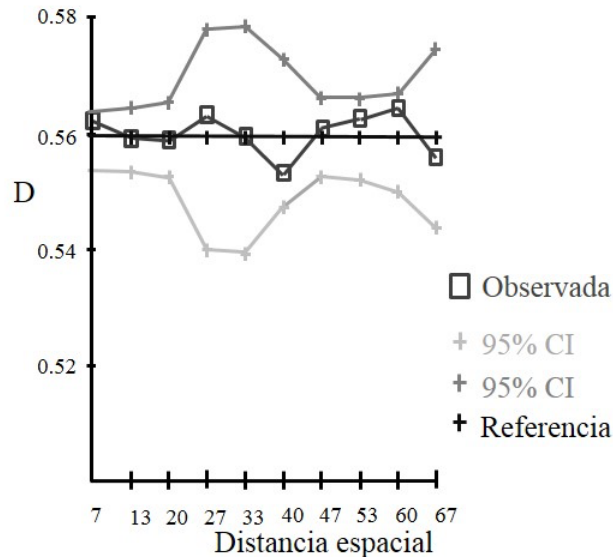


FIGURA 4. Distograma con coeficientes de autocorrelación espacial y clases de distancia entre los individuos de *O. mexicana* en la Sierra Juárez, Oaxaca.

Los puntos representan los valores observados de distancia (*D*), la línea sólida representa los valores esperados para una distribución al azar y las líneas con puntos son los límites de confianza superior e inferior a 95%.

Por otro lado, las poblaciones de *O. mexicana* no se encuentran estructuradas, lo cual, en árboles de vida larga, como lo es *O. mexicana* se ha atribuido al sistema de polinización por viento, que permite que el polen viaje largas distancias, por lo que un flujo de génico mayor a uno es suficiente para homogenizar las frecuencias alélicas y evitar la diferenciación genética entre poblaciones (Wright, 1951; Hedrick, 2011). Esto no es común en especies relictos con poblaciones aisladas y fragmentadas que presentan aislamiento por distancia y poblaciones estructuradas (Tang *et al.*, 2008). No obstante, que las poblaciones de *O. mexicana* no mostraron un aislamiento por distancia significativo, el resultado en la prueba de Mantel y el análisis de agrupamiento sugieren un proceso de diferenciación entre poblaciones, particularmente entre las poblaciones de Ixtlán de Juárez y Santiago Comaltepec. Este proceso de diferenciación puede ser generado por la fragmentación y discontinuidad entre poblaciones (García-González *et al.*, 2008), así como el sistema orográfico conformado por montañas con altitud mayor a 3500 m snm, que en conjunto pueden actuar como barrera geográfica que interfieren con la dispersión de polen.

Un aislamiento por distancia entre poblaciones atribuido a fragmentación e interferencia en la dispersión de polen por montañas es reportado en la Sierra Juárez por Pacheco-Cruz (2019) para el encino microendémico *Quercus macdougalii*, a pesar de su corta distancia entre el par más distante de poblaciones (< 20 km), mayor que la *O. mexicana* de 9.2 km. Este patrón que no ocurre en *Q. crassifolia*, un encino cuya distribución y conectividad entre poblaciones es mayor en la Sierra Juárez (Gorgonio-Ramírez, Clark-Tapia, Campos, Monsalvo-Reyes y Alfonso-Corrado, 2017). Por ello, es necesario explorar el efecto de aislamiento genético a futuro, particularmente ante el proceso de cambio ambiental en el área de estudio que han afectado la distribución y ecología de la especie (Alfonso-Corrado *et al.*, 2017; Pacheco-Cruz *et al.*, 2018), y donde un incremento en la diferenciación genética puede tener efectos en la diversidad genética y en los procesos evolutivos de la especie (Epperson y Álvarez-Buylla, 1997).

