



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

Centro de Ecología UACP y P - CCH

EVOLUCION DEL SISTEMA REPRODUCTIVO EN EL FRIJOL *Phaseolus coccineus* L.

Carlos Fabián Vargas Mendoza

T E S I S

PARA OBTENER EL GRADO DE
DOCTOR EN ECOLOGIA

México, D. F.

Febrero, 1995



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.

RESUMEN

En este trabajo se estudiaron las fuerzas que gobiernan la evolución del sistema de cruce en el frijol "ayocote" *Phaseolus coccineus* L. para dos subespecies *P.c.ssp formosus* y *P.c.ssp griseus* en dos poblaciones naturales Bosque de Tlalpan, DF y en la Sierra de Manantlán, Jalisco, respectivamente. Para tener una visión mas completa de la evolución del sistema reproductivo se midió la fuerza de la selección natural sobre la tasa de entrecruzamiento y su efecto en la producción de semillas.

Se estimó la tasa de entrecruzamiento usando dos algoritmos Ritland y Jain (1981) y Shaw, et al. (1981). Los genotipos de las plantas progenitoras así como de la progenie se estimaron para siete enzimas usando electroforesis en gel de almidón (fosfatasa ácida [AcPh], malato deshidrogenasa [MDH], fosfoglucomutasa [PGM-1, PGM-3], glutamato oxalacetato transaminasa [GOT], diaforasa [DIA] y fosfoglucoisomerasa [PGI]). Los resultados obtenidos nos muestran que el frijol ayocote mantiene un sistema de cruce mixto (0.73 a 0.993) sin diferencias significativas entre años, salvo para la población de Tlalpan en 1992 que tuvo una tasa de entrecruzamiento estadísticamente mayor a los años de 1990 y 1991. Se estimó también, la tasa de entrecruzamiento por familia genética para 27 plantas individuales en Tlalpan y 20 en Manantlán. No se encontraron diferencias significativas en las tasas de entrecruzamiento para distintas familias genéticas en ninguna de las dos poblaciones. En Manantlán la repetibilidad de la tasa de entrecruzamiento fue significativa ($r=0.64$, $p<0.05$).

En cuanto a la depresión endogámica se refiere, no se detectaron diferencias significativas en la sobrevivencia de semillas crecidas en el invernadero para dos grupos de plantas que tenían tasas de entrecruzamiento (t) contrastantes ($t<1$ y $t=1$). La producción de frutos y semillas no fue estadísticamente diferente entre plantas con diferentes niveles de endogamia. Tampoco se encontraron niveles altos de depresión endogámica estimándola indirectamente a través de la tasa de autofecundación y el coeficiente de endogamia.

La selección natural sobre la tasa de entrecruzamiento se midió con el análisis de ruta (Wright, 1934), lo que permitió conocer los efectos directos e indirectos de t sobre la adecuación (medida como la producción de semillas). Los resultados mostraron que la tasa de entrecruzamiento no tiene un efecto directo importante, aunque indirectamente si afecta la producción de semillas en la población de Manantlán. Sin embargo, la correlación con otras variables como el tamaño de la planta y la densidad de flores causa una sobrestimación de este efecto.

Con los datos aquí presentados se puede concluir que no hay evidencia de que haya selección natural sobre la tasa de entrecruzamiento en la actualidad, lo cual no implica que no haya actuado en el pasado. Así, en estas dos poblaciones no se puede decir que exista un proceso de evolución hacia la entrecruza o a la autofecundación.

ABSTRACT

In this work I studied the evolutionary forces that govern the breeding system evolution in the scarlet runner bean *Phaseolus coccineus* L. for two subspecies *P.c.ssp formosus* and *P.c.ssp griseus* in two wild populations: Bosque de Tlalpan, D.F. and Sierra de Manantlán, Jalisco, respectively. In order to gain a better understanding about evolution of the breeding system, I measured the effect of natural selection on the outcrossing rate and its effect on the seed production.

