



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

2
2ej.

FACULTAD DE CIENCIAS

ANÁLISIS COMPARATIVO DE LA ESTRUCTURA
GENÉTICA DE POBLACIONES NATIVAS DE PERÚ
E INTRODUCIDAS A MÉXICO Y ESPAÑA DE
SCHINUS MOLLE L. (ANACARDIACEAE)



T E S I S BIBLIOTECA
INSTITUTO DE ECOLOGÍA
UNAM

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
B I O L O G O

P R E S E N T A

ERIKA AGUIRRE PLANTER

000 212460



FACULTAD DE CIENCIAS
SECCIÓN ESCOLAR

MEXICO, D.F.

1994



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

CIUDAD UNIVERSITARIA



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS
División de Estudios
Profesionales
Exp. Núm. 55

M. EN C. VIRGINIA ABRIN BATULE
Jefe de la División de Estudios Profesionales
Universidad Nacional Autónoma de México.
P r e s e n t e .

Por medio de la presente, nos permitimos informar a Usted, que habiendo
revisado el trabajo de tesis que realiz^ó la pasante Frika
Aguirre Planter
con número de cuenta 8955278-4 con el título: Análisis
Comparativo de la Estructura Genética de Poblaciones
Nativas de Perú e Introducidas a México y España de
Schinus molle L. (ANACARDIACEAE).

Consideramos que reúne los méritos necesarios para que pueda conti-
nuar el trámite de su Examen Profesional para obtener el título de
Biologo.

GRADO NOMBRE Y APELLIDOS COMPLETOS

FIRMA

Dr. Daniel Piñero Dalmau

Director de Tesis

Dr. Luis Eguiarte Fruns

Biol. Eduardo Morales Guillaumin

M. en C. Nidia Perez Nasser

Suplente

Biol. Fabián Vargas Mendoza

Suplente

David Piñero
Luis Eguiarte Fruns
Eduardo Morales Guillaumin
Nidia Perez Nasser
Fabián Vargas Mendoza

INDICE

AGRADECIMIENTOS	3
RESUMEN	5
1 INTRODUCCION.....	6
1.1 Objetivos de la genética de poblaciones.....	6
1.2 Genética de poblaciones de plantas colonizadoras e introducidas	7
1.2.1 Importancia de las plantas colonizadoras e introducidas.....	8
1.2.2 Características de especies colonizadoras.....	9
1.2.3 Organización de la variación genética de plantas colonizadoras.....	14
1.2.4. Estudio de la genética de poblaciones de una especie introducida.....	15
2 OBJETIVOS	18
3 ESPECIE DE ESTUDIO	19
4 MATERIAL Y METODOS	23
4.1 Colecta.....	23
4.2 Siembra.....	29
4.3 Procesado de las muestras.....	29
4.4 Montado de los geles.....	30
4.5 Tinción.....	31
4.6 Interpretación de los geles.....	32
4.7 Análisis de datos.....	32
5 RESULTADOS	38
5.1 Variación genética.....	38
5.2 Frecuencias alélicas.....	39
5.3 Frecuencias genotípicas.....	41
5.4 Índices de fijación F.....	42
5.5 Estadísticos F de Wright y estimación de flujo génico (Nm).....	43
5.6 Distancias e identidades genéticas de Nei.....	44
5.7 Árboles filogenéticos.....	45
6 DISCUSION	66
6.1 Variación genética.....	66
6.2 Frecuencias alélicas.....	68
6.3 Efecto fundador.....	70
6.4 Índice de fijación F y frecuencias genotípicas.....	77
6.5 Estadísticos F de Wright y estimación de flujo génico (Nm).....	77

6.6 Distancias, identidades genéticas y árboles filogenéticos.....	82
6.7 Discusión general.....	84
7 CONCLUSIONES.....	88
8 REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	90
9 APENDICE.....	99
9.1 Buffer de extracción de Mitton.....	99
9.2 Recetas utilizadas para preparar los sistemas del buffer:.....	100
9.3 Enzimas montadas en cada sistema de buffer:.....	101
9.4 Indicador en el corrimiento de los geles.....	102
9.5 Recetas de tinción de las isoenzimas montadas.....	102

INDICE DE FIGURAS Y TABLAS

Tabla 1.....	13
Tabla 2.....	46
Tabla 3.....	47
Tabla 4.....	49
Tabla 5.....	49
Tabla 6.....	50
Tabla 7.....	51
Tabla 8.....	55
Tabla 9.....	56
Tabla 10.....	57
Tabla 11.....	57
Tabla 12.....	58
Tabla 13.....	59
Figura 1 a.....	25
Figura 1 b.....	27
Figura 1 c.....	28
Figura 2 a.....	60
Figura 2 b.....	60
Figura 2 c.....	61
Figura 2 d.....	61
Figura 2 e.....	62
Figura 3.....	63
Figura 4.....	64
Figura 5.....	65
Figura 6 a.....	74
Figura 6 b.....	76

AGRADECIMIENTOS

Esta tesis se realizó bajo la dirección del Dr. Daniel Piñero a quien agradezco de una manera muy especial su orientación y apoyo constante en este trabajo. Además agradezco la paciencia y los consejos que me ha dado durante el tiempo que he trabajado en el laboratorio de Genética y Evolución del Centro de Ecología.

Al Dr. Luis Eguiarte agradezco enormemente sus valiosos comentarios y sugerencias en la realización de este trabajo, así como también el haberlo revisado en varias ocasiones. A Eduardo Morales agradezco su aportación de ideas, comentarios y críticas y también su amistad. A Nidia Perez y Fabián Vargas doy las gracias por sus sugerencias y críticas en la revisión de este trabajo. A Nidia Perez además por haberme enseñado la técnica de electroforesis utilizada en este estudio. De la misma manera, agradezco la revisión desinteresada del Dr. Ken Oyama y la ayuda de Jordan Golubov en la realización de algunas figuras.

Quiero agradecer a Elleli Huerta de una manera muy especial su ayuda constante y amistad durante la realización de ese estudio, sin la cual todo hubiera sido mucho menos agradable. Muy especialmente también, agradezco a Carlos Garcia Saez la paciencia, comprensión, confianza y los estímulos.

Agradezco también a todos los miembros del Laboratorio de Genética y Evolución: Nidia Pérez, Eduardo Morales, Fabián Vargas, Elleli Huerta, América Castañeda, Gabriela Aramoni y Liz Izquierdo por el apoyo durante el trabajo de electroforesis, así como también por el apoyo moral.

Finalmente agradezco por el apoyo y la confianza a Anna Ludlow, Maria del Valle, Esteban Aguirre, Estela Planter, Ulises Beltrán, Paola Aguirre e Ira Beltrán.

Este trabajo se realizó en el Centro de Ecología de la UNAM, como parte del proyecto "Estudios Ecológicos en Especies Nativas e Introducidas de la Flora Espontánea del Valle de México". Agradezco a la Dra. Alma Orozco, directora de este proyecto el apoyo tanto económico, como de material de campo.

RESUMEN.

Se examinaron y compararon los niveles de variación genética de 12 loci isoenzimáticos de tres poblaciones nativas de Perú, tres poblaciones introducidas a México y una introducida a España, del pirú (*Schinus molle* L.). Esta especie fue introducida desde Perú a México en la época de la colonia entre 1540 y 1550. Las poblaciones de México mostraron una reducción de aproximadamente la mitad en la heterocigosis promedio H_t , el índice de polimorfismo P y el número promedio de alelos por locus N_a , en relación a poblaciones de Perú. La reducción de la variación genética en la población de España fue de 5.1 veces comparándola con poblaciones de México y de 11.2 en relación a las poblaciones de Perú. Los estadísticos F de Wright y las distancias genéticas de Nei mostraron mayor diferenciación entre poblaciones de diferentes países que entre poblaciones del mismo país. Los resultados obtenidos sugieren que la población introducida fue pequeña y con poca variación genética y que a partir de ésta, *Schinus molle* fue dispersado a otras regiones de México. La población de España parece ser una muestra incompleta de la variación genética de poblaciones de México y propablemente fue introducida desde México, a principios del siglo XVIII (Kramer, 1957). Este trabajo sugiere que el efecto fundador y como consecuencia la deriva génica, son procesos importantes en la determinación de la estructura genética de las poblaciones introducidas de *Schinus molle* en México y España.

1 INTRODUCCION

En general, en poblaciones naturales hay una gran variabilidad genética. La excepción son las especies que tienen distribuciones muy restringidas y tamaños poblacionales pequeños, como especies endémicas (Hamrick y Godt, 1990) o especies cuyas poblaciones han pasado recientemente por cuellos de botella (Eguiarte y Piñero, 1990). Esta variabilidad genética es necesaria para que sea posible la adaptación de poblaciones a nuevos ambientes y que de esta manera se lleve a cabo el proceso de evolución.

1.1 Objetivos de la genética de poblaciones.

El objetivo de la teoría de la genética de poblaciones es describir y explicar los niveles de variación genética dentro y entre poblaciones como el resultado de diferentes procesos evolutivos: selección natural, deriva génica, mutación y flujo génico. Los sistemas reproductivos también son importantes en determinar los niveles de variación genética en las poblaciones (Roughgarden, 1979; Eguiarte 1990).

La genética de poblaciones trata de explicar la base genética de la adaptación biológica o microevolución. En éste contexto la evolución puede ser definida como el resultado del cambio sucesivo en las frecuencias alélicas en las poblaciones. Este cambio sucesivo en las frecuencias alélicas puede provocar un incremento en la adaptación de los organismos al medio ambiente en donde se encuentran (Hartl y Clark, 1989). Sin embargo, la teoría neutral (Kimura, 1983) sostiene que a nivel molecular, la mayoría del cambio evolutivo y la mayoría de la variación genética encontrada

en las especies no es causada por selección Darwiniana, sino por un balance entre la mutación y la deriva génica, en donde la mayoría de estas mutaciones son selectivamente neutras.

El estudio de la teoría de la genética de poblaciones se aplica en diferentes áreas, como por ejemplo en el cultivo de plantas en la agricultura, en la conservación de especies, (Billington, 1991; Lacy, 1992; Avise, 1994) crianza de animales en zoológicos, (Laikre y Ryman, 1991), en reconstrucciones filogenéticas (Crawford, 1989) y en el estudio de especies introducidas y colonizadoras. En este último caso, las consecuencias genéticas de la colonización han sido exploradas en varias especies.

1.2 Genética de poblaciones de plantas colonizadoras e introducidas.

La colonización de plantas se define como la dispersión y el establecimiento de un organismo en una región o hábitat no ocupado previamente por la especie (Brown y Marshall, 1981; Bazzaz, 1986). La colonización de una especie puede ocurrir a diferentes escalas. En un extremo la colonización puede referirse a la introducción y establecimiento de un organismo de una región del mundo a otra (Brown y Marshall, 1981) y en el otro extremo puede referirse a un proceso muy localizado, como el establecimiento muy cercano al rango previo de ocupación de la especie. Por otro lado, la introducción de una especie ocurre como resultado del movimiento intencional o accidental de ésta por seres humanos, animales o maquinaria, fuera de su rango natural de distribución (Bazzaz, 1986).

1.2.1 Importancia de las plantas colonizadoras e introducidas.

El estudio de las consecuencias genéticas de los eventos de colonización e introducción es importante por varias razones: algunas especies colonizadoras tienen un impacto económico, otras tienen un papel importante en la dinámica de comunidades, como en el proceso de sucesión (Begon et al., 1986, Bazzaz, 1986); su estudio es esencial para la agricultura y la conservación (Barrett y Husband, 1990). La domesticación de plantas y animales muchas veces provoca efectos de cuello de botella (comunes en eventos de colonización) y en muchos cultivares esto ha resultado en una erosión de la diversidad genética (Barrett y Husband, 1990). En la introducción accidental o planeada de cultivos o malezas de un continente a otro están involucrados muchos procesos similares a los que ocurren durante eventos de colonización en poblaciones naturales. El conocer la historia de la migración de especies cultivadas puede ayudar en la interpretación de patrones geográficos de la diversidad genética y en el muestreo del germoplasma. Para conservar recursos genéticos es necesario conocer los efectos de un tamaño poblacional pequeño en el mantenimiento de la variación genética, así como también el efecto de un período largo de endogamia (Barrett y Husband, 1990); En especies introducidas que son malezas o son consideradas plagas es importante conocer su diversidad genética y su lugar de origen en la aplicación de métodos para control biológico (Barrett y Husband, 1990). Tanto estudios teóricos como empíricos de migración y colonización son importantes para obtener información en el uso de recursos genéticos (Barrett y Husband, 1990).

Desde una perspectiva evolutiva, algunas plantas introducidas o colonizadoras proveen sistemas experimentales

interesantes para estudios microevolutivos (Barrett y Shore, 1989). La información de las consecuencias genéticas de eventos de colonización, como experimentos naturales, puede ayudar a entender la genética de poblaciones y la evolución de los organismos, ya que la colonización es un proceso que ocurre en alguna escala temporal o espacial en las poblaciones de todas las plantas y animales (Barrett y Husband, 1990).

El tener información sobre la estructura genética de poblaciones de especies introducidas o colonizadoras es importante porque interpretada retrospectivamente ayuda a construir procesos históricos de migración y colonización. Aunque esto podría inferirse a través de estudios en poblaciones introducidas actuales, una de las mayores dificultades para el estudio de la genética de especies introducidas es la falta de información en las etapas tempranas de la colonización (Barrett y Richardson, 1986), por lo tanto sería interesante tener estudios cronológicos de especies introducidas o colonizadoras, ya que las frecuencias alélicas de éstas poblaciones pueden diferir significativamente de las frecuencias alélicas de los primeros fundadores (Nei et al. 1975).

1.2.2 Características de especies colonizadoras.

En especies colonizadoras se pueden encontrar diferentes estrategias y características que les permiten invadir y establecerse en un territorio no previamente ocupado por la especie. El éxito en la colonización de una especie depende de diferentes factores: 1) factores climáticos como la temperatura, humedad, precipitación, pH del suelo, etc., 2) la presencia de parásitos o depredadores en el nuevo hábitat, 3) competencia con especies nativas, 4) la plasticidad genética y fenotípica para adaptarse a diferentes factores

físicos y biológicos (Scorza, 1983), y 5) en plantas, una característica de historia de vida crucial para especies colonizadoras es la presencia de polinizadores y dispersores eficientes (Bazzaz, 1986).

Se han realizado varios estudios sobre plantas colonizadoras o introducidas (ver revisiones en Baker y Stebbins, 1965; Brown y Marshall 1981; Clegg y Brown, 1983; Barrett y Richardson, 1986; Barrett y Shore, 1989; Barrett y Husband, 1990; Molina-Freaner y Jain, 1992). De estos estudios se ha concluido que las plantas colonizadoras no son un grupo homogéneo, y se han encontrado diferentes características genéticas en colonizadoras exitosas que sugiere que no existe una solución óptima a los problemas a los que se enfrentan estas especies (Barrett y Richardson, 1986).

Sin embargo, en los estudios antes mencionados se han encontrado algunos patrones presentes en varias especies colonizadoras: heterocigosis fija debido a poliploidía, la mayoría tienen sistemas reproductivos uniparentales como autofertilización o apomixis y en este tipo de plantas se pueden observar altos niveles de asociación multilocus que resultan en un número reducido de genotipos; es común encontrar bajos niveles de variación genética y por lo tanto existe diferenciación interpoblacional marcada y también altos niveles de plasticidad fenotípica, (Brown y Marshall 1981; Barrett y Shore 1989; Barrett y Husband, 1990).

La mayoría de las plantas colonizadoras exitosas son malezas anuales que poseen sistemas reproductivos uniparentales o mixtos (Brown y Marshall, 1981). Sin embargo, en muchas ocasiones, particularmente entre malezas perennes existe entrecruzamiento (Tabla 1) obligado por dioicismo o autoincompatibilidad, aunque también reproducción clonal asociada (Barrett y Richardson, 1986).

Otra característica encontrada en algunos estudios es una tendencia hacia cambios en el sistema reproductivo en especies colonizadoras, (Brown y Marshall, 1981; Clegg y Brown, 1983; Molina-Freaner y Jain, 1992), que parecen estar relacionados con presiones de selección en el nuevo ambiente (Brown y Marshall, 1981). Inicialmente puede ser ventajoso un sistema reproductivo uniparental, ya que la colonización de territorios no ocupados muchas veces está asociado a densidades poblacionales muy bajas en donde el entrecruzamiento a veces se dificulta, de ésta manera se asegura tanto la reproducción, así como también la propagación de genotipos exitosos para la colonización (Brown y Marshall, 1981; Barrett y Richardson, 1986; Barrett y Husband, 1990), pero posteriormente puede ser ventajoso incrementar la tasa de entrecruzamiento con el fin de generar combinaciones nuevas que pueden ser necesarias para la sobrevivencia, particularmente en ambientes hostiles (Brown y Marshall, 1981). Sin embargo, existen casos en los que se observa una tendencia hacia el aumento en la tasa de entrecruzamiento desde las primeras generaciones (Brown y Marshall, 1981).

En la Tabla 1 se comparan diferentes características genéticas entre poblaciones introducidas y parentales, encontradas para algunos estudios. En *Avena barbata*, se observa mayor reducción en la variación genética en una de las poblaciones introducidas a California (Región I), que en la otra (Región II), ésto se ha atribuido a que son diferentes zonas climáticas y a que por lo tanto existen diferentes presiones de selección (Clegg y Brown, 1983). En *Eichhornia paniculata* (Tabla 1) se observa una disminución en la variación genética en poblaciones introducidas a Jamaica, que parece ser debida a una reducción en la tasa de entrecruzamiento en estas poblaciones, además de a un efecto fundador (Barrett y Husband, 1990). Molina-Freaner y Jain (1992) encontraron que los patrones de diversidad genética

entre regiones de Turquía (*Fst*) y por otro lado entre regiones de California, puede deberse a un incremento en la tasa de entrecruzamiento en poblaciones introducidas. En general *Avena barbata* y *Bromus mollis* que predominantemente se autopolinizan, presentan una reducción de *Ht*, después de 150-200 años de haber sido introducidas (Molina-Freaner y Jain, 1992), mientras que *Echium plantagineum* y *Apera spicaventi* que se entrecruzan no presentan una reducción en *Ht* (tabla 1), esto se cree que se debe a que en especies que se entrecruzan se mantienen mayores tamaños poblacionales después de una introducción (Brown y Marshall, 1981; Barrett y Richardson, 1986).

Tabla 1.- Heterocigosis total (Ht), número promedio de alelos por locus (N_a), hábito y sistema reproductivo en algunas poblaciones introducidas, comparadas con poblaciones de su lugar de origen.

ESPECIE	POBLACION	Ht	N_a	HABITO	SISTEMA REPRODUCTIVO PREDOMINANTE	Referencia
<i>Avena barbata</i>	Origen España	0.435	2.40	anual	predominantemente autofertilización	Clegg y Brown, 1983
	Introducida Calif. I	0.001	1.02			
	Calif. II	0.180	2.20			
<i>Bromus mollis</i>	Origen Inglaterra	0.230	2.06	anual	predominantemente autofertilización	Clegg y Brown, 1983
	Introducida Australia	0.176	1.88			
<i>Echium plantagineum</i>	Origen Europa	0.381	*	anual	entrecruzamiento	Burdon y Brown, 1986
	Introducida Australia	0.388	2.72			
<i>Eichhornia paniculata</i>	Origen Brasil	0.15	1.27	perenne de vida corta	predominantemente entrecruzamiento	Glover y Barrett, 1987
	Introducida Jamaica	0.06	1.07			
<i>Apera spica-venti</i>	Origen Europa	0.208	*	anual	predominantemente entrecruzamiento	Warwick, 1990
	Introducida Canadá	0.211	2.54			
<i>Trifolium hirtum</i>	Origen Turquía	0.08	1.07	anual	mixto	Molina-Freaner y Jain, 1992
	Introducida California	0.07	1.18			

* valor solo para loci polimórficos.