A escala de población, la dispersión de semillas es a corta distancia (< 30 m) de la madre, ello a pesar de estar adaptada con brácteas trilobadas para dispersión de las semillas por viento (Russell y Cohn, 2012; Pacheco-Cruz *et al.*, 2019). La ausencia de una estructuración local significativa en el sitio de San Bernardo como consecuencia de una distribución espacial aleatoria de genotipos multilocus, es comparable a especies de pinos cuyo polen y semillas es dispersada por viento (Friedrich, Hernández-Díaz, Leinemann, Prieto-Ruiz y Wehenkel, 2018). No obstante, es común que plantas con dispersión limitada de semillas exhiban una estructura espacial marcada incluso si el polen se dispersa a largas distancias (Epperson y Álvarez-Buylla, 1997). La ausencia de estructura genética espacial a escala fina en *O. mexicana*, podría ser explicada por un fenómeno conocido como sombra de semillas, donde individuos emparentados, producto de una dispersión de semilla a corta distancia son eliminados con el tiempo por sobrelapamiento temporal y espacial de diferentes cohortes de plántulas (Hamrick, Murawski y Nason, 1993; Epperson y Álvarez-Buylla, 1997; Terra, Shirk y Givnish, 2014). Adicionalmente, el efecto de autoaclareo debido a competencia interespecíficas entre grupos emparentados



puede generar espaciamiento entre los individuos dejando pocos parientes cercanos (Hamrick *et al.*, 1993), aspecto observado en este estudio. Un análisis genético espacial en otras áreas podrá a futuro brindar mayor claridad acerca de la estructura espacial de la especie, así como determinar efectos en la diversidad y estructura genética.

CONCLUSIONES

Los niveles moderados de diversidad genética indican que la especie no se encuentra degradada genéticamente. Aun cuando sus poblaciones muestran ausencia de estructuración a escala regional y local, se observó una tendencia a la estructuración debido a procesos de cambio ambiental que afectan el tamaño de las poblaciones,

dispersión de semillas a escala local e interferencia en la dispersión de polen por barreras geográficas. Se debe evaluar a futuro con marcadores moleculares más finos y más poblaciones el efecto de cambio en el ambiente e historia de vida de la especie sobre la diversidad genética y procesos evolutivos. Para su conservación *in situ*, se sugiere dé prioridad para su protección inmediata a las poblaciones de El Relámpago (por su gran riqueza alélica), El Panteón, El Orquidiario y San Bernardo por la alta vulnerabilidad por perturbación antrópica (además de selección de árboles progenitores, distantes entre sí, para la colecta de semillas en programas de reforestación o para tener representado el germoplasma de *O. mexicana*).

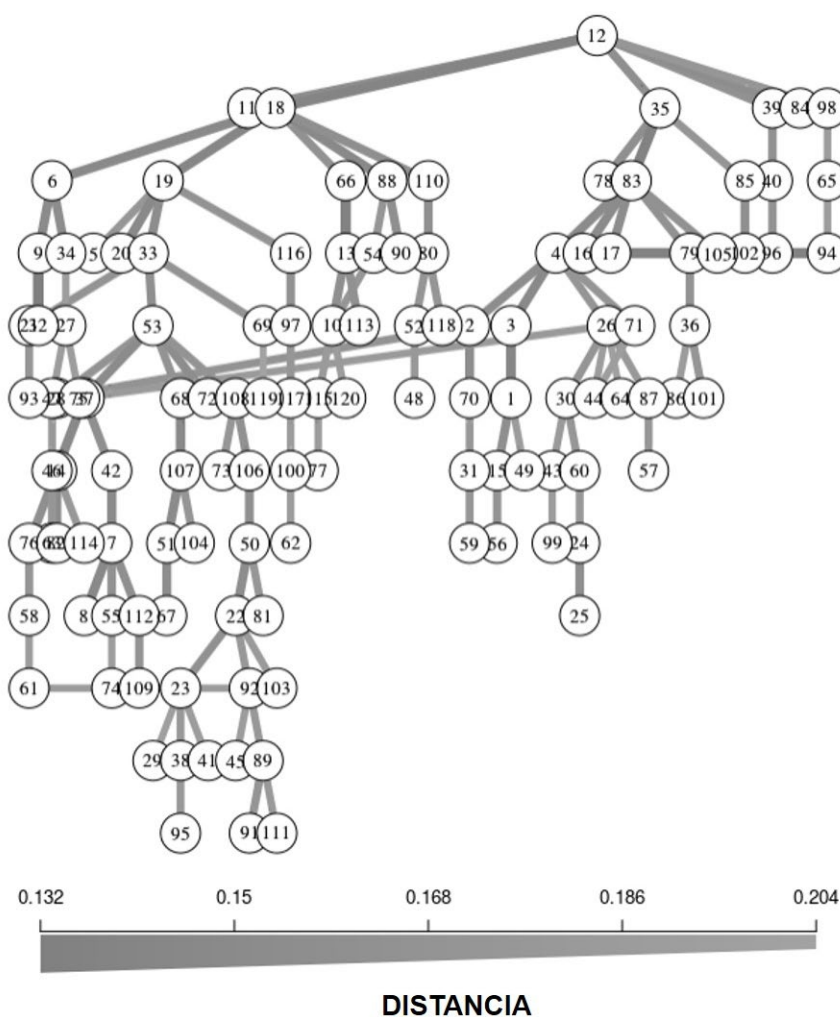


FIGURA 5. Red de expansión mínima basada en la distancia genética de Hamming para 120 individuos de *O. mexicana* del sitio San Bernardo.