I estimated the multilocus outcrossing rate using the maximum-likelihood method of Ritland and Jain (1981), and the moments method of Shaw, et al. (1981). The genotypes of seedling and adult plants were estimated using starch gel electrophoresis for seven allozymes (acid phosphatase [AcPh], malate dehydrogenase [MDH], phosphoglucomutase [PGM-1, PGM-3], glutamate oxalacetate transaminase [GOT], diaphorase [DIA] and phospho glucoisomerase [PGI]). The multilocus outcrossing rate in the populations ranged from 0.73 to 0.993, with little difference among years, except for Tlalpan in 1992 that had an outcrossing rate higher than 1990 and 1991. I estimated the family outcrossing rate for 27 plants in Tlalpan and 20 in Manantlán. No differences were found in the outcrossing rates, for each year, for different families in these populations. In the Manantlán population, the repeatability of this trait from year to year was significant ($r=0.64$, $p<0.05$).

Regarding inbreeding depression, no significant differences were found in the survival of seedlings grown in the greenhouse, from two plant groups with $t<1$ and $t=1$. Among plants with different inbreeding levels, the fruit and seed production was not statistically different. The levels of inbreeding depression (which were indirectly estimated through the self-fertilization rate and inbreeding coefficient) were not high in these two populations, either.

I estimated natural selection through path analysis (Wright, 1934), which allowed me to estimate the direct and indirect effects of the outcrossing rate on seed production. The outcrossing rate did not have an important direct effect on seed production, although it indirectly affected the seed production of the Manantlán population. However, the positive correlation of outcrossing rate and seed production with variables, such as plant size and density of flowers, causes an overestimation of this effect.

From my data I can conclude that there is not evidence that natural selection is acting, in the present time, on the outcrossing rate, which does not mean that natural selection did not act in the past. For this reason, I can not say that in these two populations the evolution of the mating system is changing towards self or outcrossing.

ÍNDICE

	Página
Presentación	1
Capítulo I	
Introducción general	4
Objetivos	18
Capítulo II	
Especie y sitio de estudio	19
Capítulo III	
Tasa de entrecruzamiento	28
Capítulo IV	
Depresión endogámica	54
Capítulo V	
Análisis de selección	72
Capítulo VI	
Discusión y conclusiones generales	96

PRESENTACIÓN

Desde hace más de un siglo se han estudiado los aspectos de la reproducción en plantas, con hipótesis como la de Darwin-Knight que suponen que es desfavorable perpetuar la autopolinización y por ellos todas las plantas la evitan, hasta posiciones como la de Ronald Fisher que plantea la selección a favor de los genes que codifican para la autocruza. Al hablar de la evolución del sistemas reproductivos, se ha visto que existe un doble componente, ya que no solamente se debe de pensar en el efecto que los sistemas reproductivos tienen en la estructura genética de una población, sino que además es necesario considerar si el surgimiento, cambio y mantenimiento del sistema de cruza es el producto de la selección natural u otras fuerzas como la deriva génica, el ligamiento genético, el desarrollo ontogenético, etc. Por ejemplo en la enredadera *Ipomoea purpurea* la cual tiene un polimorfismo en el color de la flor, el sistema de cruza es mixto y se ha mantenido por un proceso de selección que depende de las frecuencias de los genotipos que codifican para el color de las flores (pigmentadas y blancas) y no solamente por el efecto de producir hijos por autofecundación o entrecruza.

En esta tesis se pretende conocer algunos de los procesos que gobiernan la microevolución del sistema reproductivo (selección natural, endogamia biparental y asociación de caracteres morfológicos con el sistema de cruza) de *Phaseolus coccineus*, dado que el frijol ayocote presenta un sistema mixto de entrecruza (Escalante et al, 1994) por lo que es posible que una planta produzca hijos tanto con polen de autofecundación como por polen de entrecruza. Con esto se tiene un sistema de trabajo donde pueden ser exploradas las diferencias al producir descendencia endogámica y no endogámica para una planta individual, como para distintos individuos en una misma población y las consecuencias de esto.

Este trabajo se dividirá en 6 capítulos que contienen lo siguiente:

En el capítulo I se presenta de forma resumida cinco modelos sobre la evolución de la autofecundación y la entrecruza en plantas, mostrando los parámetros y supuestos en que

se basan los modelos, para tener un marco teórico que explique como ocurre la evolución del sistema de cruce. En el capítulo II se describe la especie de estudio (*P. coccineus*), así como las localidades muestreadas (Bosque de Tlalpan, D.F. y Sierra de Manantlán, Jal). El objetivo del capítulo III es mostrar la variabilidad del sistema reproductivo en una población, el componente de heredabilidad en la tasa de entrecruzamiento y la relación que guardan los niveles de endogamia encontrados (F) con la tasa de entrecruzamiento. El capítulo IV muestra cuatro estimaciones indirectas de la depresión endogámica. Estas estimaciones se realizaron 1) con datos de la estructura genética (niveles de heterocigosidad), 2) con el coeficiente de endogamia y la tasa de entrecruzamiento, 3) con datos del crecimiento de semilla en el invernadero provenientes de dos estrategias de cruce (sin autofecundación y plantas que permiten en algún grado la autogamia) y 4) se muestran datos del efecto de la endogamia por familia genética sobre la producción de frutos y semillas.