1.2.3 Organización de la variación genética de plantas colonizadoras.

En las poblaciones de especies colonizadoras, la organización de la variación genética está determinada por los principales procesos evolutivos (mutación, migración, selección natural, deriva génica), por los sistemas reproductivos y también por algunos factores históricos, de historia de vida y otros factores ecológicos. Los principales procesos que muchas veces repercuten en la estructura genética de plantas colonizadoras son efectos fundadores y como consecuencia la deriva génica y endogamia y en algunos casos existe selección direccional (Barrett y Richardson, 1986; Barrett y Shore, 1989; Warwick, 1990).

Cuando en un proceso de colonización la población es muy pequeña, la teoría predice que las poblaciones van a tener poca variabilidad genética intrapoblacional y mucha diferenciación interpoblacional, debido a cuellos de botella y por lo tanto endogamia y deriva génica (Barrett y Husband, 1990). El grado de diferenciación entre las poblaciones en un evento fundador depende en gran parte en su tamaño efectivo. Si éste es pequeño, la deriva génica mantendrá diferentes frecuencias alélicas en las poblaciones (Barrett y Richardson, 1986).

En los eventos de colonización a larga distancia, generalmente hay una reducción de variación genética, que puede ser debida a: cuellos de botella en las poblaciones asociados a un efecto fundador, ausencia de migración de la población de origen a la población fundadora como una fuente de enriquecimiento genético y la posibilidad de nuevas presiones de selección en nuevos ambientes (Clegg y Brown, 1983; Barrett y Husband, 1990).

Cuando hay un evento fundador, se establece una población a partir de pocos individuos que sólo poseen una pequeña fracción del total de la variación genética de la población parental (Betancourt et al. 1991). Nei et al. (1975) estudiaron teóricamente las consecuencias del efecto fundador y la pérdida de variación genética asociada, en líneas experimentales de *Drosophila pseudoobscura* y concluyeron que el nivel de variación disminuye dependiendo no sólo del tamaño de la población fundadora, sino también de la tasa de crecimiento de la población. También es importante el número de generaciones que la población permanece pequeña (Nei et al. 1975; Barrett y Richardson, 1986).

La población fundadora puede permanecer pequeña en las primeras generaciones y por lo tanto, los efectos más importantes serán la endogamia, por cruce entre parientes y la deriva génica que finalmente puede llevar a la pérdida de algunos alelos y fijación de otros (Carson, 1983; Hedrick, 1983; Barrett y Husband, 1990).

1.2.4. Estudio de la genética de poblaciones de una especie introducida.

El estudio de la genética de eventos colonizadores puede realizarse de una manera comparativa. Se pueden investigar los patrones de variación genética de poblaciones introducidas y de las poblaciones de las cuales se originaron, con el fin de inferir los procesos evolutivos que han llevado al patrón observado (Molina-Freaner y Jain, 1992).

Es posible inferir, a partir de la reducción de variación genética en poblaciones introducidas a distancia, la existencia de un cuello de botella asociado a un efecto fundador (McCommas y Bryant, 1990). En muchos casos también

ha sido inferida la existencia de deriva génica en estas poblaciones (Barrett y Husband, 1990).

Schinus molle L. (pirú), la especie de estudio, es una de muchas especies que han sido introducidas a México, así como también a España. La literatura indica que ésta especie fue introducida al Valle de México en la época de la colonia entre 1540 y 1550, desde Perú por el virrey Antonio de Mendoza, el cual mandó "pocas" semillas (Jiménez, 1875; Gómez, 1889; Kramer, 1957). Posteriormente fue introducido a España a principios del siglo XVIII (Kramer, 1957).

En este trabajo, *Schinus molle* se utilizó para poner a prueba hipótesis acerca de las características genéticas de especies colonizadoras e introducidas, así como también para tratar de conocer algo más acerca de procesos evolutivos importantes en los eventos de colonización. Aunque su historia de vida es diferente a las colonizadoras comunes y probablemente no sea un modelo representativo de la mayoría de las plantas introducidas o colonizadoras, se utilizó en este estudio por diferentes razones: se conoce la fecha de introducción y por lo tanto podría ser posible establecer una ruta histórica de introducción y dispersión; además como se cree que se introdujeron "pocas" semillas pueden probarse hipótesis acerca del efecto fundador asociado a una introducción a larga distancia. Por otro lado, la mayoría de los estudios realizados con especies colonizadoras ha sido con malezas, esto se debe a que la mayoría de colonizadoras exitosas son malezas, que poseen sistemas reproductivos mixtos o uniparentales, anuales y algunas perennes de ciclo de vida corto (Brown y Marshall, 1981; Clegg y Brown, 1983; Barrett y Richardson, 1986; Barrett y Shore, 1989; Barrett y Husband, 1990; Molina-Freaner y Jain, 1992). Por esto es interesante hacer un estudio con una especie leñosa, de ciclo de vida largo, dioica, por lo tanto con polinización cruzada y que a pesar de estas características tuvo un gran éxito en

su colonización, pues actualmente está ampliamente distribuida en México y España y es capaz de invadir y establecerse tanto en hábitats conservados, así como también en sitios perturbados.

En especies dióicas, que se entrecruzan, la pérdida de variación genética debida a un efecto fundador puede no ser tan evidente, ya que estas especies generalmente mantienen tamaños poblacionales mayores después de una introducción a diferencia de especies que predominantemente se autopolinizan (Brown y Marshall, 1981; Barrett y Richardson, 1986; Warwick, 1990). De acuerdo con lo anterior, se esperaría encontrar una reducción en la variación genética en poblaciones de *Schinus molle* introducidas tanto a México como a España. Por otro lado, el impacto del efecto fundador depende en gran manera del tamaño de la población fundadora (Clegg y Brown, 1983), así como también del número de generaciones que la población permaneció pequeña (Barrett y Richardson, 1986). En este caso parece ser que la población fundadora no pudo haber sido tan grande, pues supuestamente sólo fueron mandadas "pocas" semillas, sin embargo no se sabe si posteriormente ha habido otra introducción.

En especies que principalmente se entrecruzan la diferenciación entre poblaciones es menos aparente que en especies que se autofecundan, y una gran parte de la variación existente en la especie se puede encontrar en cualquiera de las poblaciones (Warwick, 1990). Por lo tanto, se espera que entre poblaciones de Perú no exista gran diferenciación genética, a menos que exista selección natural fuerte que esté diferenciando a las poblaciones. Sin embargo se espera considerable diferenciación genética entre poblaciones introducidas y parentales, que va a depender también del número de generaciones que hayan transcurrido desde la introducción (Barrett y Husband, 1990).

2 OBJETIVOS

Objetivos generales:

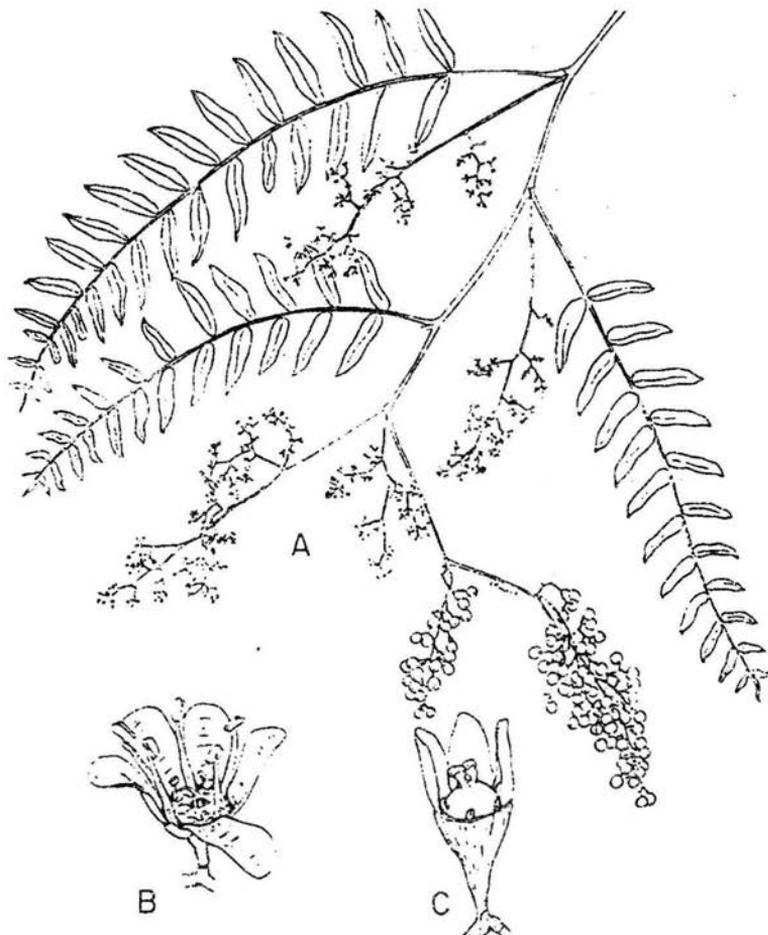
Con el propósito de analizar y comparar la estructura genética entre poblaciones introducidas y poblaciones de origen o parentales, se realizó un estudio de la estructura genética de poblaciones de *Schinus molle*, una especie introducida al Valle de México y a España.

Al conocer la fecha probable de introducción a la región y al obtener datos de la estructura genética de poblaciones de México, Perú y España se trató de establecer la ruta histórica de la llegada y dispersión de *Schinus molle*.

Los objetivos particulares son :

- Estimar los niveles de variación genética de *Schinus molle* de dos poblaciones del Valle de México, una de Querétaro, una de España y tres de Perú, utilizando la técnica de análisis electroforético de isoenzimas en geles de almidón, para obtener el índice de polimorfismo (P), la heterocigosis promedio (H) y el número promedio de alelos para cada población (N_a).

- Describir y comparar la estructura genética de las diferentes poblaciones de *Schinus molle*, por medio de las frecuencias alélicas, los índices de fijación F , estadísticos F de Wright, y distancias genéticas. Con estos estimados, tratar de explicar que procesos evolutivos pudieron actuar y llevar a tener el patrón observado en la estructura genética de las poblaciones introducidas.



Scbinus molle L.: A. rama con inflorescencias y frutos x 0.4; B. flor masculina x 7; C. flor femenina desprovista de una parte del perianto x 7.

3 ESPECIE DE ESTUDIO

La especie de estudio es *Schinus molle* (Anacardiaceae). El género está representado por 15 ó 20 especies (Kramer, 1957). Es un árbol de menos de 10 metros de altura en promedio, aunque en condiciones favorables llega hasta 15 metros (Ciclote et al., 1985) y ocasionalmente hasta 20 metros (Macbride, 1951); con follaje en amplia copa y ramas pendientes; siempre verde con hojas pinnadas y alternas; los foliolos tienen un borde dentado. La corteza es áspera y exuda una resina lechosa y pegajosa (Ciclote et al, 1985). Es una especie dioica, con flores actinomorfas, pequeñas y abundantes, de color blanco amarillento, dispuestas en panículas. Las flores masculinas son un poco más grandes que las femeninas (Copeland, 1959), con pistilos no desarrollados y muy pequeños, las flores femeninas tienen estambres pequeños no funcionales, el ovario es súpero y el estilo trifurcado (Reyel y León, 1990). El fruto es una drupa con un epicarpo delgado y quebradizo de color rojizo; su diámetro es de 4 a 5 mm (Reyel y León, 1990). El mesocarpo es una sustancia pulposa, mucilaginoso y dulce que contiene un líquido oleaginoso muy aromático (Ciclote et al. 1985) y el endocarpo es duro formado por celulosa con aceite esencial y resina (Pérez, 1889). La semilla es redonda, arrugada, de color marrón a negro. Tiene un sabor parecido a la pimienta.

Las hojas y frutos son aromáticos y de un sabor picante. *Schinus molle* produce algunos alcaloides, una gran cantidad de felandreno y del alcohol terpenoide carvacol que se ha propuesto, tienen una acción alelopática (Anaya y Gómez Pompa 1971).

El síndrome de polinización es entomófilo (Copeland, 1959). En general se ha visto a abejas, moscas y otros insectos pequeños visitando las flores (Howard y Minnich, 1989). El fruto es dispersado por aves principalmente, pero

también puede ser dispersado por viento, agua y algunos mamíferos como ardillas y coyotes. Las aves que dispersan las semillas son censontles y jilgueros principalmente. Se han reportado como dispersores a algunos tordos (*Turdidae*), pájaros carpinteros (*Picidae*), cardenales (*Cardinalis*), gorriones (*Passer domesticus*) y chinitos (*Bombycilla cedrorum*). Resultados obtenidos por Corkidi et al. (1991), indican que *Bombycilla cedrorum* puede dispersar las semillas de pirú a distancias considerables. *Bombycilla cedrorum* lleva las semillas en el tracto digestivo por más de 25 minutos y acarrea las semillas largas distancias. Remueve el mesocarpio y deja caer la semilla, aumentando así su probabilidad de germinación.

Schinus molle es originario de Perú (Kramer, 1957; Copeland, 1959). Se le ha llamado de diferentes maneras en diversas regiones: árbol pimentero, falsa pimienta, árbol del Perú, pirú, mulli, anacahuite, aguaribay (Cerrate, 1979). Se distribuye de los 100 a los 3,200 m.s.n.m (Reyel y León, 1990). Se encuentra distribuido en toda la zona Andina; en el Perú, desde la costa hasta las partes altas de los Valles interandinos de la vertiente occidental, de Cajamarca a Arequipa y Puno (Reyel y León, 1990). También está distribuido al sur de Chile, norte de Ecuador, Colombia, Paraguay, sur de Uruguay y Brazil. Actualmente también está ampliamente distribuido en México, California y en algunos países de Europa. Las otras especies pertenecientes a éste género están limitadas a Sudamérica (Barkley, 1944). En Perú *Schinus molle* es descrito como un arbusto o un árbol pequeño.

En Perú tenía un uso ceremonial y medicinal (Howard y Minnich, 1989). Los incas la consideraban una planta sagrada. Los diferentes tejidos de *Schinus molle* han tenido diversos usos. El fruto era utilizado para hacer una bebida alcohólica, "chicha de molle" (Yacovleff y Herrera, 1935; Cerrate, 1979), y también para la preparación de miel y

vinagre. En algunos lugares se le llegó a utilizar como sustituto de la pimienta, por su aroma y sabor picante (Cerrate, 1979; Ciclote et al., 1985).

Las hojas tienen un aceite volátil usado medicinalmente para oftalmia y reumatismos y también como repelente para mosquitos. Las yemas y ramas jóvenes, cocidas se utilizan para afecciones respiratorias; de la misma manera, los tallos y semillas cocidos preparados en un jarabe se utilizan como antiparasitario. De la corteza se obtiene una savia lechosa como mastix, que puede aplicarse como emplastos contra el dolor, hinchazón y como cicatrizante (Anaya y Gómez Pompa, 1971). La savia también puede ser tomada como purgante y diurético (Kramer 1957).

En el Valle de Cuzco éste árbol ha sido muy talado, ya que su madera es utilizada para leña y carbón, para hacer mangos de herramientas y para carpintería en general. La madera también es utilizada en trabajos de ebanistería (Cerrate, 1979). Su ceniza es rica en potasa, se le usa como blanqueador de ropa, en la purificación del azúcar (Macbride, 1951), para hacer jabón y para curtir (Ciclote et al., 1985). Sus hojas secas se empleaban en la preparación de un abono denominado "rockescca" con el cual embadurnaban las semillas de maíz (Herrera, 1938). De la corteza y las hojas hervidas se obtiene un líquido amarillo que se ha utilizado para teñir lana y algodón (Cerrate, 1979).

Schinus molle también ha sido utilizado como especie ornamental. Es importante para la fijación de suelos, en la conservación de cuencas hidrográficas y en la protección de riberas de arroyos y ríos (Ciclote et al, 1985).

En el siglo XVI alrededor del año 1550, el primer virrey de México, Antonio de Mendoza mandó del Perú hacia la Nueva España "pocaş" semillas del árbol del Perú (Jiménez, 1875;

Gómez, 1889; Kramer, 1957). En México fue conocido con el nombre náhuatl de pelonquauitl (pelón, Perú; quauitl, árbol), aquí desaparece el uso medicinal y es usado como ingrediente del pulque. Se cree que fue introducido con el fin de utilizar su madera, que es dura y como un árbol ornamental que provee de sombra. También fue utilizado como fuente de una cochinilla (*Schildlaus*) de donde se obtiene una grasa (Kramer, 1957). Actualmente es utilizado como un árbol ornamental y para la alimentación de pájaros en jaulas.

Aunque muchas plantas exóticas se consideran como plagas para la vegetación nativa, como *Schinus terebenthifolius* en Florida (Howard y Minnich, 1989), en México *Schinus molle* es una especie naturalizada que no ha provocado problemas, por lo que no ha sido necesario su control. Además fue apreciado por los primeros colonizadores por su crecimiento rápido para dar sombra y por su resistencia al calor y a la inundación (Howard y Minnich, 1989).

Sobrevive en casi todas las regiones en donde es sembrado. En México se establece en hábitats conservados y también en sitios perturbados; tolera el verano e invierno, regímenes de precipitación constantes y sólo es limitado por aridez extrema y heladas. Aunque prefiere los suelos sueltos, de textura franca y profundos (Reyel y León, 1990), puede encontrarse en diferentes tipos de suelo, desde los arcillosos hasta los arenosos, incluyendo los pedregosos, y hasta aquellos de poca profundidad. Aunque la preferencia para la germinación es una temperatura cálida, debido a su plasticidad fenotípica y versatilidad fisiológica, es capaz de colonizar un amplio rango de hábitats (Howard y Minnich, 1989). *Schinus molle* tiene la capacidad de crecer en hábitats desprovistos de otros árboles, siendo así la forma dominante del paisaje. El pirú ha sido utilizado para reforestar en muchos sitios de México, aunque no de forma masiva (comunicación personal).

4 MATERIAL Y METODOS

Con el objeto de estimar la variación genética en las diferentes poblaciones de *Schinus molle*, se utilizó la técnica de electroforesis en geles de almidón, descrita en Garay (1991). Ver también Wendel y Weeden (1989).

Para montar el sistema de isoenzimas se utilizaron muestras obtenidas a partir de individuos de las poblaciones colectadas en México.

4.1 Colecta.

Se colectaron semillas en dos poblaciones del Valle de México (Figura 1a) en Abril de 1992. Las poblaciones muestreadas pertenecen a la zona norte del valle, en Las Manzanas, San Cristobal Ecatepec, estado de México (SCE) y otra a la zona sur, en la colonia Santa Ursula (SU), en la ciudad de México. La población muestreada en la zona norte, SCE, fue de árboles que se encontraban junto a un arroyo. Se trazó un transecto de aproximadamente un kilómetro y se muestreó un árbol si y cuatro no, así sucesivamente, en total se colectaron semillas pertenecientes a 30 árboles (30 familias). La población de la zona sur, SU no fue bien delimitada, ya que muchos de los árboles no tenían semillas. En total se obtuvieron muestras de semillas de 26 individuos (26 familias).

Asimismo, se colectaron semillas de 30 individuos (30 familias) de una población de Juriquilla, Querétaro (figura 1a) en Septiembre de 1993. Los individuos muestreados se encontraban distribuidos linealmente a lo largo de una calle del pueblo que desembocaba en un campo de golf. Se

encontraban separados uno del otro a distancias que variaban entre 10 y 30 metros, algunos no tenían semillas. También se colectaron individuos del campo de golf que tenían una separación que variaba entre 5 y 20 metros. Para el análisis electroforético se utilizaron individuos de 20 familias colectadas, ya que individuos de algunas familias no germinaron.



Figura 1a.- Sitios de colecta de las poblaciones de Schinus molle de México utilizadas en este estudio.