Los nodos (círculos) representan genotipos individuales de multilocus únicos. Los bordes (líneas) representan la distancia genética mínima entre individuos determinada por el algoritmo de Prim.

RECONOCIMIENTOS

Los responsables del presente trabajo desean agradecer a las autoridades de la comunidades de Santiago Comaltepec e Ixtlán de Juárez por la colaboración y ayuda para acceder a las áreas de estudio brindadas. Este trabajo fue financiamiento por el Fondo FOMIX (Conacyt-Gobierno del Estado de Oaxaca) con número de proyecto 195425.

REFERENCIAS

- Alfonso-Corrado, C., Naranjo-Luna, F., Campos, J. E., Rojas-Soto, O. R., Luna-Krauletz, M. D., Bodenhorn, B., Gorgonio-Ramírez, M., & Pacheco-Cruz, N. (2017). Effects of environmental changes on the occurrences of *Oreomunnea mexicana* (Juglandaceae) in a biodiversity hotspot cloud forest. *Forest*, 8(8), 261. doi: 10.3390/f8080261
- Álvarez-Arteaga, G., García-Calderón, N. E., Krasilnikov, P., & García-Oliva, F. (2013). Almacenes de carbón en bosques montanos de niebla de la Sierra Norte, Oaxaca, México. *Agrociencia*, 47(2), 171-180.
- Anta-Fonseca, G., Galindo-Leal, C., González-Medrano, F., Koleff-Osorio, P., Meave del Castillo, J., Moya-Moreno, H., & Victoria-Hernández, A. (2010). Sierra Norte de Oaxaca. En Comisión nacional para el conocimiento y uso de la biodiversidad (Conabio) (Eds.). *El bosque mesófilo de montaña en México: Amenazas y oportunidades para su conservación y manejo sostenible*. (pp. 108-109). México, D.F.: Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad.
- Clark-Tapia, R., Suárez-Mota, M. E., Venegas-Barrera, C. S., & Velasco-Hipólito, F. (2016). Clima. En R. Clark-Tapia, M. F. Ramos-Morales, C. Alfonso-Corrado, M. M. Mendoza-Díaz, & M. F. Ramos-Morales (Eds.). *Recursos hídricos de la Sierra Norte de Oaxaca: caracterización, diagnóstico y gestión* (pp. 43-47). México: Universidad de la Sierra Juárez.
- Crow, J. F., & Aoki, K. (1984). Group selection for polygenic behavioral trait: estimating the degree of population subdivision. *Proceeding National Academy of Science*, 81(9), 6073-6077.
- Dantas, G. L., Esposito, T., Barbosa de Sousa, A. C., Félix, L., Amorin, L. L. B., Benko-Iseppon, A. M., Batalha-Filho, H., & Pedrosa-Harand, A. (2015). Low Genetic diversity and high differentiation among relict populations of the neotropical gymnosperm *Podocarpus sellowii* (Klotz.) in the Atlantic Forest. *Genetica*, 143(1), 21-30. doi: 10.007/s10709-014-9809-y
- Degen, B. (2001). *SGS version 1.0 Spatial Genetic Software*. User's manual. Recuperado de [http:// Kourou.cirad.fr/genetique/software.html](http://Kourou.cirad.fr/genetique/software.html)