Para tener un análisis de selección natural fenotípica en caracteres correlacionados es necesario conocer la estructura de covariación que tienen un grupo de variables y su relación directa e indirecta sobre las variables que tienen un efecto demográfico. Por esta razón en el capítulo V se usó el análisis de rutas para ver el efecto de la tasa de entrecruzamiento en la producción de semillas, considerando que tiene una estructura de covariación con un grupo de variables (como la densidad, el tamaño de la planta madre, el porcentaje de loci heterocigos, etc) que afectan el número de semillas maduras de una planta.

Finalmente en el capítulo VI se da una discusión general sobre la evolución del sistema de cruce en el frijol ayocote y las conclusiones que se tuvieron en esta investigación.

RECONOCIMIENTOS

Quisiera agradecer a todas las personas que han colaborado para que este trabajo

pudiera realizarse. En primer lugar a todos los miembros de mi familia y especialmente a mi padre y madre. Igualmente el apoyo y cariño de Sachiko en todos estos años ha sido muy importante para mi.

Quisiera agradecer también, a mi director de tesis Daniel Piñero, a los sinodales Ken Oyama, Glenn Furnier, Juan Nuñez-Farfan, Alberto Abreu, Elena Alvarez-Buylla, Luis Eguiarte y Daniel Piñero y a las personas que desinteresadamente leyeron mi trabajo y cuyas observaciones fueron muy valiosas, tal es el caso de Cesar Domínguez, Francisco Molina, y Miguel Franco.

En el trabajo de campo quisiera agradecer a los miembros del Laboratorio Natural "Las Joyas" en Manantlán (U de G) por los permisos de colecta y estancia en la estación. A las personas que me ayudaron en el trabajo de campo: Sachiko Chiriguchi, Javier Hernández, Víctor Parra, Eduardo Morales y Pedro Díaz Maeda. A Nidia Pérez y Adriana Garay por enseñarme la técnica de electroforesis. A Gerardo y Ana por su asesoría con las isoenzimas del frijol. Así como a todos los miembros del laboratorio de Genética del Centro de Ecología de la UNAM. A Glenn y Ella Vázquez por la ayuda en la traducción del resumen.

A los cuates Sachi, El Compa, El Cheneque (y El Ahijado), La miss Laura, El Mango, Ponci, El Fresa, Rubén, Tere (Julia), Ruth y Ben (y todos los que se me olvidan ahorita) a ellos gracias también.

Esta tesis fue apoyada con una beca de postgrado por el CONACyT (1988-1993) y por el Centro de Ecología. Así mismo recibo un apoyo del Sistema Nacional de Investigadores desde 1994. La ayuda económica para las colectas y reactivos provino del CONACyT (proyecto 0656-N9109), de la DGAPA a través del Postgrado del Centro de Ecología y con el presupuesto operativo del Laboratorio de Genética y Evolución donde se lleva a cabo un proyecto con el frijol "ayocote" desde hace 10 años.

CAPITULO I

INTRODUCCIÓN GENERAL

I.1. Modelos de la evolución de los sistemas reproductivos	4
I.1.1. Selección automática	5
I.1.2. Selección disruptiva.....	5
I.1.3. Acción de masas.....	7
I.1.4. Ligamiento genético	8
I.1.5. Atracción de polinizadores.....	11
I.2. Trabajos sobre la evolución de los sistemas reproductivos.....	13
Literatura citada.....	16

INTRODUCCIÓN GENERAL

El sistema reproductivo de una planta se define como el esquema o tipo de apareamientos que tiene un organismo que se reproduce sexualmente (Hedrick, 1987), es decir, la estrategia que tiene una planta para dejar descendencia en las generaciones siguientes. En las plantas existe todo un continuo de sistemas de cruce, desde aquellas en que sus apareamientos son principalmente por autofecundación hasta las que se entrecruzan totalmente, pasando por un continuo de posibilidades intermedias (Jain, 1976; Jarne y Charlesworth, 1993). Brown (1990) propuso una clasificación de los sistemas de cruce con base en la proporción de hijos que una planta madre produce en eventos de autofecundación (s) o de una entrecruza (t), estos sistemas son: predominantemente de autocruza ($t < 0.10$), predominantemente de entrecruza ($t > 0.95$), sistema mixto ($0.10 > t < 0.95$), apomixis obligada o facultativa y autofecundación haploide o intragametofítica.