En España, se colectaron individuos de diferentes poblaciones de *Schinus molle*, pertenecientes a jardines de Córdoba, Sevilla, Cádiz y Barcelona (Figura 1b) en mayo de 1992. Se obtuvieron semillas de pocos individuos de cada población, ya que muchos de los árboles encontrados, no tenían semillas. En total se colectaron semillas de 37 individuos, de los cuales algunos no germinaron. De una población de Sevilla, germinaron individuos de 5 familias, de otra población de Sevilla, individuos de 2 familias, de Barcelona de 3 familias, de una población de Córdoba individuos de 2 familias y de Cádiz individuos de 9 familias. Estos individuos se consideraron muestras de una sola población (ESP), para el análisis.

En Perú se colectaron semillas de tres poblaciones que se encontraban a diferentes altitudes (Figura 1c) en Agosto de 1992. Dos de ellas se encuentran en la provincia de Lima: la primera pertenece a el pueblo de Chaclacayo (CL) a 25 km de la carretera central, en el distrito de Lurigancho, se encuentra a 250 metros sobre el nivel del mar. La segunda población (RQL) se encuentra a 1250 m.s.n.m en Santa Rosa de Quives, km. 80, en la provincia de Lima. La última población (CRUC) está a 2950 m.s.n.m y se encuentra en la localidad de Paullo, en el distrito de Koya, provincia de Calca. Esta localidad está situada en el Valle del río Urubamba, conocido como el Valle sagrado de los incas, a 37 km. del noreste de Cuzco. Se colectaron aproximadamente semillas de 30 individuos (30 familias) de cada población.

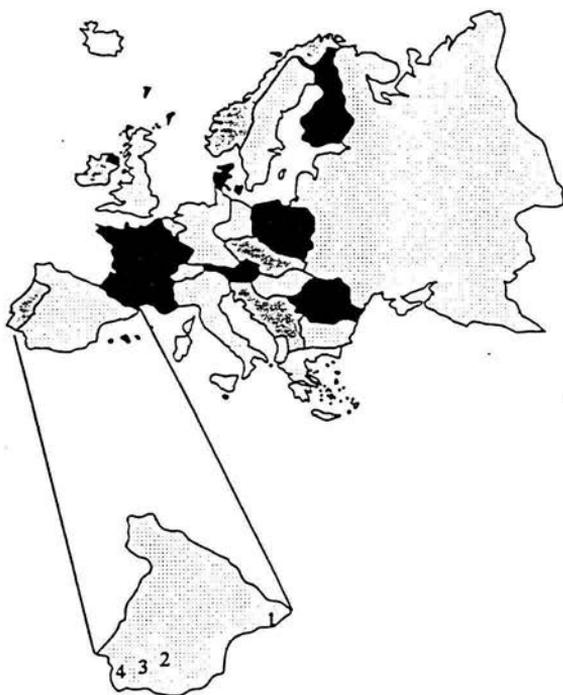


Figura 1b.- Sitios de colecta de la población de Schinus molle de España utilizadas en este estudio, donde: 1)Barcelona, 2)Córdoba, 3)Sevilla y 4)Cádiz.



Figura 1c.- Sitios de colecta de las poblaciones de Schinus molle de Perú utilizadas en este estudio.

4.2 Siembra.

Antes de sembrar las semillas fue necesario removerles el endocarpio y mesocarpio, pues de esta manera germinan más rápido. Esto se hizo remojando las semillas en agua durante alrededor de 24 horas y posteriormente se frotaron en un tamiz de número 10, con cuadros de abertura de 1.91 mm.

Las semillas pertenecientes a las diferentes poblaciones se sembraron en cajas de petri con agar al 10% y posteriormente se guardaron en cámaras de germinación, a una temperatura constante de 28°C. Después de 5 a 10 días las semillas germinaron y posteriormente fueron transplantadas a macetas de plástico cuando la plántula tenía un tamaño de aproximadamente 3 cm. Esto se hizo con la mayoría de los individuos de las poblaciones de México, pero para algunos individuos las semillas se sembraron directamente en macetas con tierra. Las macetas con las plántulas permanecieron durante todo el experimento en una casa de sombra con paredes y techo de malla de alambre, a temperatura ambiente.

Con respecto a las semillas pertenecientes a las poblaciones de España, Juriquilla (Querétaro) y Perú, estas fueron sembradas en agar al 10%, después de haber sido remojadas en un fungicida. Se mantuvieron en una cámara de germinación con la temperatura controlada a 24°C, hasta que los cotiledones fueron utilizados como muestras en la electroforesis.

4.3 Procesado de las muestras.

Las muestras que se utilizaron para el análisis electroforético fueron las hojas jóvenes de las plántulas sembradas en tierra, y cotiledones de plántulas sembradas en

agar. Previamente se observó que en ambos casos los patrones de bandeo de las enzimas utilizadas fueran iguales.

En el caso de las poblaciones del Valle de México se utilizó un individuo por cada familia como muestra, mientras que en el caso de la población de España, de Perú y de Juriquilla (Querétaro) se usaron de uno a tres individuos aproximadamente de cada familia.

Los tejidos foliares fueron macerados con gotas de un buffer de extracción de Mitton, (ver Apéndice), para extraer las proteínas. El macerado fue absorbido en wicks, pedacitos de papel para cromatografía (Whatman de número 17) aproximadamente de medio centímetro de ancho y un centímetro de largo. Generalmente de un pedazo de hoja se obtenían 3 o 4 wicks, éstos se guardaron en tubos eppendorf en un ultracongelador (REVCO de -70°C) para su posterior utilización.

4.4 Montado de los geles.

Las muestras obtenidas fueron cargadas en geles de almidón de papa hidrolizado para electroforesis al 10%. Se hicieron dos geles, uno en cada sistema de buffer (apéndice). En cada gel se cargaron alrededor de 25 wicks (cada uno representa a un individuo de la población) y en ambos extremos del gel se colocó un wick con un indicador (colorante, ver apéndice). El corrimiento del gel se hizo bajo un amperaje o voltaje específico, dependiendo de las características de los buffers utilizados para la charola (una solución ionizada que conduce la corriente eléctrica a través del gel) y para la preparación del gel (ver apéndice).

4.5 Tinción.

Cuando el indicador en el gel recorrió una distancia entre 7.5 y 8 cm a partir del origen, el gel se cortó sagitalmente, obteniéndose 3 rebanadas de uno de los geles (sistema C, apéndice), para ensayar 3 enzimas, y 2 rebanadas de otro gel (sistema D, apéndice), para ensayar 2 enzimas. Cada rebanada se colocó en una caja de tinción, a la que se le agregó los reactivos específicos para la tinción de determinada enzima (ver apéndice).

Al sumergirse el gel en la solución para la tinción, los sustratos y otros compuestos requeridos difunden por el gel y actúan con la enzima bajo estudio. La detección de esta enzima se basa en la precipitación de indicadores solubles que tiñen el gel en las zonas de actividad enzimática (Wendel y Weeden, 1989).

Una vez puesta la solución de tinción sobre cada rebanada del gel, éstos se incubaron en la oscuridad y a 37°C o a temperatura ambiente, dependiendo de la enzima (Apéndice). Posteriormente los geles teñidos se fijaron en una solución de alcohol al 50% durante 12 horas en el refrigerador.

Se ensayaron 28 enzimas para este trabajo (Apéndice). De estas se utilizaron para hacer el análisis:

Deshidrogenasa isocítrica (IDH) E.C.1.1.1.30

Leucil amino peptidasa (LAP) E.C.3.4.11.1

Fosfoglucosa Isomerasa (PGI) E.C.5.3.1.9

Fosfogluco-mutasa (PGM) E.C.5.4.2.2

Glutamato oxaloacetato transaminasa (GOT) E.C.2.6.1.1

4.6 Interpretación de los geles.

Los geles teñidos presentan un patrón de bandas. De éste patrón se puede obtener el genotipo de cada enzima 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 la enzima es monomérica, los individuos homocigos presentan una banda y los heterocigos dos, si es dimerica los heterocigos presentan tres bandas y si es tetramérica cinco (Ver Wendel y Weeden, 1989).

Para realizar la lectura de las bandas se numeraron los loci y los alelos, se asignó el número 1 al locus más alejado del origen, con mayor movilidad electroforética, el número 2 al siguiente y así sucesivamente, de la misma manera, la banda de un locus que estuviera más lejana del origen se tomó como el alelo 1.

4.7 Análisis de datos.

Se obtuvieron las frecuencias alélicas, para 12 loci (cinco enzimas) en las siete poblaciones y se realizó un análisis de chi-cuadrada para la heterogeneidad de las frecuencias alélicas (Workman y Niswander, 1970) comparando independientemente a las tres poblaciones de México, a la tres poblaciones de Perú y finalmente comparando a las siete poblaciones de éste estudio, pertenecientes a México, Perú y España.

Para estimar la variación genética en las diferentes poblaciones, se obtuvieron las siguientes medidas:

- Proporción de loci polimórficos (P): $P = x/m$, donde x es el número de loci polimórficos en una muestra de m loci (Hedrick, 1983). Un locus se consideró polimórfico, si la frecuencia del alelo más común no excedía 0.95. Toma valores entre 0 y 1. Si el valor es de 0 no existe variación genética, hasta llegar a 1, en donde todos los genes analizados son polimórficos.

- Heterocigosis promedio esperada, (H): La heterocigosis esperada en el equilibrio de Hardy-Weinberg para un locus con n alelos puede calcularse como (Hedrick, 1983):

$$H = 1 - \sum p_i^2$$

donde p_i son las frecuencias alélicas para ese locus. Posteriormente se obtuvo una heterocigosis promedio por población con las heterocigosis esperadas para todos los loci estudiados. Este índice puede tomar valores de 0 cuando no existe variación a 1 cuando todos los loci tienen variación.

- Número promedio de alelos por locus para cada población (N_a) (Hedrick, 1983).

Con el fin de comparar las heterocigosis promedio de México, Perú y España entre sí, se hizo un análisis de varianza. Antes de hacer el análisis se hizo una transformación de arco seno o transformación angular a los datos (Sokal y Rohlf, 1981; Zar, 1984). Esto se hace cuando se tienen porcentajes o proporciones para aproximar los datos a una distribución normal.

Para hacer una descripción de la estructura genética dentro y entre las poblaciones se estimaron el índice de fijación F y los estadísticos F de Wright (F_{is} , F_{it} y F_{st}).

- El índice de fijación F de Wright examina si las frecuencias alélicas de un locus se desvían de las esperadas. Esto se hace calculando la desviación de la frecuencia observada de los heterócigos esperados por Hardy-Weinberg (Hedrick, 1983):

$$F = 2pq - H/2pq = 1 - H/2pq$$

donde H es la proporción de heterócigos observados y $2pq$ es la proporción de heterócigos esperados. Si su valor es de 0 entonces la población se encuentra en equilibrio de Hardy-Weinberg. Los valores positivos indican una deficiencia de heterócigos, mientras que los negativos indican un exceso.

Los estadísticos F de Wright describen el arreglo de la variación genética en una población subdividida.

- F_{st} es una medida de la diferenciación genética entre subpoblaciones y su valor siempre es positivo. Se puede calcular como: (Nei 1987, Hedrick, 1983).

$$F_{st} = H_t - H_s / H_t$$

donde H_s es la heterocigosis promedio esperada sobre todos los loci a nivel subpoblación y H_t es la heterocigosis promedio esperada sobre todo los loci a nivel de la población total (Hedrick, 1983).

- F_{is} y F_{it} son medidas de la desviación de las proporciones de Hardy-Weinberg dentro de las subpoblaciones y en la población total respectivamente, los valores positivos de estos índices indican una deficiencia de heterócigos y valores negativos indican un exceso (Hedrick, 1983).

F_{is} y F_{it} se pueden obtener mediante la siguientes fórmulas:

$$F_{is} = H_s - H_o / H_s$$

$$F_{it} = H_t - H_o / H_t$$

donde H_o heterocigosis promedio observada sobre todos los loci, a nivel subpoblación; H_s es la heterocigosis promedio esperada sobre todos los loci a nivel subpoblación y H_t es la heterocigosis promedio esperada sobre todos los loci a nivel de toda la población (Hedrick, 1983).

Los estadísticos F de Wright pueden sugerir los posibles procesos evolutivos que están causando la diferenciación genética de las poblaciones.

Para saber la probabilidad de que F , F_{is} y F_{it} , fueran estadísticamente diferentes de 0, se aproximaron a una chi-cuadrada:

chi-cuadrada = $F^2 N (k-1)$, para $k(k-1)/2$ grados de libertad, donde N es el tamaño de la muestra y k es el número de alelos (Eguiarte, 1990). La chi-cuadrada utilizada para saber la significancia de los valores de F_{st} fue:

chi-cuadrada = $2N F_{st} (k-1)$ con $(k-1) (s-1)$ grados de libertad, donde N es el tamaño de la muestra, k el número de alelos y s el número de subpoblaciones (Workman y Niswander, 1970).

- Se obtuvo una estimación del flujo génico (Nm) utilizando la fórmula de Crow y Aoki (1984), que toma en cuenta el número de subpoblaciones:

$$F_{st} = 1 / (4a * Nm + 1)$$

donde N es el tamaño de la población, m es la fracción de N reemplazada por migrantes y $a = n / (n-1)$, donde n es el número

de subpoblaciones. Cuando n es grande, la ecuación anterior es igual a la utilizada por Wright (Crow y Aoki, 1984):

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

- Se obtuvo una matriz de distancia e identidad genética. La identidad genética I de Nei se obtiene como (Hedrick, 1983, Nei, 1987):

$$I = J_{xy}/(J_x J_y)^{1/2}$$

donde $J_{xy} = \sum p_i \cdot x \cdot p_i \cdot y$, que es la probabilidad de escoger un par de alelos idénticos, uno de la población x y uno de la población y (Hartl y Clark, 1989; Eguiarte, 1990).

$J_x = \sum p_i^2 \cdot x$ y $J_y = \sum p_i^2 \cdot y$ que son las probabilidades de escoger un par idéntico dentro de cada población. (Hartl y Clark, 1989; Eguiarte, 1990).

La distancia genética D se puede obtener como (Hedrick, 1983; Nei, 1987):

$$D = -\ln(I)$$

Las identidades y distancias genéticas se obtienen para pares de poblaciones. La identidad I toma valores desde 0 si las dos poblaciones no comparten alelos, hasta 1 si tienen frecuencias alélicas idénticas. La distancia D tiene valores desde 0 si las frecuencias alélicas de las poblaciones son idénticas hasta infinito si las poblaciones no comparten alelos (Hedrick, 1983).

- Se hicieron 2 árboles filogenéticos para ver las relaciones entre las 7 poblaciones del estudio. El primer árbol, que es un fenograma, se construyó con datos de distancias genéticas entre poblaciones, por el método de UPGMA (unweighted pair

group method with arithmetic mean, Felsestein, 1988; Felsestein, 1993). Para el segundo árbol, cladograma, se construyó una tabla de ausencia-presencia de alelos en las poblaciones y posteriormente se construyó un árbol de parsimonia, usando el PAUP 3.0 (Phylogenetic Analysis Using Parsimony, Swofford, 1989).

5 RESULTADOS

En total se utilizaron 12 loci para el estudio: Got-1, Got-2, Got-3, Lap-1, Lap-2, Pgi-1, Pgi-2 (sistema C, apéndice), Idh-1, Idh-2, Pgm-1, Pgm-2 y Pgm-3 (sistema D, apéndice). En las Figuras 2a a la 2g¹ se presentan los patrones de bandeo (zimogramas) de los 12 loci.

5.1 Variación genética.

De los loci ensayados, cinco fueron polimórficos (Lap-1, Lap-2, Pgi-2, Idh-2 y Pgm-3) en la población de Chaclacayo, Lima (CL) y en la población del Valle del Río Urubamba, Cuzco (CRUC); cuatro en la población de Santa Rosa de Quives, Lima (RQL) (Lap-1, Lap-2, Idh-2 y Pgm-3); tres en la población de San Cristobal Ecatepec del Valle de México (SCE) (Lap-1, Idh-2 y Pgm-3); dos en la población de Santa Ursula (Lap-1 y Pgm-3) perteneciente al Valle de México (SU), uno en la población de Juriquilla, Querétaro (JQ) (Pgm-3); y en el caso de la población formada por individuos de diferentes regiones de España (ESP) aunque en tres loci se encontró variación (Got-2, Pgm-2 y Pgm-3), no se consideró ninguno polimórfico ya que la frecuencia del alelo más común fue mayor al 95% (Tabla 3).

El mayor número de alelos por locus se encontró en Perú (1.66), así como también el mayor índice de polimorfismo al 95% (0.389) y la mayor heterocigosis promedio observada (0.136) y esperada (0.146).

En México se encontraron niveles de variación intermedias entre Perú y España en cuanto a índice de

¹Las figuras y tablas se encuentran al final de el capitulo.

polimorfismo (0.167) y la heterocigosis promedio observada y esperada (0.060 y 0.066 respectivamente)* el número promedio de alelos por locus (1.23) fue un poco menor al encontrado en la población de España (1.3). En España se encontró el menor índice de polimorfismo al 95% (0) y el menor índice de heterocigosis observada y esperada (0.013 en ambos casos) (Tabla 2).

Un análisis de varianza mostró que existen diferencias significativas entre las heterocigosis promedio observadas de México, Perú y España, ($F_{2,81}=3.640$, $P<.0306$), al igual que en las heterocigosis promedio esperadas ($F_{2,81}=3.685$, $P<.0294$). Una prueba de comparación múltiple (MDS mínima diferencia significativa), indica que las poblaciones de Perú tienen mayor variación y presentan una heterocigosis promedio (H) observada y esperada significativamente mayor que la de México y la de España que no parecen ser diferentes entre sí (Fig. 3).

5.2 Frecuencias alélicas.

En la Tabla 3, se observa que el número de alelos en los loci polimórficos, fué de dos en Got-2, Lap-2 y Pgm-3; de tres en Lap-1 e Idh-2 y el mayor número de alelos, que fue de cuatro, se encontrará en el locus Pgi-2, para una de las poblaciones de Perú (CL).

Las frecuencias de cada alelo por locus por población se muestran en la Tabla 3. En general se observa que no son muy similares entre sí, ésto se aprecia claramente cuando se comparan poblaciones de diferentes países, en especial en el locus Idh-2, aunque también es notorio en Pgm-3. Algo interesante que se observa en esta tabla es que cuando las poblaciones de México o la población de España son variables en alguno de los loci estudiados, las poblaciones de Perú

también poseen esta variación, con excepción del locus Pgm-2 en España, que es en la única población en la que aparecen dos alelos y sólo en tres individuos de una de las regiones de España (Barcelona). También se observa que en todas las poblaciones de México el locus Got-2 es monomórfico, en dos poblaciones de Perú es polimórfico y en España, aunque no se puede considerar un locus polimórfico (al 95%), algunos individuos tienen dos alelos.

Los resultados de las pruebas de chi-cuadrada realizadas para el análisis de heterogeneidad de frecuencias alélicas por locus (Workman y Niswander, 1970), se presentan en la Tabla 4, para las poblaciones de México, Tabla 5 para las poblaciones de Perú y Tabla 6 para todas las poblaciones incluidas en éste estudio. En las poblaciones de México (Tabla 4) los análisis señalan diferencias significativas entre las poblaciones en las frecuencias alélicas de los tres loci polimórficos. Se realizó una prueba de G (Sokal y Rohlf, 1981) con el fin de conocer si estas diferencias se deben realmente a diferencias entre las tres poblaciones o a diferencias entre sólo dos de ellas (Tabla 3) y se encontró que en el caso de Lap-1 las frecuencias alélicas son significativamente diferentes entre las tres poblaciones, pero en el caso de Idh-2 y Pgm-3, las frecuencias alélicas entre SU y JQ no son significativamente diferentes entre sí, pero si son diferentes al compararlas con SCE (Tabla 3).