- Deichsel, G., & Trampisch, H. J. (1985). *Clusteranalyse und diskriminanzanalyse* (1ª ed.). Stuttgart, Germany: Gustav Fisher.
- Dvorak, W. S. (2012). The strategic importance of applied tree conservation programs to the forest industry in South Africa. *Southern Forests: A Journal of Forest Science*, 74(1), 1-6. doi: 10.2989/20702620.2012.683635
- Epperson, B. K., & Álvarez-Buylla, E. R. (1997). Limited seed dispersal and genetic structure in life stages of *Cecropia obtusifolia*. *Evolution*, 51(1), 275-282. doi:10.1111/j.1558-5646.1997.tb02409.x
- Environmental System Research Institute [ESRI] (2008). *ArcMap. Version 9.3.1 Software of Geography Information System. User's manual*. Recuperado de <http://www.esri.com>
- Friedrich, S. C., Hernández-Díaz, J. C., Leinemann, L., Prieto-Ruiz, J. A., & Wehenkel, C. (2018). Spatial genetic structure in seed stands of *Pinus arizonica* Engelm. and *Pinus cooperi* Blanco in the State of Durango, Mexico. *Forest Science*, 64(2), 191-202. doi.org/10.1093/forsci/fxx007
- García-González, R., Carrasco, B., Peñailillo, P., Letelier, L., Herrera, R., Lavandero, B., Moya, M., & Caligari, P. D. S. (2008). Genetic variability and structure of *Gomortega keule* (Molina) Baillon (Gomortegaceae) relict populations: geographical and genetic fragmentation and its implications for conservation. *Botany*, 86(11), 1299-1320. doi: 10.1139/B08-095
- González-Espinosa, M., Meave, J. A., Lorea-Hernández, F. G., Ibarra-Manríquez, G., & Newton, A. C. (2011). *The red list of Mexican cloud forest trees* (1ª ed.). Cambridge, Reino Unido: Fauna and Flora International.
- Gorgonio-Ramírez, M., Clark-Tapia, R., Campos, J. E., Monsalvo-Reyes, A., & Alfonso-Corrado, C. (2017). Diversidad y estructura genética de *Quercus crassifolia* en sitios de manejo forestal y uso local en Sierra Juárez, Oaxaca. *Madera y Bosques*, 23(2), 85-98. doi: 10.21829/myb.2017.2321122.
- Hamrick, J. L., Murawski, A. D., & Nason, J. D. (1993). The influence of seed dispersal mechanisms on the genetic structure of tropical tree populations. *Vegetatio*, 107(1), 281-297. doi: 10.007/BF00052230
- Habel, J. C., Assmann, T., Schmitt, T., & Avise, J. C. (2010). *Relict species: from past to future* (1ª ed.). Luxemburgo: Springer.
- Hedrick, D.W. (2011). *Genetics of populations* (4a ed.). Massachusetts: Jones y Bartlett Publisher.
- Jombart, T. (2008). Adegenet: a R package for the multivariate analysis of genetic markers. *Bioinformatics*, 24(11), 1403-1405. doi: 10.1093/bioinformatics/btn129