I.1. Modelos de la evolución de los sistemas reproductivos.

Dado que el sistema de cruce está definido en la estrategia de vida de un organismo, es razonable pensar que tenga una proporción importante de varianza genética aditiva y esté sujeto a la acción de la selección natural. Por esta razón se han desarrollado una serie de modelos que explican la evolución y el mantenimiento de estos sistemas de cruce en las poblaciones. En este trabajo se revisarán algunos modelos que tratan la evolución de la autofecundación en poblaciones donde la entrecruza es la condición inicial, dicha revisión comprende dos trabajos que pueden ser considerados como clásicos dentro de la literatura de la evolución de los sistemas reproductivos (Fisher, 1941; Lande y Schemske, 1985), dos trabajos más que presentan una versión crítica a la importancia de la depresión endogámica en la evolución de los sistemas reproductivos (Holsinger, 1991; Uyenoyama y Waller, 1991) y por último un trabajo aún no publicado, sobre la importancia de los recursos asignados a la atracción de polen en la evolución del sistema de cruce (Yahara y Sakai, manuscrito) (Tabla I.1).

Tabla I.1 Algunos modelos sobre la evolución de los sistemas de crucea.

Sistema de crucea	Modelo	Autores
Autofecundación $t^* < 0.1$	Selección Automática	Fisher (1941)
	Selección Disruptiva	Lande y Schemske (1985)
Entrecruza $t > 0.95$	Selección Disruptiva	Lande y Schemske (1985)
Mixto $0.1 > t < 0.95$	Acción de Masas	Holsinger (1991)
	Ligamiento Genético	Uyenoyama y Waller (1991)
	Asignación de Recursos	Yahara y Sakai (manuscrito)

* t es la tasa de entrecruzamiento poblacional

I.1.1 Modelo de la selección automática (Fisher, 1941).

El primer modelo sobre la evolución de los sistemas reproductivos fue el de Fisher (1941), en el establece que si aparece un mutante que permita la autofecundación en una población que se entrecruza y se cumple que no haya descuento de polen (disminución de la cantidad de polen en las flores que se autofecundan o no abren) y no haya depresión endogámica, el mutante tiene un ventaja automática ya que aporta dos genes en la autofecundación, uno como hembra (en su propio óvulo) y otro como macho (en su polen), además de uno extra que manda en el polen que fecunda otra planta. En comparación con los residentes que solo aportan en el polen de entrecruza y como óvulo al recibir polen externo. El resultado es que se fija el gen de la autocruza.

Este modelo tiene un papel histórico importante ya que demuestra que la autofecundación tiene una ventaja sobre la entrecruza (costo de la meiosis) y que por lo tanto, no debería ser tan rara en la naturaleza.

I.1.2. Modelo de la selección disruptiva (Lande y Schemske, 1985).

En este modelo se considera a la depresión endogámica como una fuerza importante que

contrarresta la selección automática propuesta por Fisher (1941). Esto es, que los hijos de un evento de autofecundación pueden ser poco viables o menos competitivos que los hijos de entrecruza, por la aparición de genes deletéreos en los homócigos (dominancia parcial) o porque el genotipo con mayor adecuación es el heterócigo (sobredominancia).

Lande y Schemske (1985) definen que si la adecuación promedio (W) de un individuo que se autofecunda con una tasa σ , en una población que se autofecunda a una tasa promedio η y donde la adecuación promedio de los hijos de autocruza es w_a y de los de entrecruza w_e , tendremos que:

$$W = \sigma w_a + \frac{1}{2}(1 - \sigma)w_e + \frac{1}{2}(1 - \eta)w_e$$

En esta ecuación, los primeros dos términos son la ganancia de adecuación que obtiene una planta por la función femenina (el primer término cuando se autofecunda y el segundo cuando recibe polen de entrecruza). El tercer término es la ganancia en adecuación obtenida en la función masculina, es decir, por el polen que se exporta para entrecruzarse.