Para las poblaciones de Perú, también existen diferencias significativas para cuatro de los seis loci, así como también el total es significativo (Tabla 5). En la prueba de G (Sokal y Rohlf, 1981) realizada con el mismo fin que para las poblaciones de México, se encontró que las diferencias significativas entre las frecuencias alélicas de Lap-1, Lap-2 y de Pgi-2 de las tres poblaciones no están dadas por diferencias entre las tres poblaciones, mientras que para Idh-2 si (Tabla 3).

Al hacer el análisis para todas las poblaciones (tres de México, tres de Perú y una de España, Tabla 6), cinco de los loci muestran diferencias significativas y dos no (Got-2 y Pgm-2). El total también indica que las frecuencias alélicas entre las siete poblaciones de este estudio son significativamente diferentes entre sí.

5.3 Frecuencias genotípicas.

Al analizar con una chi-cuadrada las frecuencias genotípicas de cada locus para cada población, para ver la desviación de lo esperado en el equilibrio de Hardy-Weinberg, salvo dos excepciones, ninguna chi-cuadrada fue significativa indicando que los genotipos posibles de cada locus tienen una frecuencia cercana a lo esperado en Hardy-Weinberg (Tabla 7). En las poblaciones de CL y RQL de Perú el valor de chi-cuadrada para los genotipos posibles de Lap-2 fue significativo (Tabla 7 y 8). Al hacer la corrección de Yates (Sokal y Rohlf, 1981) que se realiza cuando el número de grados de libertad es 1 y algunas de las clases de esperados es menor que 5, el valor de chi-cuadrada para la población CL, es significativo ($X^2=5.534$, $p<.025$ y 1 g.l.). Sin embargo, la chi-cuadrada para la población de RQL obtenida después de hacer la corrección de Yates no es significativa ($X^2=1.576$, 1 g.l.). En los datos de la Tabla 8, para Lap-2 en las poblaciones de CL y RQL, se muestra que el genotipo más común observado es muy parecido al esperado y que realmente el valor más importante para que la chi-cuadrada sea significativa está dado principalmente por una de las clases, en donde la frecuencia esperada es muy pequeña.

Hedrick (1983) propone que cuando una clase tiene un valor esperado menor a 1, esta debe de juntarse con la clase adyacente. Al hacer esto, el valor de chi-cuadrada para Lap-2

en las poblaciones de CL y RQL no es estadísticamente diferente de 0 (Tabla 8).

En CRUC, Perú, el valor de chi-cuadrada para genotipos posibles de Pgi-2 fue significativo. Sin embargo, se tuvo que hacer una corrección, ya que había valores esperados de 0 y menores a 1, por lo tanto se agruparon algunas de las clases en una sola que contenía a homocigos y algunos heterocigos raros, siendo el valor de chi-cuadrada no significativo (Tabla 8).

5.4 Índices de fijación F .

Los índices de fijación F por locus por población, se muestran en la Tabla 9. Dieciseis de éstos índices son negativos y once positivos. Los únicos índices de fijación F que fueron significativos y positivos, fueron los índices de fijación en Lap-2 en dos poblaciones de Perú (CL y RQL), indicando que hay un exceso de homocigos en este locus. Las estimaciones de los índices de fijación entre loci en cada población tienen cierta variación. Hedrick, (1983) propone que cuando esta variación ocurre, puede deberse a errores de muestreo debidos al tamaño de la muestra. Los índices de fijación F promedio y sus errores estándar, para cada población se muestran en la Tabla 9, teniendo en la mayoría de los casos valores positivos, pero no significativos. Los errores estándar muestran que la F es diferente entre algunas poblaciones, indicando, que aunque las poblaciones están cercanas al equilibrio de Hardy-Weinberg, la variación genética está estructurada de diferente manera entre algunas de las poblaciones.

5.5 Estadísticos F de Wright y estimación de flujo génico (Nm).

Los estadísticos F de Wright y una estimación del flujo génico (Nm), usando la fórmula de Crow y Aoki (1984), se presentan en la Tabla 10 para las poblaciones de México y en la Tabla 11 para las poblaciones de Perú. En la Tabla 12 se muestran para las siete poblaciones juntas (México, Perú y España).

Al analizar la Tabla 10 se puede ver que los resultados de F_{is} son similares a los del índice de fijación F , siendo negativo el de $Idh-2$ y los otros 2 positivos, pero ninguno significativo. La F_{st} es significativamente diferente en los 3 loci. En las poblaciones de Perú (Tabla 11) los valores de F_{is} también concuerdan con los del índice de fijación F , siendo positivo y significativo para el locus $Lap-2$. La F_{st} tiene valores significativos en cinco loci y en uno de ellos no. Al hacer el análisis para todas las poblaciones juntas (Tabla 12), el único valor de F_{is} que es significativo es el de $Lap-2$ y los valores de F_{st} son significativos para cinco loci y para dos no.

Los valores de F_{st} encontrados tanto jerárquicamente (separando por países), como al hacer el análisis para todas las poblaciones juntas, se comportan de acuerdo a la manera que se esperaría a partir de lo que se encontró con el análisis de chi-cuadrada para la heterogeneidad de las frecuencias alélicas en las diferentes poblaciones (Tablas 4, 5 y 6), indicando que existen diferencias significativas entre poblaciones.

Al observar los valores de F_{it} en la Tabla 11 solo en $Lap-2$ es significativo y positivo. En la Tabla 12, se observa que cuando los valores de F_{it} son significativos, esto se debe a valores de F_{st} (variación entre poblaciones), con

excepción de Lap-2 en donde Fis también es significativo y positivo.

Los valores de Nm para las poblaciones de México (Tabla 10) son en dos casos menores a 1 y en un caso mayor a 1. El valor promedio es de 1.05. En las poblaciones de Perú (Tabla 11), los valores de Nm son mayores de 1 en cinco de los casos y menores a 1 en sólo uno de los casos. El valor promedio es de 4.02. Esto indicaría que las poblaciones no deberían de ser muy diferentes entre sí, sobre todo las de Perú, ya que Wright sugiere que cuando Nm es mayor a 1 el flujo génico es importante y las poblaciones deben de tener poca diferenciación genética entre ellas; o que el tamaño efectivo es grande (Hartl y Clark, 1989). Sin embargo, los valores de F_{st} son significativos lo que indicaría diferenciación entre poblaciones. Los valores de Nm comparando a las siete poblaciones de éste estudio, (Tabla 12) en la mayoría de los casos son mayores a 1.

5.6 Distancias e identidades genéticas de Nei.

En la Tabla 13 se muestran las identidades (I) y las distancias (D) genéticas de Nei para pares de poblaciones. El promedio de las distancias genéticas para todas las poblaciones es de 0.0295 y el promedio de las identidades es de 0.9705. Para las poblaciones de México el promedio de la distancia genética entre ellas fue de 0.0117 y la identidad de 0.9883; para las poblaciones de Perú la distancia genética promedio fue de 0.0147 y la identidad de 0.9853. Si la distancia genética es de 0 y la identidad es de 1, entonces las poblaciones son idénticas entre sí. Las tres poblaciones de México son genéticamente más parecidas entre sí, así como también las tres poblaciones de Perú son más similares entre sí, que si se compara entre poblaciones de diferentes países. Por los datos de la Tabla 12, se puede ver que la población

de España es más parecida a las poblaciones de México, en especial a la de JQ y a la de SU, que a las poblaciones de Perú.

5.7 Árboles filogenéticos.

El fenograma y cladograma (Figuras 4 y 5, respectivamente) construidos con datos de distancia genética de la Tabla 12 y con datos de ausencia-presencia de alelos muestran relaciones similares de las poblaciones de *Schinus molle*. En ambos existen dos ramas principales formando dos grupos de poblaciones, en una están las dos poblaciones del Valle de México (SU y SCE) y más cercanas entre ellas están la población de Juriquilla, Querétaro y España, SU está más cercana a JQ y ESP, que a SCE. En la otra rama principal están las 3 poblaciones de Perú estando más cercanas entre sí CL y CRUC que RQL. La población de Perú, RQL se encuentra más cercana a las poblaciones de México, en especial a la de SCE, que las otras poblaciones de Perú. En el cladograma realizado con datos de presencia-ausencia de alelos (Figura 5) se observa que existe un paso más entre la población de SCE y JQ, que entre la población de SCE y RQL. Sin embargo, en el fenograma realizado con datos de distancias genéticas (Figura 4) la distancia es mayor entre SCE y RQL que entre SCE y JQ.

Tabla 2.- Variación genética en 12 loci para plántulas de 7 poblaciones de *Schinus molle* en México, Perú y España en 1993 (errores estándar entre paréntesis).

POBLACION	No.promedio de individuos por locus	No.promedio de alelos por locus	% de loci polimórficos		Heterocigosis promedio	
			95%	99%	Obs.	Esp (H-W**)
1.SCE,Méx	32.6 (0.2)	1.3 (0.2)	25.0	25.0	.096 (.050)	.104 (.056)
2.SU,Méx	28.8 (0.1)	1.3 (0.1)	16.7	25.0	.068 (.042)	.067 (.041)
3.JQ,Méx	21.3 (0.3)	1.1 (0.1)	8.3	8.33	.017 (.017)	.027 (.027)
Promedio total México	27.56 (3.32)	1.23 (.067)	16.67	19.44	.060 (.023)	.066 (.022)
4.CL,Perú	37.1 (1.3)	1.8 (0.3)	41.7	50.0	.146 (.056)	.153 (.056)
5.RQL,Perú	52.3 (1.4)	1.5 (0.2)	33.3	33.33	.122 (.062)	.139 (.067)
6.CRUC,Perú	47.9 (1.8)	1.7 (0.2)	41.7	50.0	.141 (.055)	.145 (.058)
Promedio total Perú	45.77 (4.51)	1.66 (.088)	38.9	44.44	.136 (.0075)	.146 (.0041)
7.ESP,Esp	42.2 (1.4)	1.3 (0.1)	0	25.0	.013 (.008)	.013 (.008)
Promedio total	37.46 (4.1)	1.43 (0.09)	29.37	30.95	.086 (.02)	.093 (.02)

** Estimado no sesgado (ver Nei, 1978)

Tabla 3.- (Continuación)

Locus	Población						
	SCE	SU	JQ	CL	RQL	CRUC	ESP
Pgm-2							
(N)	33	29	20	40	55	46	40
1	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	.975
2	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.025
Pgm-3							
(N)	a	b	b	x	y	z	
1	31	28	20	33	48	42	36
1	.435	.732	.800	.621	.698	.798	.958
2	.565	.268	.200	.379	.302	.202	.042

Tabla 4.- Análisis de chi-cuadrada para la heterogeneidad de frecuencias alélicas para los loci de las poblaciones de *Schinus molle* de México (Workman y Niswander, 1970).

Locus	No. de alelos	Chi-cuadrada	G.L.	P
Lap-1	2	20.061	2	.00004
Idh-2	3	11.626	4	.02036
Pgm-3	2	17.581	2	.00015
(Totales)		49.268	8	.00000

Tabla 5.- Análisis de chi-cuadrada para la heterogeneidad de frecuencias alélicas en los loci de las poblaciones de *Schinus molle* de Perú (Workman y Niswander, 1970).

Locus	No. de alelos	Chi-cuadrada	G.L.	P
Got-2	2	4.062	2	.13121
Lap-1	3	19.608	4	.00060
Lap-2	2	8.015	2	.01818
Pgi-2	4	13.042	6	.04238
Idh-2	3	47.210	4	.00000
Pgm-3	2	5.741	2	.05667
(Totales)		97.677	20	.00000

Tabla 6.- Análisis de chi-cuadrada para la heterogeneidad de frecuencias alélicas en los loci de las 7 poblaciones de *Schinus molle* de éste estudio (México, Perú y España) (Workman y Niswander, 1970).

Locus	No. de alelos	Chi-cuadrada	G.L.	P
Got-2	2	9.774	6	.13450
Lap-1	3	75.750	12	.00000
Lap-2	2	50.549	6	.00000
Pgi-2	4	40.170	18	.00198
Idh-2	3	311.372	12	.00000
Pgm-2	2	11.193	6	.08260
Pgm-3	2	52.724	6	.00000
(Totales)		551.532	66	.00000

Tabla 7.- Prueba de chi-cuadrada para la desviación del equilibrio de Hardy-Weinberg en las poblaciones de *Schinus molle* de este estudio.

Locus	Clase	Frecuencia observada	Frecuencia esperada	Chi-cuadrada	gl	P
Población: SCE, Méx.						
Lap-1	2- 2	14	13.016	.574	1	.449
	2- 3	13	14.968			
	3- 3	5	4.016			
Idh-2	1- 1	0	.016	1.018	3	.797
	1- 2	2	1.705			
	1- 3	0	.262			
	2- 2	21	21.738			
	2- 3	8	6.820			
	3- 3	0	.459			
Pgm-3	1- 1	7	5.754	.830	1	.362
	1- 2	13	15.492			
	2- 2	11	9.75			
Población: SU, Méx						
Lap-1	2- 2	17	17.200	.052	1	.819
	2- 3	10	9.600			
	3- 3	1	1.200			
Idh-2	2- 2	27	27.018	.018	1	.893
	2- 3	2	1.965			
	3- 3	0	.018			
Pgm-3	1- 1	15	14.909	.008	1	.929
	1- 2	11	11.182			
	2- 2	2	1.909			
Población: JQ, Méx.						
Pgm-3	1- 1	14	12.718	3.420	1	.064
	1- 2	4	6.564			
	2- 2	2	.718			

Tabla 7.--(Continuación)

Población: CL, Perú

Got-2						
	1- 1	0	.013			
	1- 2	2	1.975			
	2- 2	38	38.013	.013	1	.909
Lap-1						
	1- 1	0	.000			
	1- 2	1	.789			
	1- 3	0	.211			
	2- 2	21	21.690			
	2- 3	13	11.831			
	3- 3	1	1.479	.560	3	.905
Lap-2						
	1- 1	3	.818			
	1- 2	4	8.364			
	2- 2	21	18.818	8.348	1	.004
Pgi-2						
	1- 1	0	.000			
	1- 2	1	.899			
	1- 3	0	.063			
	1- 4	0	.038			
	2- 2	31	31.456			
	2- 3	5	4.494			
	2- 4	3	2.696			
	3- 3	0	.127			
	3- 4	0	.190			
	4- 4	0	.038	.565	6	.997
ldh-2						
	1- 1	0	.017			
	1- 2	1	.542			
	1- 3	1	1.424			
	2- 2	2	2.034			
	2- 3	11	11.390			
	3- 3	15	14.593	.554	3	.907
Pgm-3						
	1- 1	12	12.615			
	1- 2	17	15.769			
	2- 2	4	4.615	.208	1	.648

Población: RQL, Perú

Lap-1						
	2- 2	22	20.429			
	2- 3	22	25.143			
	3- 3	9	7.429	.846	1	.358
Lap-2						
	1- 1	1	.118			
	1- 2	3	4.765			
	2- 2	39	38.118	7.292	1	.007
Pgi-2						
	2- 2	53	53.000			
	2- 3	1	1.000			
	3- 3	0	.000	.000	1	1.000

Tabla 7.- (Continuación)

Idh-2						
	1- 1	6	7.079			
	1- 2	18	14.966			
	1- 3	6	6.876			
	2- 2	7	7.483			
	2- 3	5	7.067			
	3- 3	3	1.528	2.945	3	.400
Pgm-3						
	1- 1	26	23.274			
	1- 2	15	20.453			
	2- 2	7	4.274	3.512	1	.061
Población: CRUC, Perú						
Got-2						
	1- 1	0	.057			
	1- 2	4	3.886			
	2- 2	49	49.057	.061	1	.806
Lap-1						
	2- 2	34	34.725			
	2- 3	12	10.549			
	3- 3	0	.725	.940	1	.332
Lap-2						
	1- 1	1	1.358			
	1- 2	12	11.284			
	2- 2	21	21.358	.146	1	.702
Pgi-2						
	2- 2	41	40.295			
	2- 3	6	6.484			
	2- 4	0	.926			
	3- 3	0	.221			
	3- 4	1	.074			
	4- 4	0	.000	12.841	3	.005
Idh-2						
	1- 1	3	2.530			
	1- 2	6	5.060			
	1- 3	9	10.880			
	2- 2	2	2.289			
	2- 3	10	10.361			
	3- 3	12	10.880	.751	3	.861
Pgm-3						
	1- 1	28	26.639			
	1- 2	11	13.723			
	2- 2	3	1.639	1.741	1	.187

Tabla 7.- (Continuación)

Población: ESP, España

Got-2	1- 1	0	.000			
	1- 2	1	1.000			
	2- 2	39	39.000	.000	1	1.000
Pgm-2	1- 1	38	38.013			
	1- 2	2	1.975			
	2- 2	0	.013	.013	1	.909
Pgm-3	1- 1	33	33.042			
	1- 2	3	2.915			
	2- 2	0	.042	.045	1	.832

Tabla 8: Prueba de chi-cuadrada y chi-cuadrada corregida (Hedrick, 1983) para las frecuencias genotípicas de de Lap-2 en dos poblaciones de Perú y para Pgl-2 en una población de Perú de *Schinus molle*.

Población	Locus	Genotipo	Frec.		chi-cuadrada	Genotipo corrección obs. (Hedrick, 1983)	Frec.		chi-cuadrada
			obs.	esp.			obs.	esp.	
CL, Perú	Lap-2	1-1	3	.818	8.348 (1 gl, p<.004)	1-1/1-2 2-2	7	9.182	.772 (1 gl, p>.50)
		1-2	4	8.364			21	18.818	
		2-2	21	18.818					
RQL, Perú	Lap-2	1-1	1	.118	7.292 (1 gl, p<.007)	1-1/1-2 2-2	4	4.883	.18 (1 gl, p>.75)
		1-2	3	4.765			39	38.118	
		2-2	39	38.118					
CRUC, Perú	Pgl-2	2-2	41	40.295	12.841 (3 gl, p<.005)	2-2 2-3 homócigos y heteróc. raros	41	40.295	1.968 7.411 .295 (1 gl, p>.25)
		2-3	6	6.484			6		
		2-4	0	.926					
		3-3	0	.221					
		3-4	1	.074					
		4-4	0	0					

Tabla 9.- Indices de Fijación de *S. molle* ((errores estándar entre paréntesis, obtenidos con un método de remuestreo (jackknife); Weir, 1990)), para 7 loci en poblaciones de México, Perú y España.

Pobl.	Locus							Media
	Got-2	Lap-1	Lap-2	Pgi-2	Idh-2	Pgm-2	Pgm-3	
1.SCE,Méx.	-	+ .118	-	-	- .157	-	+ .147	+ .036 (0.084)
2.SU,Méx.	-	- .061	-	-	- .036	-	- .002	- .033 (0.013)
3.JQ,Méx	-	-	-	-	-	-	+ .375	+ .375
4.CL,Perú	- .026	- .106	+ .513**	- .008	+ .010	-	- .095	+ .048 (0.047)
5.RQL,Perú	-	+ .117	+ .363*	- .009	- .014	-	+ .253	+ .143 (0.041)
6.CRUC,Perú	- .039	- .150	- .079	+ .055	+ .038	-	+ .189	+ .002 (0.024)
7.ESPAÑA	- .013	-	-	-	-	- .026	- .043	- .027 (0.007)

chi-cuadrada ** $p < .01$
 * $p < .025$

Tabla 10.- Estadísticos F de Wright (error estándar entre paréntesis, obtenido con un método de remuestreo (jackknife); Weir, 1990) para las poblaciones de *Schinus molle* de México.

Locus	F(IS)	F(IT)	F(ST)	Nm
Lap-1	.042	.177	.141**	0.68
Idh-2	-.133	-.060	.065**	1.60
Pgm-3	.159	.253*	.111**	0.89
Promedio	.076	.183	.115** (.019)	1.06

Chi-cuadrada * $p < 0.025$
 ** $p < 0.005$

Tabla 11.- Estadísticos F de Wright (error estándar entre paréntesis, obtenido con un método de remuestreo (jackknife); Weir, 1990) para las poblaciones de *Schinus molle* de Perú.