- Kamvar, Z. N., Larsen, M. M., Kanaskie, A. M., Hansen E. M., & Grünwald, N. J. (2015). Spatial and temporal analysis of populations of the Sudden oak death pathogen in Oregon forests. *Phytopathology*, 105(7), 982-989. dx.doi.org/10.1094/PHYTO-12-14-0350-FI
- Lomolino, M. V., Riddle, B. R., & Brown, J. H. (2006). *Biogeography* (1ª ed.). Estados Unidos: Sinauer Associates, Inc.
- Mantel, N. (1967). The detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer Research*, 27, 209-220.
- Naranjo-Luna, F. J. (2014). *Ecología y genética de Oreomunnea mexicana (Standl.) J.F. Leroy (Juglandaceae), especie relicto del bosque de niebla de la Sierra Juárez, Oaxaca*. Tesis de maestría. Universidad de la Sierra Juárez. Ixtlán de Juárez, Oaxaca.
- Nei, M. (1978). Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics*, 89(3), 583-590.
- Pacheco-Cruz, N., Clark-Tapia, R., Campos-Contreras, J. E., Gorgonio-Ramírez, M., Luna-Krauletz, M. D., Naranjo-Luna, F. J., & Alfonso-Corradó, C. (2018). Demografía de *Oreomunnea mexicana* (Standl.) J. F. Leroy en el bosque de niebla de Sierra Juárez, Oaxaca. *Maderas y Bosques*, 24(2), e2421509. doi: 10.21829/myb.2018.2421509
- Pacheco-Cruz, N. (2019). *Variación genómica y distribución potencial de Quercus macdougalii Martínez, especie endémica de Oaxaca, México*. Tesis de maestría. UNAM, FES-Posgrado en Ciencias Biológicas.
- Pacheco-Cruz, N., Clark-Tapia, R., Campos, J. E., Gorgonio Ramírez, M., Luna-Krauletz, M. D., Naranjo-Luna, F., Corrales, A., & Alfonso-Corradó, C. (2019). Regeneración de *Oreomunnea mexicana* (Juglandaceae), una especie relicto, amenazada del bosque de niebla de Sierra Juárez, Oaxaca, México. *Madera y Bosques*, 25(3), e2531852. doi: 10.21829/myb.2019.2531852
- Peakall, R., & Smouse, P. E. (2012). GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research-an update. *Bioinformatics*, 28(19), 2537-2539. doi: 10.1093/bioinformatics/bts460
- Primack, R. B. (2012). *A primer of conservation Biology*. (5ª ed.). Estados Unidos: Sinauer Associates Inc.
- QIAGEN. (2004) DNeasy Plant Mini and DNeasy Plant Maxi Handbook. Manual. www.Qiagen.com
- Rodríguez-Barahona, S., & Eguiarte, L. E. (2014). Changes in the distribution of cloud forests during the last glacial predict the patterns of genetic diversity and demographic history of the tree fern *Alsophylla firma* (Cyatheaceae). *Journal of Biogeography*, 41(12), 2396-2407. doi: 10.1111/jbi.12391
- Rodríguez-Sánchez, F. (2011). Un análisis integrado de la respuesta de las especies al cambio climático: biogeografía y ecología de árboles relictos en el Mediterráneo. *Ecosistemas*, 20(1), 177-184.
- Russell, J. & Cohn, R. (2012). *Oreomunnea mexicana*. (1ª ed.). Edimburgo, Escocia: Lennex Corp.
- Rzedowski, J., & Palacios, R. (1977). El bosque de *Engelhardtia (Oreomunnea) mexicana* en la región de la Chinantla, Oaxaca, México, una reliquia del Cenozoico. *Boletín de la Sociedad Botánica*, 36, 93-123.
- Terra, J. T., Shirk, R.Y., & Givnish, T. J. (2014). Spatial genetic structure in four understory *Psychotria* species (Rubiaceae) and implications for tropical forest diversity. *American Journal of Botany*, 101(7), 1189-1199. doi: 10.3732/ajb.1300460
- Tang, S., Dai, W., Li, M., Zhang, Y., Geng, Y., & Zhong, Y. (2008). Genetic diversity of relictual and endangered plant *Abies ziyuanensis* (Pinaceae) revealed by AFLP and SSR. *Genetics*, 133 (1), 21-30. doi: 10.007/s10709-007-9178-x
- Stone, D. E. (1972). New world Juglandaceae, III: A new perspectives of the tropical members with winged fruits. *Annals Missouri Botanical Garden*, 59(2), 297-321.
- Vargas-Rodríguez, Y. L. (2011). Una población relicta de *Acer saccharum* subsp. *skutchii* (Aceroidae) en el estado de Guerrero, México. *Acta Botánica Mexicana*, 95, 11-28.
- Wright, S. (1951). The genetical structure of populations. *Annals Eugenetic*, 15, 323-354. doi: 10.1111/j.1469-1809.tb02541.x
- Wolfe, A. D., Xiang, Q. Y., & Kephart, S. R. (1998). Assessing hybridization in natural populations of *Penstemon* (Scrophulariaceae) using hypervariable sequence repeat (ISSR) bands. *Molecular Ecology*, 7 (9), 1107-1125. doi: 10.1046/j.1365-294x.1998.00425x

Manuscrito recibido el 5 de abril de 2019

Aceptado el 28 de agosto de 2019

Publicado el 23 de abril de 2020

Este documento se debe citar como:

Pascual-Mendoza, S., Campos, J. E., Clark-Tapia, R., Monsalvo-Reyes, A., Luna-Krauletz, M. D., Gorgonio-Ramírez, M., Fracisco Naranjo-Luna, F., Pacheco-Cruz, N., & Alfonso-Corrado, C. (2020). Diversidad genética de *Oreomunnea mexicana* (Juglandaceae), relictas del bosque de niebla de Sierra Juárez, Oaxaca. México. *Madera y Bosques*, 26(2), e2621941. doi: 10.21829/myb.2020.2621941



Madera y Bosques por Instituto de Ecología, A.C. se distribuye bajo una Licencia Creative Commons Atribución-NoComercialCompartirIgual 4.0 Internacional.