Si se desea saber el incremento de la adecuación promedio cuando aumenta la tasa de autofecundación σ , la ecuación anterior se deriva con respecto a este parámetro

$$\frac{\partial W}{\partial \sigma} = w_a - \frac{1}{2}w_e$$

El análisis de esta ecuación se muestra en la Tabla I.2 y la depresión endogámica δ se calculó haciendo una resta del cociente de las adecuaciones.

Tabla I.2 Evolución del sistema reproductivo según el modelo de Lande y Schemske(1985). En esta tabla se muestran los puntos de equilibrio que se obtienen a partir de los valores de depresión endogámica (δ) y la derivada parcial de W ($\partial W/\partial \sigma$).

Cociente adecuaciones	Derivada de W	Depr. Endogámica	Estado final
$w_a/w_e > 1/2$	$\partial W/\partial \sigma > 0$	$\delta < 1/2$	Fijación de Autocruza
$w_a/w_e = 1/2$	$\partial W/\partial \sigma = 0$	$\delta = 1/2$	Sistema Mixto
$w_a/w_e < 1/2$	$\partial W/\partial \sigma < 0$	$\delta > 1/2$	Fijación de Entrecruza

Esta tabla nos indica que cuando $\delta > 1/2$, el costo de la endogamia es muy alto y por lo tanto la selección natural favorecerá la entrecruza. Por el contrario, si $\delta < 1/2$ la autofecundación tiene ventaja y debe fijarse en la población. En esta ecuación hay solo un tipo de equilibrio (inestable) cuando $\delta = 1/2$ donde el sistema mixto sería el preponderante en la población, pero con cualquier cambio se tendería a alguno de los otros dos resultados.

Es importante este modelo ya que relajando el supuesto de que los hijos de autocruza son igualmente viables que los hijos de entrecruzamiento del modelo de Fisher (1941), se obtienen dos puntos de equilibrio estable en $t=0$ ó $t=1$.

I.1.3. Modelo de acción de masas (Holsinger 1991)

Holsinger (1988, 1991) consideró la competencia del polen en los estigmas para desarrollar un modelo de la evolución de los sistemas reproductivos donde la posibilidad de entrecruzamiento depende de la producción de polen y de la habilidad de obtener este polen para la entrecruza y autofecundación.

Este modelo contempla la interacción detallada entre el estigma y los granos de polen. Holsinger (1991) le llamó modelo de acción de masas y en el siguiente esquema se muestra como funciona (Figura I.1)

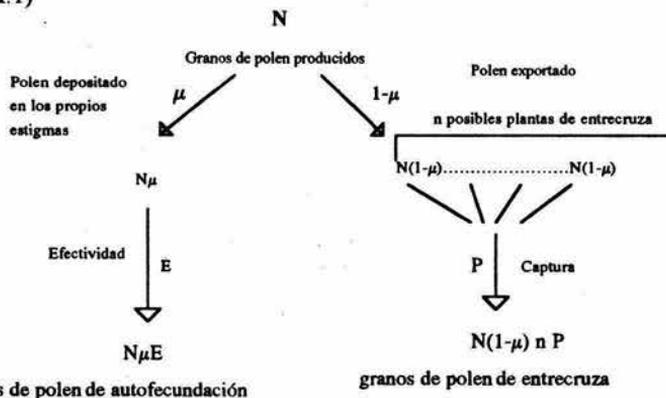


Figura I.1. Modelo de acción de masas de Holsinger (1991), en donde se tienen dos parámetros (E) la efectividad de los granos de polen que autofecundan un óvulo y (P) la efectividad de capturar polen de entrecruza. El cociente E/P nos da la velocidad en que la autofecundación se podría fijar en la población.

La expresión algebraica para la tasa de autofecundación es:

$$S = \frac{N\mu E}{(N\mu E + N(1-\mu)nP)} = \frac{\mu}{\left(\mu + (1-\mu)n\left(\frac{E}{P}\right)\right)}$$

La tasa de autofecundación (S) se estima como el número de granos de autofecundación entre todos los granos de polen capturados (de entre y autocruza) y el cociente E/P (la eficiencia del polen de autofecundación comparado con el de entrecruzamiento) es una suposición de acción de masas dado que la tasa de autofecundación depende de la proporción o frecuencia de sus componentes (Holsinger 1991).