Locus	F(IS)	F(IT)	F(ST)	Nm
Got-2	-.034	-.021	.012	9.15
Lap-1	-.016	.042	.057****	1.84
Lap-2	.225**	.251**	.033*	3.25
Pgi-2	-.026	-.003	.023****	4.72
Idh-2	.011	.124	.115****	0.86
Pgm-3	.103	.126	.025*	4.33
Promedio	.054	.113	.063*** (.0076)	4.02

chi-cuadrada * $p < .05$
 ** $p < .025$
 *** $p < .010$
 **** $p < .005$

Tabla 12.- Estadísticos F de Wright (error estándar entre paréntesis, obtenido con un método de remuestreo (jackknife); Weir, 1990) para las 7 poblaciones de *Schinus molle* de éste estudio, en México, Perú y España.

Locus	F(IS)	F(IT)	F(ST)	Nm
Got-2	-.030	-.011	.019	9.49
Lap-1	.009	.140**	.132**	1.21
Lap-2	.225***	.318***	.120**	1.35
Pgi-2	-.026	.029	.053**	3.28
Idh-2	-.013	.392***	.400***	0.28
Pgm-2	-.026	-.004	.022	8.17
Pgm-3	.126	.225***	.114**	1.43
Promedio	.059	.260***	.213*** (.022)	3.60

chi-cuadrada ** p<.025

*** p<.005

Tabla 13.- Identidades I (sobre la diagonal) y Distancias D (bajo la diagonal) genéticas sin sesgo de Nei (Nei, 1978), para pares de poblaciones de *Schinus molle* en México, Perú y España.

Población	1	2	3	4	5	6	7
1 SCE Mex	*****	.991	.977	.962	.980	.954	.964
2 SU Mex	.009	*****	.997	.954	.977	.959	.993
3 JQ Mex	.023	.003	*****	.946	.964	.956	.998
4 CL Perú	.039	.047	.055	*****	.977	.994	.939
5 RQL Perú	.02	.023	.037	.023	*****	.985	.959
6 CRUC Perú	.047	.042	.045	.006	.015	*****	.954
7 ESPANA	.037	.007	.002	.063	.041	.047	*****

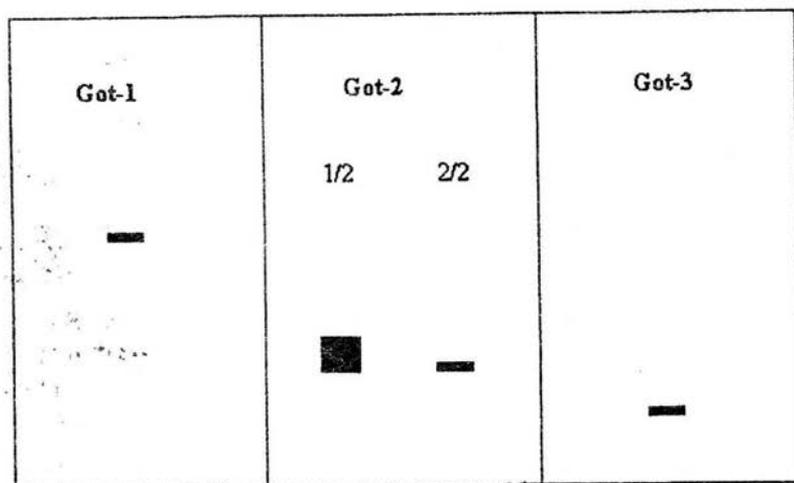


Figura 2a: Esquema de los patrones de bandeo que presentaron los loci de la enzima Got.

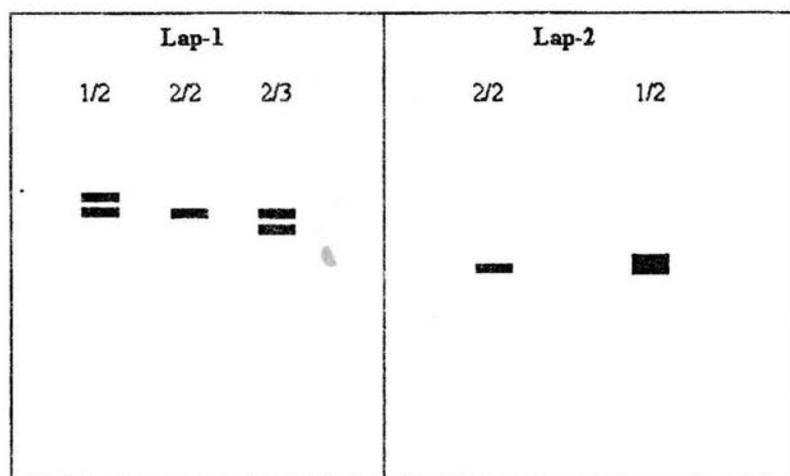


Figura 2b: Esquema de los patrones de bandeo que presentaron los loci de la enzima Lap.

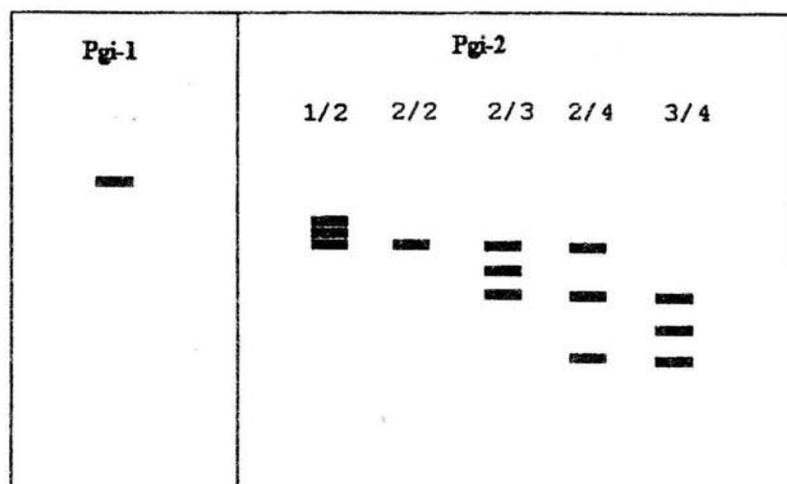


Figura 2c: Esquema de los patrones de bandeo que presentaron los loci de la enzima Pgi.

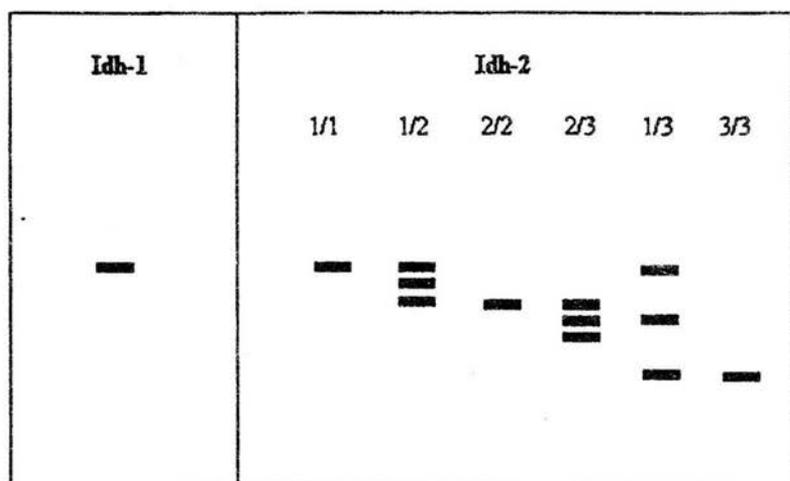


Figura 2d: Esquema de los patrones de bandeo que presentaron los loci de la enzima Idh.

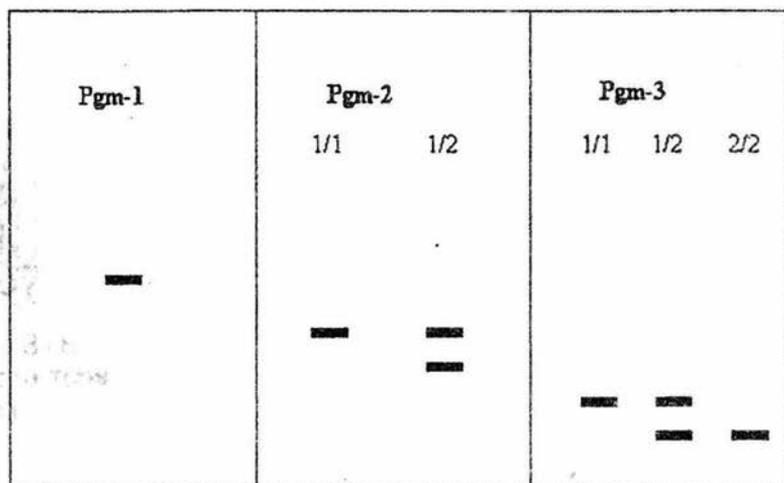


Figura 2e. Esquema de los patrones de bandeo que presentaron los loci de la enzima Pgm.

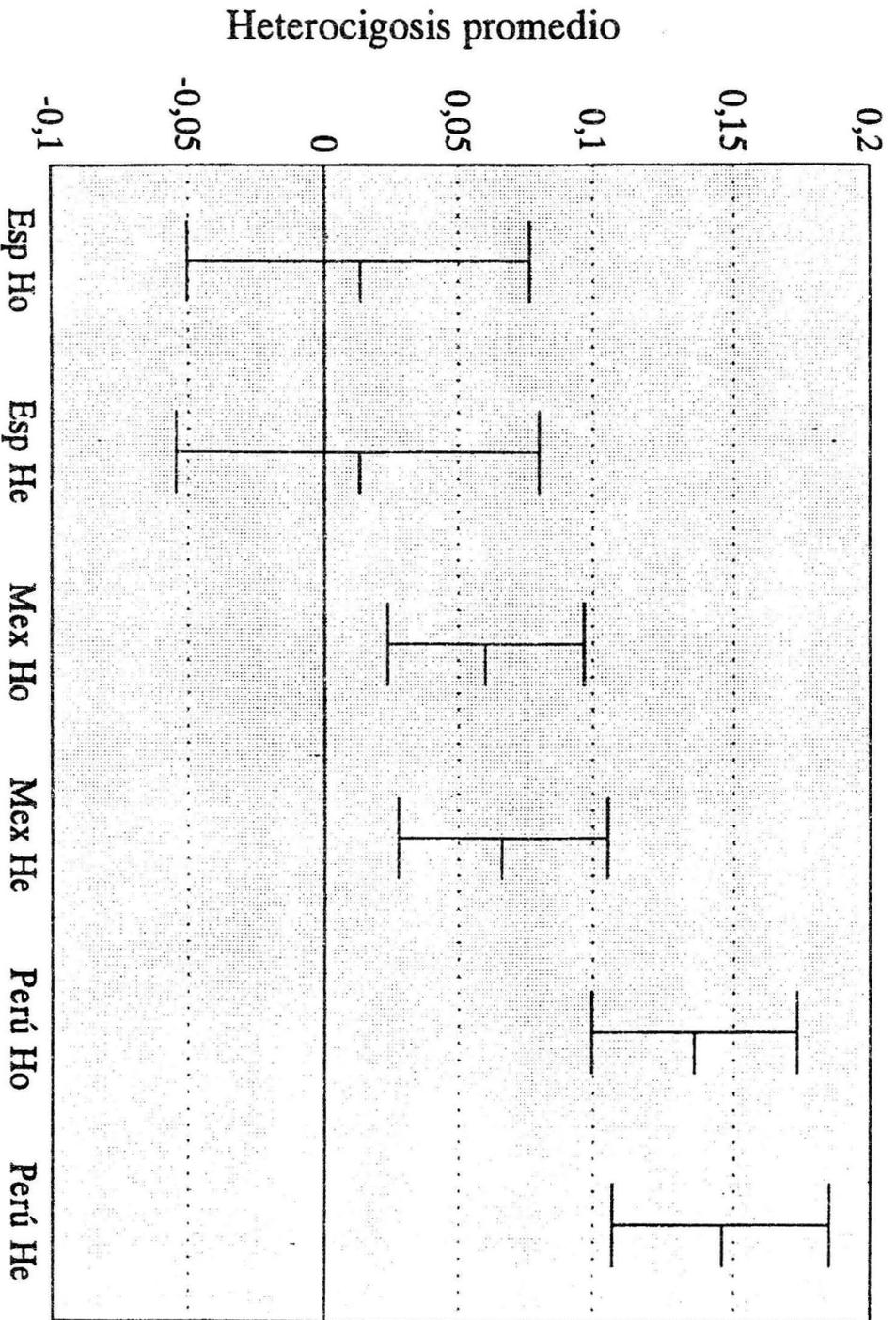


Figura 3: Heterocigosis promedio observada (Ho) y esperada (He) para poblaciones de Schinus molle de México, Perú y España. Las barras muestran los intervalos de confianza al 95%.

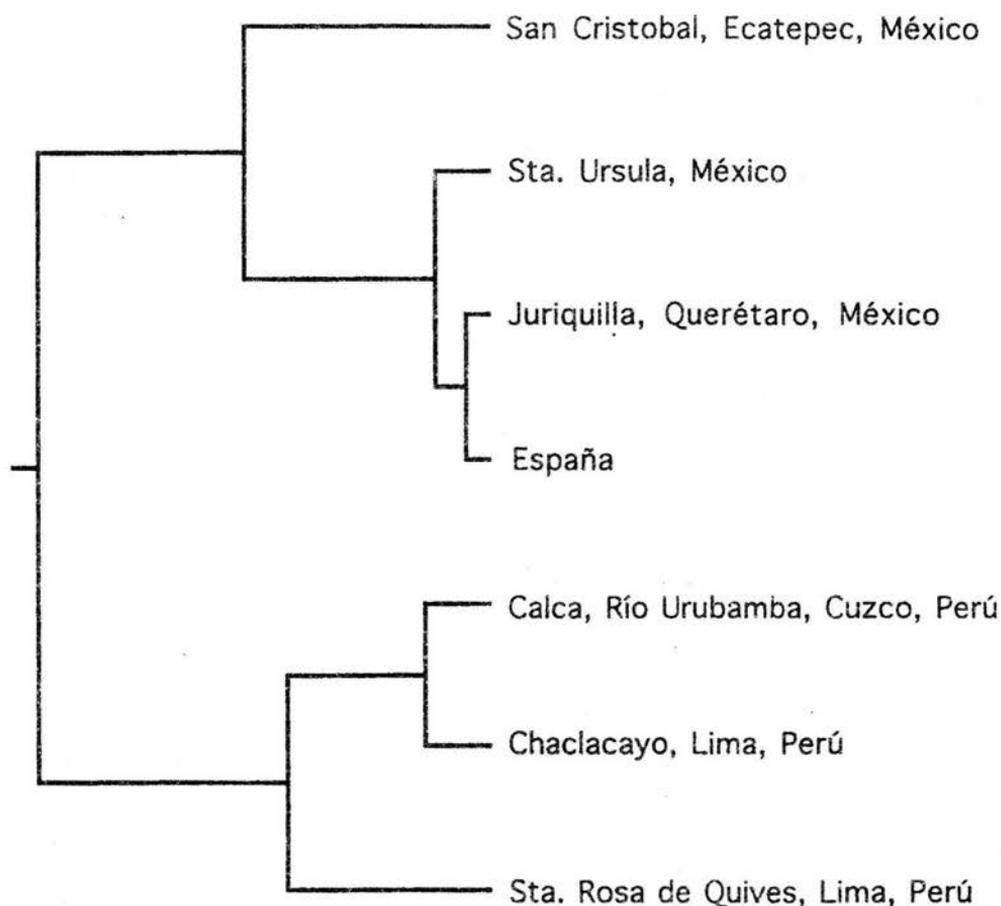


Figura 4: Fenograma de poblaciones de *Schinus molle* pertenecientes a México, Perú y España, construido con datos de distancia genética en UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean, PHYLIP 5.4, Felsenstein, 1993).

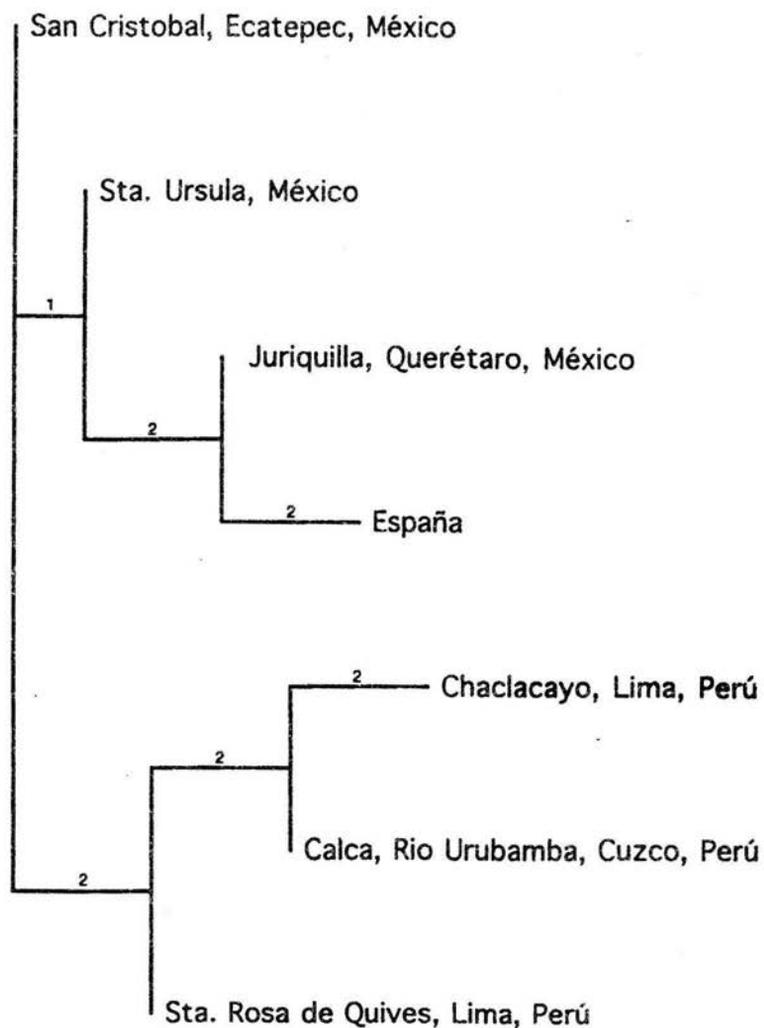


Figura 5: Cladograma de poblaciones de *Schinus molle* pertenecientes a México, Perú y España, construido con datos de ausencia-presencia de alelos en PAUP 3.0 (Phylogenetic Analysis Using Parsimony, Swofford, 1989).

6 DISCUSION

6.1 Variación genética.

De acuerdo con las medidas de variación genética obtenidas para *Schinus molle* en este estudio, se pudo ver una reducción en la variación genética en poblaciones introducidas a México y España en relación a las poblaciones parentales, de Perú. Asimismo, se encontró que la diferenciación entre poblaciones introducidas y ancestrales es mayor que entre poblaciones de una misma región.

Para poblaciones de Perú el polimorfismo fue de 0.389, la heterocigosis promedio esperada de 0.146, y el número promedio de alelos por locus de 1.66, comparandolos con las poblaciones de México, el polimorfismo disminuyó 2.3 veces, la heterocigosis promedio esperada disminuyó 2.2 veces y el número promedio de alelos en las poblaciones de México disminuyó 1.4 veces, o sea una reducción de aproximadamente la mitad en las poblaciones de México. En cuanto a la población de España, aún cuando los individuos pertenecen a muchos sitios de España, el polimorfismo al 95% fue de 0 y la heterocigosis 5.1 veces menor a la de México si se consideran las tres poblaciones y 11.2 veces menor a la de Perú, promediando las tres poblaciones. Esto indica que hubo una reducción en la variación genética que probablemente se debe a un cuello de botella, asociado a un efecto fundador debido a la introducción de *Schinus molle* a México y posteriormente a España.