Así, en las plantas con sistema de cruce mixto, la tasa de entrecruza depende de la proporción de polen de autocruza y entrecruza que hay en los estigmas, por esto, el éxito reproductivo está en función tanto de la frecuencia y viabilidad de los genotipos (de auto y entrecruza) como de la densidad de estos, ya que en poblaciones mas densas donde la probabilidad de remover polen es mayor será mas alta la probabilidad de entrecruzase. Este modelo lleva entonces a predecir que la evolución de los sistemas reproductivos depende de las frecuencias de los genotipos, de su viabilidad (depresión endogámica) y de la densidad de individuos reproductivos.

Este modelo es importante ya que incluye la competencia del polen en los estigmas, que no consideraron Fisher(1941) y Lande y Schemske (1985). Con este nuevo supuesto la densidad de individuos reproductivos es un factor a tomar en cuenta para predecir la evolución de los sistemas reproductivos.

I.1.4. Modelo del ligamiento genético (Uyenoyama y Waller, 1991).

Uyenoyama y Waller (1991) consideran que la depresión endogámica sola no determina cuando puede evolucionar la autocruza. Ellos mencionan que la adecuación relativa de los genotipos y el ligamiento con los genes que codifican para el sistema de cruce afecta la evolución

de los sistemas reproductivos. Así, tenemos un gen que codifica para el sistema de cruce de la siguiente forma:

Sistema de cruce	Genotipo
Entrecruzamiento	AA o Aa
Autofecundación	aa

En loci neutrales (de poblaciones endogámicas) se presentan mas dobles homócigos o dobles heterócigos que lo esperado para genes no ligados (Hartl y Clark, 1989). El genotipo homócigo en este locus se asocia con el homócigo en el locus del sistema reproductivo que promueve la autocruza. Si un mutante modificador que promueve la autocruza se asocia con genotipos de baja adecuación (Figura 1.2), esta asociación puede ser suficiente para evitar que se incremente su frecuencia en población naturales (Uyenoyama y Waller, 1991).

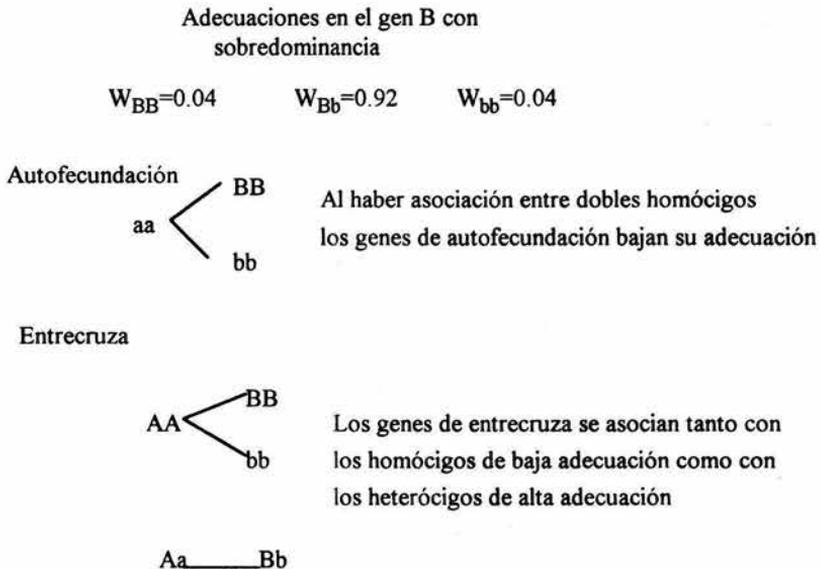


Figura 1.2. Asociación de los genes de autofecundación con genes de baja viabilidad.

Consideremos una población donde han existido por varias generaciones plantas de autocruza y entrecruza, las plantas de autofecundación serán mas homócigas por el efecto de la endogamia

acumulada que las de entrecruza y a su vez las plantas que se entrecruzan serán mas heterócigas. Ahora bien, cuando comparamos la adecuación de los hijos de entrecruza y autocruza, si hay ventaja del heterócigo los hijos de entrecruza van a tener mas loci heterócigos y mayor adecuación que los hijos de autocruza. Los genotipos que se autofecundan producirán hijos menos adecuados.