Los niveles relativamente altos de variación genética en poblaciones de *Schinus molle* de Perú pueden explicarse por diferentes características de la especie: es una especie leñosa, con ciclo de vida largo, dioica, con fecundación

cruzada, tiene un síndrome de polinización entomófilo y una dispersión de semillas por aves que pueden acarrearlas a largas distancias, lo cual sugiere que el flujo génico es importante en la determinación de la estructura genética.

Al comparar los resultados de la variación genética de *Schinus molle* con otros obtenidos para otras especies con historia de vida semejante, en algunos casos son similares (Hamrick et al., 1979; Loveless y Hamrick, 1984; Hamrick y Loveless, 1986; Hamrick y Godt, 1990; Eguiarte, 1990). Hamrick et al. (1979) encontraron promediando en 113 taxa de plantas un valor promedio de polimorfismo de 0.368, un número promedio de alelos de 1.69 y una heterocigosis promedio de 0.156. Hamrick y Godt (1990) encontraron diferentes valores de los niveles de variación genética al relacionarlos con diferentes características de historia de vida: para leñosas encontraron un polimorfismo promedio de 0.50, un número promedio de alelos de 1.79, y una heterocigosis promedio de 0.149; para especies con distribución regional, el polimorfismo encontrado fue de 0.364, el número promedio de alelos de 1.55 y la heterocigosis promedio de 0.118; para especies que se entrecruzan y con polinización por animales, se reporta un polimorfismo de 0.359, un número promedio de alelos de 1.54 y una heterocigosis promedio de 0.124; al relacionarlo con la forma de dispersión de las semillas, se encontró en la dispersión por ingestión de aves un polimorfismo de 0.324, un número promedio de alelos de 1.48 y una heterocigosis promedio de 0.129. Los valores de estos índices encontrados en poblaciones de *Schinus molle* de Perú se encuentran relativamente cercanos a los anteriores.

El hecho de que las poblaciones de México y la población de España tengan niveles de variación genética menores a los esperados para este tipo de plantas, se explica por la reducción de la variación genética debido a su introducción, y a que probablemente tuvieron tamaños poblacionales

reducidos durante algún tiempo y por lo tanto, la deriva génica y endogamia pudieron jugar un papel importante. Otra posibilidad es que el muestreo de poblaciones esté sesgado y que no se tenga toda la variabilidad que hay. Probablemente exista otra población en México que tenga mayor variación genética que la población de SCE. Sin embargo, la reducción de la variación genética en las poblaciones introducidas es considerable y por lo tanto, es probable que en cualquier población de *Schinus molle* de México y España se encuentre el mismo patrón.

La población de JQ, México y la población total de España tienen mayor reducción en la variación genética que las otras poblaciones introducidas (SCE y SU). Si estas poblaciones provienen de una población del Valle de México, como es lo más probable para JQ, entonces fueron fundadas a partir de una población previamente introducida, que todavía no recuperaba su variación genética original, por lo tanto, además de ser poblaciones más jóvenes, se iniciaron con muy poca variación genética.

6.2 Frecuencias alélicas.

Las frecuencias alélicas de los diferentes loci en la Tabla 3 muestran que aquellos loci que tienen variación genética en México y España también son variables en Perú, con excepción de un alelo raro en la población de España, el cual tiene una frecuencia muy baja. Este alelo no se detectó ni en las poblaciones de Perú, ni en las poblaciones de México, y sólo está presente en algunos individuos de una región de España (Barcelona), probablemente este alelo no está presente en ninguna población y es producto de una mutación, pero sería interesante muestrear a un mayor número de individuos para ver si este alelo está presente en alguna otra población.

Al observar las frecuencias alélicas de los loci Got-2, Lap-2 y Pgi-2, la frecuencia del alelo más común es el alelo que se encuentra presente en estos mismos loci que son monomórficos en poblaciones de México y España. Esto sugiere que el alelo raro o menos común que se encuentra en las poblaciones de Perú se perdió en las poblaciones fundadoras de México y España en el momento de la introducción o posteriormente por deriva génica.

En el caso del locus Idh-2, parece ser que la deriva génica es un proceso importante para la diferenciación interpoblacional. Aunque las frecuencias alélicas de Idh-2 en las poblaciones de Perú no son tan diferentes entre alelos (sobre todo en dos de los tres alelos) (Tabla 3), al compararlas con las poblaciones de México hay claramente un alelo con una frecuencia mucho más alta que los demás y este alelo (2) no tiene la frecuencia más alta en dos de las poblaciones de Perú. Las frecuencias alélicas de este locus sugieren que las poblaciones de México son más parecidas a la población de Santa Rosa de Quives, Lima.

En general, se puede decir que la muestra de individuos obtenida en las poblaciones de México (SCE y SU) es una submuestra de las poblaciones de Perú y asimismo la población de JQ, es una submuestra de la población del Valle de México, ya que en JQ existe mucho menos variación genética que en SCE y SU y los alelos encontrados en JQ también se encuentran en SCE y SU. En cuanto a la población de España, podría decirse que es una submuestra de poblaciones de México debido a que los alelos que posee son los mismos que los encontrados en México, con excepción de Pgm-2 y el locus Got-2 que es variable en España y en México no. Sin embargo, en España se encontraron muy pocos individuos heterocigos para Got-2 y por lo tanto sería necesario tener una muestra de otras

poblaciones de México con el fin de saber si hay individuos heterocigos para este locus.

6.3 Efecto fundador.

Schinus molle fue introducido al Valle de México entre 1540 y 1550, en la época de la colonia y posteriormente a España, a principios del siglo XVIII (Kramer, 1957). Los resultados y análisis anteriores, obtenidos al comparar las frecuencias alélicas y en particular las estimaciones de la variación genética (Tabla 2), sugieren que ésta introducción estuvo acompañada de un efecto fundador asociado a una introducción a larga distancia, que es lo que predice la teoría, y como se ha encontrado en estudios con diferentes especies introducidas o colonizadoras (Clegg y Brown, 1983; Glover y Barrett, 1987; Barrett y Shore, 1989).

Experimentos realizados por McCommas y Bryant (1990) en una población de moscas, *Musca domestica* L., para ver el efecto de cuellos de botella en la variación genética, mostraron una reducción de la variación genética, cambios en las frecuencias alélicas y particularmente pérdida de alelos. Asimismo, en estudios realizados con poblaciones naturales de *Avena barbata*, de *Bromus mollis* (Clegg y Brown, 1983) y de *Eichhornia paniculata* (Glover y Barrett, 1987) se observó una reducción en la variación genética al comparar poblaciones nativas e introducidas. Este patrón también se encontró en poblaciones de algunas plantas carnívoras, en lagartijas (*Anolis*), en ratón *Peromyscus*, en la mosca *Drosophila pseudoobscura* y en la mosca *Rhaegoletis completa* (Betancourt et al., 1991). Algunos estudios indican que en estas últimas especies la heterocigosis fue afectada en menor grado que el número de alelos por locus, que es lo que se espera en poblaciones que se expanden rápidamente (Betancourt et al., 1991), ya que la tasa de decremento de la heterocigosis en

las primeras generaciones, depende en gran manera de la tasa de crecimiento intrínseca de la población (Nei et al., 1975).

La tasa de pérdida de alelos dependè principalmente del tamaño de la población fundadora. Por otro lado, la tasa de pérdida de heterocigosis depende del tamaño de la población fundadora, así como también de la tasa de crecimiento de la población (Nei et al., 1975). En éste estudio se observa una reducción de la mitad en la diversidad genética de poblaciones introducidas a México. En la Tabla 2 se puede observar que la heterocigosis fue afectada en mayor grado por el efecto fundador, que la tasa de pérdida de alelos, por lo tanto podría pensarse que la población fundadora fue pequeña y no muy diversa genéticamente, que su crecimiento fue relativamente lento o que no han pasado suficientes generaciones en *Schinus molle*, para que la heterocigosis alcance su valor original. Nei et al. (1975) encontraron, en experimentos realizados con *Drosophila pseudoobscura*, que una vez que la heterocigosis se reduce de manera drástica, el tiempo requerido para que alcance el nivel original o un nuevo nivel es muy largo (10^8 generaciones). Aunque no se conoce con exactitud el tiempo generacional de *Schinus molle*, si se considera han pasado alrededor de 25 o 30 generaciones desde su introducción a México, 10^8 generaciones es un tiempo muy largo y probablemente las poblaciones introducidas de *Schinus molle* nunca alcancen su valor original.

Por otro lado, Nei et al. (1975), sugieren que aunque un evento fundador tiene un mayor efecto sobre la pérdida del número de alelos que sobre la heterocigosis promedio, cuando la población introducida alcanza un tamaño suficientemente grande, se espera que el número promedio de alelos por locus se incremente a una velocidad mayor que la heterocigosis promedio, ya que van a surgir nuevos alelos por mutación que en un principio van a encontrarse en frecuencias bajas como para contribuir a la heterocigosis. Se podría pensar que éste

fenómeno ocurrió en poblaciones introducidas de *Schinus molle*, ya que el número de alelos se ve menos afectado que la heterocigosis promedio. Sin embargo, no se encontraron alelos nuevos en éstas poblaciones, que fueran diferentes a los presentes en Perú (con excepción de un alelo de Pgm-2 en España).

Nei et al. (1975) encontraron que un cuello de botella de 10 o menos individuos es necesario para que exista un efecto severo sobre la variabilidad genética de la población (Bryant et al. 1981). Los datos de las frecuencias alélicas pueden ser utilizados para estimar cuantitativamente el número aproximado de individuos fundadores. Si se supone que las frecuencias alélicas no han cambiado significativamente desde que ocurrió la introducción, y como consecuencia el efecto fundador, entonces el número de fundadores necesarios para que un alelo tenga una determinada frecuencia $f(x)$, sería (Betancourt et al, 1991):

$$N = 1/2f(x)$$

donde N es el tamaño de la población fundadora.

Un alelo con una frecuencia baja, como en Idh-2 en las poblaciones de la ciudad de México (SCE y SU), de 0.034 y 0.032, sólo podría resultar de una muestra de por lo menos 15 individuos, según la fórmula anterior.

Sin embargo, podría pensarse que las frecuencias alélicas han cambiado a lo largo del tiempo y que el tamaño de la población fundadora fue probablemente menor a 15 individuos. Por ello los alelos de la población parental que se encontraban en frecuencias bajas se eliminaron, debido al efecto fundador o a la deriva génica como consecuencia, y que otros alelos, como en el caso de Idh-2 están en un proceso en donde van a desaparecer y se fijará el alelo más común.

Posteriormente a la introducción, el tamaño de la población fundadora es pequeño y entonces la deriva génica y la endogamia pueden ser fuerzas evolutivas importantes en determinar la estructura genética de poblaciones introducidas. Las poblaciones de México tienen valores de F_{st} mayores a los encontrados entre poblaciones de Perú, (ver más adelante). Esto puede deberse a que posteriormente a su fundación estas poblaciones mantuvieron un tamaño pequeño y a que por lo tanto, existió endogamia y deriva génica que es la que determina el cambio en las frecuencias alélicas (Nei et al. 1975) y provoca una diferenciación genética entre poblaciones.

En la Figura 6a se observa la disminución esperada de la heterocigosis promedio en el tiempo, para poblaciones introducidas a México, debido a deriva génica, ($H_t = (1 - 1/2N)H_{t-1}$), donde H_t es la heterocigosis esperada en el tiempo, N es el tamaño poblacional y H_{t-1} es la heterocigosis al tiempo $t-1$, en donde la inicial es la heterocigosis promedio observada de las poblaciones de Perú (0.146). Se observan dos curvas una que empieza con 2 fundadores y otra que empieza con 4. Suponiendo que el número de individuos se duplica cada generación, cuando se tienen 2 fundadores iniciales la heterocigosis promedio disminuye de tal manera que alrededor de la séptima generación se mantiene constante a lo largo del tiempo y su valor es de aproximadamente 0.084. La heterocigosis promedio actual, encontrada en este estudio para las dos poblaciones del Valle de México (SCE y SU) es muy cercano (0.082). Esto apoyaría la idea de que la población fundadora fue muy pequeña, que la deriva génica ha sido una fuerza evolutiva crucial en la determinación de la estructura genética de poblaciones de México y que no han pasado suficientes generaciones para que la heterocigosis promedio se incremente.

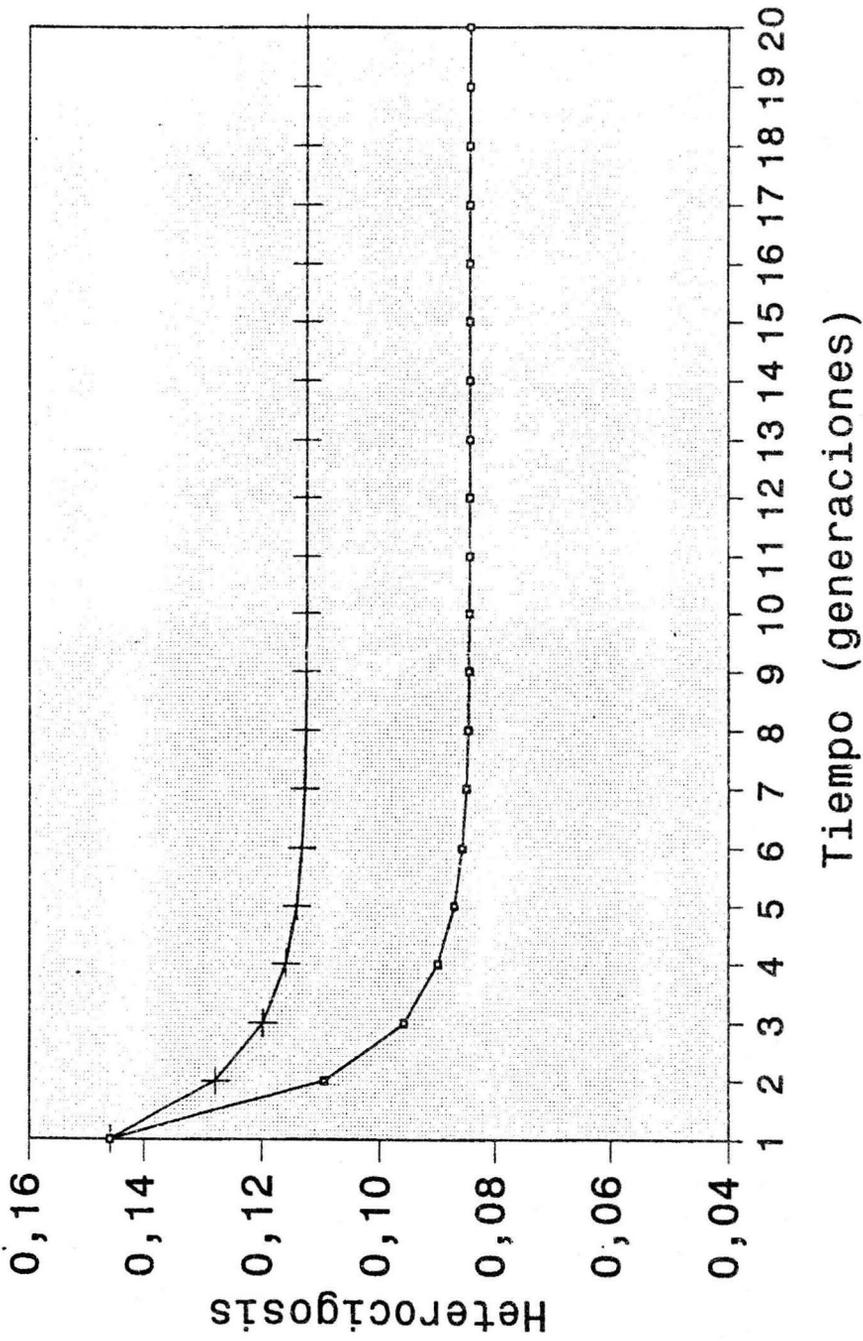


Figura 6a: Disminución de la heterocigosis promedio en poblaciones introducidas a México de *Schinus molle*, iniciando con 2 v 4 fundadores.

—○— 2 fundadores + 4 fundadores

Si suponemos que la población introducida a España proviene de una muestra de individuos de alguna población de México, la disminución esperada de la heterocigosis promedio al hacer una simulación con 2 fundadores (Figura 6b), indica que después de 9 o 10 generaciones la heterocigosis disminuye hasta 0.0487. Sin embargo, la heterocigosis observada para España es menor (0.013). Probablemente en estas poblaciones tanto la deriva génica, como la endogamia, estén determinando niveles tan bajos de heterocigosis.

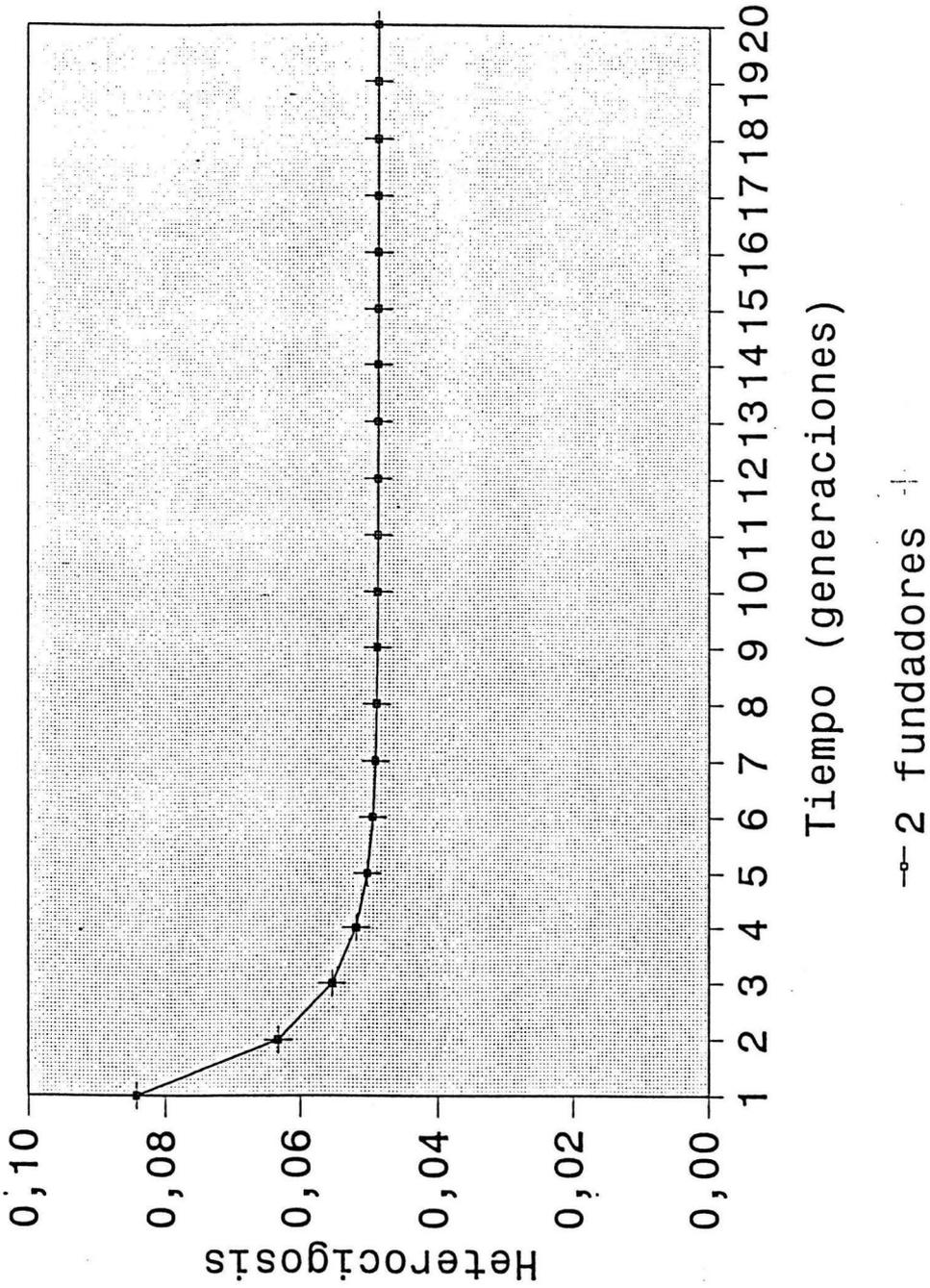


Figura 6b: Disminución de la heterocigosis promedio de la población introducida a España de Schinus molle, iniciando con 2 fundadores.

6.4 Índice de fijación F y frecuencias genotípicas.

En cuanto a las frecuencias genotípicas y los resultados de los índices de fijación F , se encontró que, en términos generales, las poblaciones están en equilibrio de Hardy-Weinberg, con excepción del locus *Lap-2* para 2 poblaciones de Perú, en donde son positivos y significativos (diferentes de 0), lo que sugeriría que hay más homocigos de los que se esperan si hubiera apareamientos al azar, esto podría indicar que hay algún efecto de endogamia en la población. Sin embargo, en este locus se tienen genotipos con valores esperados menores a 5 y al hacer una chi-cuadrada éstas clases deben de juntarse con una adyacente (Hedrick, 1983). De esta manera, la chi-cuadrada ya no es significativa. Por lo tanto se puede concluir que los resultados obtenidos de los índices de fijación F y de las frecuencias genotípicas, sugieren que en las poblaciones de *Schinus molle* estudiadas no hay endogamia y las frecuencias genotípicas se encuentran cercanas al equilibrio de Hardy-Weinberg. Esto puede deberse a la biología reproductiva de la especie, que es dioica, con fecundación cruzada y a la dispersión de polen (por insectos) y semillas (por aves que pueden dispersarlas a distancias considerablemente grandes).

6.5 Estadísticos F de Wright y estimación de flujo génico (Nm).

Los valores de los índices de F_{is} obtenidos para *Lap-2*, al comparar a las poblaciones de Perú y a las 7 poblaciones de este estudio son significativos y positivos, lo que indica un exceso de homocigos por endogamia local (a nivel de subpoblación), sin embargo, podría considerarse que este valor no tiene ningún significado biológico si se considera la explicación anterior, para los índices de fijación F . Al observar los demás valores de F_{is} tanto al comparar por

separado poblaciones de Perú y de México y finalmente a todas las poblaciones juntas, en ningún caso son estadísticamente diferentes de 0 y además no se observa ningún patrón, ya que los valores positivos y negativos son relativamente igual de frecuentes.

Los valores de F_{st} encontrados, muestran lo mismo que indican tanto la prueba de chi-cuadrada para la heterogeneidad de las frecuencias alélicas como los valores de distancia e identidad genéticas, y es que existe cierta diferenciación genética entre poblaciones de Perú y entre poblaciones de México, pero al comparar entre las 7 poblaciones de este estudio (México, Perú y España), la diferenciación es mayor.

Aunque la mayoría de los valores de F_{st} obtenidos al comparar por un lado las poblaciones de México y por otro lado las poblaciones de Perú, son significativos y en ambos casos los promedios son significativos, lo que indica una diferenciación entre poblaciones, estos valores son menores a los reportados para especies monoicas o hermafroditas con un alto nivel de autopolinización y son similares a los reportados en la literatura para árboles con polinización cruzada y polinizados por insectos y por viento, (Loveless y Hamrick 1984; Hamrick, 1989; Eguiarte, 1990; Hamrick et al, 1993).

Para las poblaciones de Perú cinco de los seis loci polimórficos tienen un valor de F_{st} significativo (Tabla 11), siendo el promedio 0.063 que también es significativo, pero relativamente bajo. Esto puede deberse a un efecto de deriva génica o de selección natural. Cuando los valores de F_{st} son diferentes entre sí en una población la fuerza evolutiva importante puede ser la selección natural, y cuando son similares el efecto importante es la deriva génica. En este caso hay valores que son relativamente parecidos, pero el

valor de F_{st} obtenido para $Idh-2$ es el mayor y es el que menos se parece a los demás. Esto puede indicar que esta enzima está asociada a regiones cromosómicas posiblemente sujetas a selección natural. Los valores obtenidos de N_m , varían en cada enzima, sin embargo todos son mayores a 1, con excepción del valor encontrado para $Idh-2$, y el promedio es de 4.023; este valor es similar al promedio de N_m encontrado para especies con polinización cruzada y polinizadas por viento ($N_m=5.38$, Hamrick, 1987). Wright (Hartl y Clark, 1989) sugiere que cuando el valor de N_m es mayor a 1, el flujo génico es importante y se debe de esperar poca diferenciación genética entre poblaciones. En estas poblaciones, los valores de F_{st} señalan que del 100% del total de la variación genética, el 94% se encuentra en un solo sitio y que el 6% representa la variación entre sitios. Estos resultados sugieren que el flujo génico, ya sea por polinización o por dispersión de semillas, es importante en determinar la estructura genética de poblaciones de *Schinus molle* de Perú.

En poblaciones de México los valores de F_{st} de los 3 loci polimórficos son significativos y son diferentes entre sí. Como en el caso anterior esto puede deberse a selección natural, pero también la deriva génica puede jugar un papel importante. Los valores de N_m obtenidos, en solo 1 caso es mayor a 1. El 88.5% de la variación está en un solo sitio y el 11.5% es la variación entre sitios.

El que en México se encuentre mayor diferenciación genética entre poblaciones que en Perú, probablemente no se deba a que existe menor flujo génico, ya que puede pensarse que la dispersión de polen y semillas es similar en ambos sitios, pues se han visto a polinizadores y aves que dispersan a las semillas en poblaciones de México (Corkidi et al., 1991). Esto más bien puede atribuirse a que después de la introducción y establecimiento de la población fundadora, los tamaños poblacionales permanecieron pequeños. La

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

dispersión a partir de la población fundadora para formar otras poblaciones en el Valle de México pudo darse a partir de la dispersión de semillas por ingestión de aves, que a veces las depositan en pequeños parches (Hamrick, 1989), siendo muchas de éstas parientes, por lo tanto la cruza entre parientes y por otro lado la deriva génica en las diferentes poblaciones fueron importantes para que ocurriera esta divergencia. Otra explicación a la diferenciación entre poblaciones de México, sería que las poblaciones provienen de diferentes introducciones. Sin embargo, al observar las frecuencias alélicas de éstas poblaciones, todos los alelos presentes en México están presentes en la población de SCE, y la población de SU. La población de JQ tienen menor variación genética que SCE y los alelos que tiene también los posee esta última población, por lo tanto las poblaciones de SU y JQ parecen ser una muestra de la variación genética de SCE.

La F_{st} promedio, al comparar las siete poblaciones juntas fue significativa, (0.213). Esto sugiere que existe diferenciación genética entre las poblaciones, que probablemente se deba a un efecto de deriva génica debida a la introducción de esta especie en México y en España.

Los valores de F_{st} fueron altamente significativos en cuatro de los siete loci. En el locus *Idh-2* es particularmente alto (0.400), esto se explica al observar las frecuencias alélicas (Tabla 3), ya que en las poblaciones de Perú existen tres alelos con frecuencias relativamente altas en dos de las poblaciones. En una población de México (SCE), existen estos tres alelos, pero el alelo más común tiene una frecuencia considerablemente mayor a los otros dos y otro es un alelo raro. En otra de las poblaciones de México (SU), sólo existen dos alelos y la frecuencia de uno de ellos es muy baja (0.034); en la población de JQ y en la de España, el locus *Idh-2* es monomórfico. En este locus se puede observar

claramente una reducción de la variación genética por un efecto fundador, así como también la ruta probable de dispersión de las poblaciones.

Los valores de N_m estimados a partir de F_{st} varían entre las diferentes enzimas. En Got-2 y Pgm-2 se encuentran los valores más altos (9.49 y 8.17, Tabla 12) respectivamente. Los valores altos de N_m implican que la tasa de migración entre poblaciones es alta o que se tiene una población grande con una varianza mínima debida a deriva génica (Hartl y Clark, 1989). Al observar las frecuencias alélicas de estas enzimas (Tabla 3), Got-2 tiene variación en 2 poblaciones de Perú (CL y CRUC) y sólo 2 individuos heterocigos en España. Sin embargo, no se considera un locus polimórfico en ninguna de las poblaciones y el alelo más común es el alelo de las poblaciones de México; lo mismo ocurre con Pgm-2, en donde sólo es variable para España sin considerarse polimórfico. Los demás loci tienen valores de N_m mayores a 1, con excepción de Idh-2. El promedio de N_m es de 3.6, lo que sugeriría que las poblaciones no son muy diferentes entre sí, según Wright. Sin embargo Kimura y Murayama (en Hartl y Clark, 1989) demuestran que en algunos casos N_m debe de ser mayor a 4 para que el flujo génico sea importante. El valor de F_{st} (0.213) es mayor que otros valores de F_{st} para especies con historia de vida similar a *Schinus molle*, encontrados por Hamrick (1989) ($F_{st}=0.187$ en especies que se entrecruzan y son polinizadas por animales y $F_{st}=0.068$ cuando son polinizadas por viento), lo que indicaría que existe diferenciación genética considerable entre poblaciones de diferentes países.

Los valores de F_{it} que aquí se reportan y que son significativos se deben principalmente a la diferenciación interpoblacional (F_{st}). En la Tabla 12, al comparar a las siete poblaciones juntas hay cuatro loci que tienen índices F_{it} positivos y significativos, y el promedio también es

significativo. Los valores positivos y significativos de F_{it} indicarían que hay un exceso de homocigos que pueden ser debidos a deriva génica y/o endogamia. Como estos valores de F_{it} son significativos principalmente por los valores de F_{st} , se podría pensar que la deriva génica es la fuerza que provoca que estos índices sean significativos.

6.6 Distancias, identidades genéticas y árboles filogenéticos.

Las distancias e idéntidades genéticas de las poblaciones de *Schinus molle* y los árboles filogenéticos muestran que están más cercanas entre sí las poblaciones de un mismo país, que al comparar entre países. Esto sucede para las poblaciones de México y Perú, pero al tomar en cuenta la población de España esta es muy parecida genéticamente a poblaciones de México. Sin embargo, como se observa en la Figura 4, el largo de las ramas del árbol (UPGMA) es muy corto, al igual que el número de pasos (PAUP) son muy pocos en el cladograma de la Figura 5. De la misma manera, aunque las distancias genéticas son menores entre poblaciones de México (0.0117) y entre poblaciones de Perú (0.0147) que entre poblaciones de México, Perú y España (0.0295), en ningún caso son demasiado grandes. Sin embargo, estos valores no están muy alejados de los reportados en la literatura para distancias genéticas entre poblaciones de la misma especie. Linhart et al. (1981) encontraron una distancia promedio de 0.015 entre poblaciones de *Pinus ponderosa*; se encontró una distancia promedio de 0.024 en adultos de *Astrocaryum mexicanum* (Eguarte, 1990); en la hierba leguminosa, *Desmodium nudiflorum*, se encontró una distancia genética entre poblaciones que iba desde 0.0011 hasta 0.0232 (Futuyma, 1979). En el caso de los ejemplos anteriores, la escala de distancia geográfica entre las poblaciones no es la misma que entre poblaciones estudiadas de *Schinus molle* de diferentes países, por lo tanto podría esperarse una mayor distancia

genética entre éstas poblaciones, ya que se encuentran más alejadas geográficamente. El que esto no ocurra puede deberse a que no han transcurrido suficientes generaciones para que las poblaciones se hayan diferenciado genéticamente al grado de tener distancias genéticas mayores a las encontradas para poblaciones de la misma especie.

En ambos árboles se observan 2 ramas principales, una de ellas agrupa a las poblaciones del Valle de México (SCE y SU), a JQ y a la población de España y la otra rama agrupa a las tres poblaciones de Perú. Al observar el cladograma de la Figura 5 (presencia-ausencia de alelos), parece ser que SCE es más parecido a RQL (Perú) que a JQ (México). Sin embargo, esto no se observa en el árbol realizado con distancias genéticas. Esto puede deberse a que en general el número de pasos que separan a las poblaciones son muy pocos, ya que los datos de presencia o ausencia de alelos utilizada para separar a las poblaciones está hecha con base en pocos alelos y que son compartidos por varias poblaciones. El hecho de que exista un paso de más de la población de SCE a JQ que de SCE a RQL puede ser debido a lo anterior y por lo tanto sería necesario tener más datos para obtener más resolución en la separación de poblaciones.

Estos árboles sugieren que la población RQL es la más parecida a las poblaciones de México, podría pensarse que probablemente de esta región o de alguna cercana proviene la muestra de semillas de *Schinus molle* que fue introducida a México en la época de la colonia. Si se quisiera establecer una ruta histórica de introducción con los datos obtenidos, parecería ser que las poblaciones de *Schinus molle* introducidas a México se establecieron a partir de una muestra de alguna población cercana a la región de donde está la población de RQL, que en un principio se establecieron en la zona norte de México y posteriormente tuvo una dispersión hacia otras zonas del Valle de México y de la República

Mexicana. Estos árboles también sugieren que la población de España fue introducida a partir de alguna población de México y no de Perú. Para poder tener más seguridad acerca de lo mencionado anteriormente es necesario muestrear más poblaciones del Valle de México y de Perú, particularmente de Lima, ya que parece ser que de esta zona se mandaron las semillas de la población fundadora hacia el Valle de México, pues ahí se encontraba establecido el virrey.

El que JQ y Esp estén tan cercanas en los árboles, se debe a que estas dos poblaciones son las que tienen menor variación genética, ya que son las poblaciones más jóvenes y en las que por lo tanto han pasado menos generaciones desde su fundación.

6.7 Discusión general.

Este estudio apoya la hipótesis de que la introducción o colonización de especies a larga distancia muchas veces va acompañada de un efecto fundador que tiene como consecuencia la reducción de variación genética (polimorfismo, heterocigosis, número de alelos) y la diferenciación entre poblaciones nativas e introducidas.

Schinus molle fue introducido a México aproximadamente entre 1540-1550 (Kramer, 1957). Actualmente es una especie naturalizada en México, sin embargo, a pesar de ser una especie dioica la heterocigosis promedio de poblaciones de México es la mitad de la de poblaciones de Perú. Esto puede deberse a que aunque han pasado casi 500 años desde su introducción las poblaciones fundadoras pudieron haber permanecido con un tamaño pequeño durante las primeras generaciones y por lo tanto pudo haber endogamia y deriva génica. Por otro lado, no han pasado suficientes generaciones para la recuperación de la variación genética.

Sería interesante conocer el tiempo de generación exacto de *Schinus molle* para saber cuantas generaciones han ocurrido desde su introducción.

El éxito en el establecimiento y dispersión de esta especie en México puede deberse a varios factores: el hecho de que posea poca variación genética y que sea capaz de colonizar muchos tipos de hábitats tanto secos, como húmedos, suelos arenosos y hasta rocosos implica que *Schinus molle* tiene una alta plasticidad fenotípica; también puede deberse a su acción alelopática que le permite crecer, a veces desplazando a otras especies. La falta de enemigos naturales al momento de su introducción y dispersión y la presencia de dispersores también han podido contribuir a su éxito.

Al comparar los resultados obtenidos de variación genética para *Schinus molle* con los encontrados para algunas especies colonizadoras, encontramos que al igual que en el caso de las especies que se autofertilizan como *Avena barbata*, *Bromus mollis* (Clegg y Brown, 1983) y también en el caso de *Eichhornia paniculata* (Glover y Barrett, 1987), en la cual hubo una reducción en la tasa de entrecruzamiento (t) en las poblaciones introducidas a Jamaica, se observa una reducción en Ht y N_a , lo cual es atribuido a un efecto fundador en *Avena barbata* y *Bromus mollis*. En *Eichhornia paniculata* se atribuye además a una reducción en la t . En el caso de *Apera spica-venti* y *Trifolium hirtum*, en donde aumento la t en poblaciones introducidas a California, no se observa esta reducción. Los resultados de estos estudios (Tabla 1) indican que el sistema reproductivo es muy importante en el efecto que pueda tener un eveto fundador. Sin embargo, *Schinus molle* es una especie dioica y por lo tanto con entrecruzamiento obligado y a pesar de ésto se nota una reducción en la variación genética. Esto se debe probablemente, a que a diferencia de las especies de la Tabla 1, *Schinus molle* es una especie leñosa, perenne, de ciclo de

vida largo y requiere de más tiempo para aumentar sus tamaños poblacionales y recuperar la variación genética.

La mayoría de las plantas colonizadoras o introducidas que han sido estudiadas han sido malezas que tienen características que son atribuidas a colonizadoras exitosas como autopolinización, ciclos de vida muy cortos, y poliploidía, entre otras. Este estudio es un ejemplo de una especie leñosa, dioica, diploide con polinización cruzada, que ha sido una colonizadora exitosa.

Este estudio muestra que es muy difícil definir a especies colonizadoras como a un grupo de plantas en particular que comparten características similares. Por lo tanto, es difícil generalizar en cuanto a características necesarias para ser una especie colonizadora exitosa, así como también hacer generalizaciones acerca de las consecuencias genéticas de los eventos de colonización, ya que estos dependen de la combinación de diversos factores.

Este trabajo da una idea acerca de algunos procesos microevolutivos e históricos de introducciones y migraciones de *Schinus molle*. Sin embargo es necesario hacer estudios con un mayor número de poblaciones y mayor número de loci si se quiere establecer una ruta más detallada. Al haber poca variación isoenzimática en poblaciones de México y aún menos en España, probablemente también sería necesario utilizar otro marcador genético. El grado de variación genética que no se detecta con la técnica de electroforesis es grande. El medir la variación genética directamente en el ADN utilizando técnicas de enzimas de restricción o de secuenciación de ADN podría ayudarnos a seguir la ruta histórica de introducción de *Schinus molle*. Para tener una estimación del número de generaciones que han transcurrido desde la introducción de *Schinus molle* es importante tener estudios de su historia de vida. También es necesario tener estudios de la demografía de

la especie en México para conocer los tamaños efectivos poblacionales y así conocer la importancia de la deriva génica en las poblaciones.

Schinus molle es una especie a la cual se le pueden dar muchos usos (medicinales, madera, ornamentales, para dar sombra, etc.) y es capaz de crecer en muchos hábitats, es una especie colonizadora que no es considerada una peste y por lo tanto podría ser utilizada en programas de reforestación.

7 CONCLUSIONES

- Las poblaciones de *Schinus molle*, pertenecientes a Perú muestran una estructura genética similar a la encontrada para otras especies con características de historia de vida parecida: leñosas, dioicas, por lo tanto con polinización cruzada y polinización entomófila.

- Los índices de fijación F y las frecuencias genotípicas sugieren que las poblaciones están cercanas al equilibrio de Hardy-Weinberg.

- Los estadísticos F de Wright sugieren que existe mayor variación entre poblaciones que dentro de una población. También sugieren que la deriva génica ha sido una fuerza evolutiva importante en la estructura de poblaciones introducidas.

- Los datos y análisis realizados con las frecuencias alélicas, estadísticos de F Wright y distancias genéticas, demuestran que existe mayor diferenciación entre poblaciones de diferentes países que entre poblaciones del mismo país.

- La reducción de la variación genética de poblaciones introducidas, así como la diferenciación genética entre las poblaciones parentales e introducidas, y el papel de la deriva génica en la estructura genética de éstas últimas, son consecuencia de un efecto fundador asociado a una introducción a larga distancia.

- Las poblaciones de México parecen ser una muestra incompleta de la variación genética de poblaciones de Perú; asimismo la población de Querétaro y la población de España

parecen ser una muestra de la variación genética de poblaciones de México.

- Los resultados y análisis sugieren que sólo ha habido una introducción de *Schinus molle* a México, que la población fundadora fue relativamente pequeña y que a partir de ésta, *Schinus molle* se estableció y dispersó en diferentes regiones de México.

8 REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Anaya A.L. y A.Gómez-Pompa 1971. Inhibición del Crecimiento Producida por el "Pirú" (*Schinus molle* L.). *Revista de la Sociedad Mexicana de Historia Natural*; 32:99-109.
- Avise, J.C. 1994. *Molecular Markers, Natural History and Evolution*. Chapman & Hall, Gran Bretaña.
- Baker H.G. y Stebbins G.L. (eds). 1965. *The Genetics of Colonizing Species*. Academic Press, Nueva York.
- Barkley, F.A. 1944. A Study of *Schinus* L. *Brittonia*. *Argentina* 5:160-195.
- Barrett S.C.H. y B.J. Richardson. 1986. Genetic Attributes of Invading Species. En: R.H. Groves y J.J. Burdon (eds.). *Ecology of Biological Invasions: An Australian Perspective*. Cambridge University press; pp. 21-33.
- Barrett S.C.H. y J.S. Shore. 1989. Isozyme Variation in Colonizing Plants. En: D.E. Soltis y P.S. Soltis (eds) *Isozymes in Plant Biology. Advances in Plant Sciences Series*. Dioscorides Press. Portland, Oregon; pp. 106-126.
- Barrett S.C.H. y B.C. Husband. 1990. The Genetics of Plant Migration and Colonization. En: A.H.D. Brown, M.T. Clegg, A.L. Kahler y B.S. Weir (eds.). *Plant Population Genetics, Breeding and Genetic Resources*. Sinauer Associates Inc. Publishers, Sunderland, Massachusetts; pp. 254-277.

- Bazzaz, F.A. 1986. Life History of Colonizing Plants: Some Demographic, Genetic, and Physiological Features. En: M.A. Mooney y J.A. Drake (eds.). *Ecology of Biochemical Invasions of North America and Hawaii. Ecological Studies*. Springer-Verlag, New York Inc.; 96-110.
- Begon, M., J.L. Harper y C.L. Townsend. 1986. *Ecology. Individuals. Populations and Communities*. Blackwell Scientific Publications, Oxford.
- Betancourt, J.L., Shuster W, S., Mitton, J.B. y R.S. Anderson. 1991. Fossil and Genetic History of a Pinyon Pine (*PINUS EDULIS*) Isolate. *Ecology*, 72:1685-1697.
- Billington, H.L. 1991. Effect of Population Size on Genetic Variation in a Dioecious Conifer. *Conservation Biology*, 5:115-119.
- Bryant, E.H., H. Van Dijk y W. Van Delden. 1981. Genetic Variability of the Face Fly, *Musca Autumnalis* de Geer, in Relation to a Population Bottleneck. *Evolution* 35(5):872-881.
- Brown A.H.D. and D.P. Marshall. 1981. Evolutionary Changes Accompanying Colonization in Plants. En: G.E. Scudder and J.L. Reveal (eds.). *Evolution Today. Proceedings of the Second International Congress of Systematic and Evolutionary Biology*. p.p. 351-363.
- Burdon, J.J. y A.H.D. Brown. 1986 Population Genetics of *Echium plantagineum* L.- Target Weed for Biological Control. *Aust. J. Biol. Sci.*, 39:369-378.

- Carson, H. L. 1983. The Genetics of the Founder Effect. En: C.M. Shonewald-Cox, S.M. Chambers, B. MacBryde y L. Thomas (eds.). *Genetics and Conservation. A Reference for Managing Wild Animal and Plant Populations*. Benjamin Cummings publishing company, Inc., California; p.p 189-200.
- Cerrate, E. 1979. El Molle. *Boletín de Lima* 2:28-32.
- Ciclote, J.P., D. Ocaña y E. Barahona. 1985. Apuntes sobre algunas Especies Forestales Nativas de la Sierra Peruana. *Proyecto Fao/Holanda/INFOR*. Centauro, S.A. Lima, Perú; pp. 61-65.
- Clegg, M.T. y A.H.D. Brown. 1983. The Founding of Plant Populations. En: C.M. Shonewald-Cox, S.M. Chambers, B. MacBryde y L. Thomas, (eds.). *Genetics and Conservation. A Reference for Managing Wild Animal and Plant Populations*. Benjamin Cummings publishing company Inc., California; pp. 216-228.
- Copeland H.F. 1959. The Reproductive Structures of *Schinus molle* (Anacardiaceae). *Madroño* 15:14-25.
- Corkidi, L., S. Cacho y A. Búrquez. 1991. Dispersión del Piru (*Schinus molle* L., Anacardiaceae) por Aves en Teotihuacan, México. *Acta Botánica Mexicana* 15:17-22.
- Crawford, D.J. 1989. Enzyme Electrophoresis and Plant Systematics. En: D.E. Soltis y P.S. Soltis (eds). *Isozymes in Plant Biology*. Advances in Plant Sciences Series. Dioscorides press, Portland, Oregon; pp. 146-164.

- Crow, J.F. y K. Aoki. 1984. Group Selection for a Polygenic Behavioral Trait: Estimating the Degree of Population Subdivision. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 81:6073-6077.
- Eguiarte, L.E. 1990. Genética de Poblaciones de *Astrocaryum mexicanum*. Liebm. en los Tuxtlas, Veracruz. Tesis de Doctorado. Centro de Ecología/UACPyP y el CCH, U.N.A.M. México.
- Eguiarte, L.E. y D. Piñero. 1990. Genética de la Conservación: Leones Vemos, Genes no Sabemos. *Ciencias*. Número especial 4:34-47.
- Felsenstein, J. 1988. Phylogenies from Molecular Sequences: Inference and Reliability. *Ann. Rev. Genet.* 22:521-65.
- Felsenstein, J. 1993. *Phylip (Phylogeny, Inference Package)* 3.5c. University of Washington, Seattle.
- Futuyma, D.J. 1979. *Evolutionary Biology*. Sinauer, Sunderland, Massachusetts.
- Garay, A. 1991. Montaje de un Sistema de Loci Polimórficos para una Especie Arbórea Neotropical, *Cecropia Obtusifolia*. Tesis de licenciatura (Biología). Facultad de Ciencias. U.N.A.M. México.
- Glover, D.E. y S.C.H. Barrett. 1987. Genetic Variation in Continental Island Populations of *Eichhornia paniculata* (Pontederiaceae). *Heredity* 59:7-17.
- Gómez, J.M. 1889. Arbol del Perú. *Revista Agrícola* 5:34-35.

- Hamrick, J.L., Y.B. Linhart, J.B. Mitton. 1979. Relationships Between Life History Characteristics and Electrophoretically Detectable Genetic Variation in Plants. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 10:173-200.
- Hamrick J.L. y Loveless, M.D. 1986. Isozyme Variation in Tropical Trees: Procedures and Preliminary Results. *Biotropica* 18(3): 201-207.
- Hamrick, J.L. 1987. Gene Flow and Distribution of Genetic Variation in Plant Populations. En: K. Urbanska (ed.) . *Differentiation Patterns in Higher Plants*. Academic Press, Nueva York; pp. 53-67.
- Hamrick, J.L. 1989. Analysis of Genetic Structure in Plant Populations. En D.E. Soltis y P.S. Soltis (eds.). *Isozymes in Plant Biology*. Discorides press. Portland, Oregon; pp. 87-105.
- Hamrick, J.L. y M.J.W. Godt. (1990). Allozyme Diversity in Plant Species. En: A.H.D. Brown, M.T. Clegg, A.L. Kahler y B.S. Weir (eds.). *Plant Population Genetics, Breeding and Genetic Resources*. Sinauer Associates Inc. Publishers, Sunderland, Massachussets.
- Hamrick, J.L., D.A. Murawski y J.D. Nason. 1993. The Influence of Seed Dispersal Mechanisms on the Genetic Structure of Tropical Tree Populations. *Vegetatio* 107/108: 281-297.
- Hartl D.L. y A.G. Clark. 1989. *Principles of Population Genetics*. 2nd ed. Sinauer. Sunderland, Massachusetts.
- Hedrick D.W. 1983. *Genetics of Populations*. Science Books Int. Boston.

- Herrera, L.F. 1938. Recursos de los Estudios Botánicos en el Departamento de Cuzco. *Rev. Mus. Nac. Lima* 7:62-125.
- Howard, F.L. and Minnich R.A. 1989. The Introduction and Naturalization of *Schinus molle* (Pepper Tree) in Riverside, California. *Landscape and Urban Planning* 18:77-95.
- Jiménez, M.C. 1875. El Arbol del Perú. *La Naturaleza*, Tomo II; pp.217-221.
- Kimura, M. 1983. *The Neutral Theory of Molecular Evolution*. Cambridge University press, Cambridge.
- Kramer F.L. 1957. The Pepper Tree, *Schinus molle* L. *Econ. Bot.* 11 322-320.
- Lacy, C.R. 1992. The Effects of Inbreeding on Isolated Populations: Are Minimum Viable Population Sizes Predictable?. En: P.L. Fiedler y S.K. Jain (eds). *Conservation Biology. The Theory and Practice of Nature Conservation, Preservation and Management*. p.p. 277-296.
- Laikre, L. y N. Ryman. 1991. Inbreeding Depression in a Captive Wolf (*Canis lupus*) Population. *Conservation Biology*, 5:33-51.
- Linhart, J.B., K.B. Mitton y M.L. Davis. 1981. Genetic Variation in Space and Time in a Population of Ponderosa Pine. *Heredity*, 46:407-426.
- Loveless, M.D. y J. L. Hamrick. 1984. Ecological Determinants of Genetic Structure in Plant Populations. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 15:65-95.

- MacBride, J.F. 1951. Flora of Peru. *Field Museum of Natural History*; 1:252-255.
- McCommas, S.A. y Bryant E.H. 1990. Loss of Electrophoretic Variaton in Serially Bottlenecked Populations. *Heredity* 64:315-321.
- Molina-Freaner F. y S.K. Jain. 1992. Isozyme Variation in Californian and Turkish Populations of The Colonizing Species *Trifolium hirtum*. *Journal of Heredity* 83:423-430.
- Nei, M., Maruyama, T. y Chakraborty, R. 1975. The Bottleneck Effect and Genetic Variability in Populations. *Evolution* 29:1-10.
- Nei, M. 1978. Estimation of Average Heterozygosity and Genetic Distance from a Small Number of Individuals. *Genetics*, 89:583-590.
- Nei, M. 1987. *Molecular Evolutionary Genetics*. Columbia University Press, New York.
- Pérez, S. 1889. Los Frutos del árbol del Perú. *Boletín de la Sociedad Agrícola Mexicana* 323-325.
- Reyel, R.C. y J. León. 1990. Arboles y Arbustos Andinos para Agroforestería y Conservación de Suelos. *Proyecto Fao-Holanda/D y FF* (ed.). Industrial papiros, S.A. Lima, Perú; pp. 265-267.
- Roughgarden, J. 1979. *Theory of Population Genetics and Evolutionary Ecology: An Introduction*. Mcmillan Publishing Co., Inc. New York.

- Scorza, R. 1983. Ecology and Genetics of Exotics. En: *Exotic Plant Pests and North American Agriculture*. pp. 219-237.
- Sokal, R.R. y F.J. Rohlf. 1981. *Biometry*. W.H. Freeman, San Francisco.
- Stubber C.W., Wendel J.F., Goodman M.M. y J.S.C. Smith. 1988. *Technics and Scoring Procedures for Starch Gel Electrophoresis of Enzymes from Maize (Zea Mays L.)*. Technical Bulletin. North Carolina Agricultural Research Service. N. Carolina State University.
- Swofford, D.L. 1989. *PAUP 3.0: Phylogenetic Analysis Using Parsimony. Users Manual*. Illinois, Natural History Survey. Champaign.
- Warwick, S.I. 1990. Genetic Variation in Weeds- with Particular Reference to Canadian Agricultural Weeds. En: S. Kawano (ed). *Biological Approaches and Evolutionary Trends in Plants*. Academic Press; pp. 3-18.
- Weir, B.S. 1990. *Genetic Data Analysis. Methods for Discrete Population Genetic Data*. Sinauer Associates, Sunderland Massachusetts.
- Wendel, J.F. and Weeden, N.F. 1989. Visualization and Interpretation of Plant Isozymes. En: D.E. Soltis y P.S. Soltis. (eds). *Isozymes in Plant Biology*. Discorides Press, Portland, Oregon; pp. 5-45.

Workman, P.L. y J.D. Niswander. 1970. Population Studies on Southwestern Indian Tribes. II. Local Genetic Differentiation in the Papago. *Amer. J. Hum. Genet.* 22:24-29.

Yacovleff, E. y F.I. Herrera. 1935. El Mundo Vegetal de los Antiguos Peruanos. *Rev. Mus. Nac. Lima.* IV:31-35.

Zar, J.H. 1984. *Biostatistical Analysis*. Prentice-Hall, Inc. Englewood Cliffs, N.J.

9 APENDICE

9.1 Buffer de extracción de Mitton

Buffer de extracción (Garay, 1991), utilizado para la extracción de proteínas en cotiledones y hojas jóvenes de *Schinus molle*.

Dióxido de Germanio (Geo 2) agregar	0.038 g
38 ml. de agua y hervir.	
Dejar enfriar y posteriormente agregar:	
Acido dietilditio carbámico (DIECA)	0.137
Borato de sodio	0.55 g
Bisulfato de sodio	0.15 g
PVP 40	6 g
Acido ascórbico	4 g
Buffer de fosfato de potasio (KH_2PO_4)	
ph 7 0.16 M	8 ml

Al momento de moler el tejido se añade:

Dimetilsulfóxido (DMSO)	4 ml
2-phenoxyetanol	0.25 ml
mercaptoetanol	0.3 ml
DL-Dithiothreitol (DTT)	0.075 g

Preparación del buffer de fosfatos KH_2PO_4 ph 7 0.16 M

100 ml de fosfato de potasio (KH_2PO_4) 1M

59 ml de hidróxido de sodio 1M

LLevarlo a 1 litro con agua destilada.



BIBLIOTECA
INSTITUTO DE ECOLOGIA
UNAM

9.2 Recetas utilizadas para preparar los sistemas del buffer:

Los buffers de la charola y del gel utilizados fueron (Stuber et al. 1988): (Calculadas para preparar 1 litro).

Sistema C.

Buffer de la charola: Correr a 225 volts
 0.19 M Acido bórico 11.875 g
 0.04 M Hidróxido de litio 1.60 g
 Llevar a 1 litro con agua destilada
 Ajustar ph a 8.3 con hidróxido de litio

Buffer del gel:

9 partes del buffer de tris
 1 parte del buffer de charola

Preparación del buffer de Tris pH 8.3

0.05 M Trizma base 6.20 g
 0.007 M Acido cítrico 1.50 g
 Llevar a 1 litro con agua destilada

Sistema D

Buffer de charola: Correr a 30 mA.
 0.065 M L-Histidina 10.088
 0.007 M Acido cítrico 1.50 g
 Llevar a 1 litro con agua destilada
 Ajustara pH 6.5 con ácido cítrico

Buffer del Gel:

Diluir una parte del buffer de charola en 3 de agua destilada.

Las siguientes enzimas fueron ensayadas para el análisis electroforético, pero no se utilizaron ya que algunas presentaban poca o ninguna actividad y otras no eran consistentes en su lectura.

ACPH Fosfatasa ácida E.C.3.2.3.2

ACO Aconitasa E.C.4.2.1.3

ADH Alcohol deshidrogenasa E.C.1.1.1.1

ALD Aldolasa E.C.4.1.2.13

CAT Catalasa E.C.1.11.1.6

DIA Diaforasa E.C.1.6.99

EST Esterasa E.C.3.1.1.-

FUM Fumarasa E.C.4.2.1.2

G-6PD Glucosa-6-fosfato deshidrogenasa E.C.1.1.1.49

GDH Glutamato deshidrogenasa E.C.1.4.1.3

GPT Glutamato-pyruvato-transaminasa E.C.2.6.1.2

G3PDH Glicerol-3-fosfato deshidrogenasa E.C.1.1.1.8

HEX Hexokinasa E.C.2.7.1.1

MDH Malato deshidrogenasa E.C.1.1.1.37

ME Enzima málica E.C.1.1.1.40

MNR Menadion reductasa E.C.1.6.99.2

PEP Peptidasa E.C.3.4.13.11

PRX Peroxidasa E.C.1.11.1.7

6-PGD Fosfogluconato deshidrogenasa E.C.1.1.1.44

RUB Rubisco E.C.4.1.1.39

SDH Shikimato deshidrogenasa E.C.1.1.1.25

SOD Superóxido dismutasa E.C.1.15.1.1

TPI Triosa-fosfato isomerasa E.C.5.3.1.1

9.3 Enzimas montadas en cada sistema de buffer:

GOT Glutamato oxaloacetato transaminasa E.C.2.6.1.1

IDH Isocitrato deshidrogenasa E.C.1.1.1.41

LAP Leucil aminopeptidasa E.C.3.4.11.1

PGI Fosfoglucosa isomerasa E.C.5.3.1.9

PGM Fosfoglucosa-mutasa E.C.5.4.2.2

SISTEMA DE BUFFER

ENZIMAS

C (Litio)

LAP, PGI, GOT

D (Histidina)

IDH, PGM

9.4 Indicador en el corrimiento de los geles.

El colorante utilizado en el corrimiento de los geles fue un preparado de amido black con agua destilada, metanol y ácido acético en la proporción 5:5:1.

9.5 Recetas de tinción de las isoenzimas montadas.

GOT

Tris-HCl pH 7.0 0.2M	50 ml
Substrato GOT	5 ml
Pyridoxal 5 fosfato	0.004 g
Fast blue BB salt	0.150 g

Incubar en la oscuridad a 37 grados centígrados.

Substrato Got.

Acido L-aspártico 4 g.

ácido α -Ketoglutarico 2 g.

Agua destilada 100 ml.

Ajustar el pH con lentejas de hidróxido de sodio (NaOH)

IDH

1) Acido isocitrico 0.100 gts

Tris-HCl pH 8.0 0.2M 50 ml

b-nicotinamide adenine dinucleotide

phosphate (TPN) al 1% 1 ml

(3-(4,5-dimethylthiazol-1,2-y1)

-2,5 diphenyltetrazolium) (MTT) al 1% 1 ml

phenazine methosulfate (PMS) al 1% 0.2 ml

2) Agar 0.36 g

Tris-HCl pH 8.0 0.2 M 25 ml

Dejar hervir, posteriormente mezclar 1 y 2.

Incubar en oscuridad toda la noche a temperatura ambiente.

PGI

Tris-HCl pH 7.5 0.1M 50 ml

Glucosa 6-fosfato deshidrogenasa 4.5 ml

MgCl₂ 1 ml

b-nicotinamide adenine dinucleotide

phosphate (TPN) al 1% 1 ml

(3-(4,5-dimethylthiazol-1,2-y1)

-2,5 diphenyltetrazolium) (MTT) al 1% 1 ml

phenazine methosulfato (PMS) al 1% 1 ml

Incubar en la oscuridad a temperatura ambiente.

LAP

Tris-maleato pH 5.2 0.2M 50 ml

L-leucil, B-naftilamida HCl 2.5% 1 ml

Fast Black-K sal 0.100 g

Disolverlo en 5 ml de agua destilada

Incubar en oscuridad a 37 grados centígrados.

PGM

Tris-HCl pH 8.0 1M	5 ml
Agua destilada	50 ml
MgCl ₂	1 ml
Glucosa 6-fosfato deshidrogenasa	3 ml
b-nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (TPN) al 1%	1 ml
phenazine methosulfato (PMS) al 1%	0.3 ml
(3-(4,5-dimetthylthiazol-1,2-y1) -2,5 diphenyltetrazolium) (MTT) al 1%	1 ml

Incubar en la oscuridad a temperatura ambiente.