Por otro lado, si hay mutación recurrente de alelos deletéreos, el genotipo que se entrecruza puede llevar varios recesivos que el genotipo que se autofecunda no tiene, entonces, en este caso los hijos de entrecruza tienen menor adecuación que los hijos de autofecundación, que probablemente ya hayan "purgado" dichos alelos. Nuevamente tenemos una asociación de loci de autofecundación con los de alta viabilidad (Charlesworth y Charlesworth, 1987; Figura I.3).

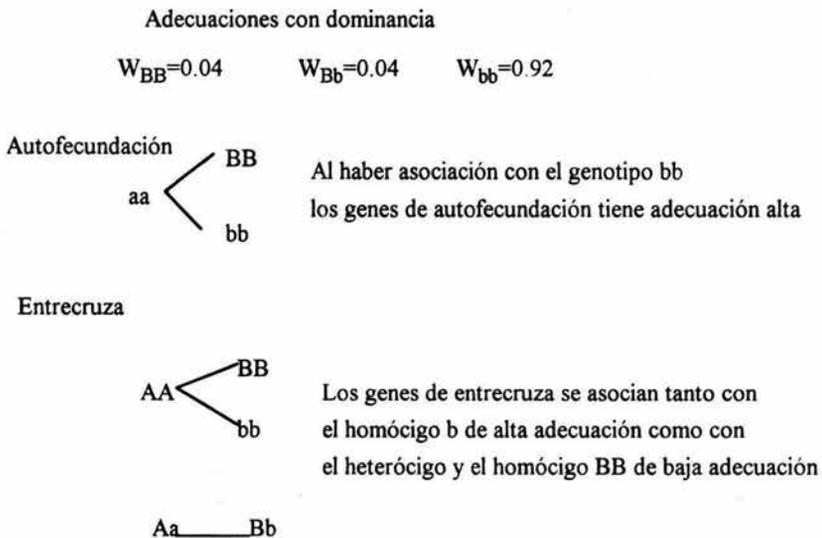


Figura 1.3. Asociación de los genes de autofecundación con genes de alta viabilidad.

En este caso pueden coexistir la autofecundación y la entrecruza en una población (sistema de cruza mixto en una población) ya que los genotipos AA y aa se asociaron a bb de alta

adecuación.

Usualmente se define a la depresión endogámica sin considerar el genotipo en loci que causan diferencias entre individuos en su tasa de entrecruza. Esta depende únicamente de la producción relativa de hijos de endogamia y no endogamia. Pero la asociación se desarrolla inmediatamente entre los loci de viabilidad y los que causan las diferencias en el sistema de cruza. El efecto de esta asociación puede ser tan importante como la depresión endogámica misma y por lo tanto este no es el único factor que debe ser considerado para la evolución de los sistemas reproductivos.

Las predicciones de este modelo son importantes, aunque no resulta fácil medir el ligamiento genético entre los loci de adecuación y del sistema de cruza. Sin embargo, la mayor contribución a mi parecer, es que el ligamiento genético puede contrarrestar la fuerza de la selección natural (expresada en la depresión endogámica), dado que los genes del sistema de cruza no solamente están sujetos a selección por ellos mismos, sino que (por el ligamiento) se pueden favorecer sistemas reproductivos que se heredan juntos en una planta aún sin considerar la adecuación de los hijos de entre y autocruza.

I.1.5. Modelo de la atracción de polinizadores (Yahara y Sakai)

Yahara y Sakai (manuscrito) desarrollaron un modelo que muestra los compromisos en la asignación de recursos a las funciones femenina y masculina, a la atracción de polinizadores y captura de polen (producción de óvulos y polen, forma y color de los pétalos, producción de néctar y estigmas) para conocer como la tasa de entrecruzamiento cambia, al cambiar dichas asignaciones. Esto es que hay F óvulos que son fertilizados por una proporción b de granos de polen j acarreados por un polinizador que fue atraído por una planta que asignó $V(A)$ recursos a la atracción de los polinizadores (si la asignación a la atracción es cero la t también, sea ∞ cero).

$$t = \frac{bjV(A)}{F}$$

En las plantas polinizadas por viento la tasa de entrecruzamiento (t) se expresa como la fracción F de óvulos que es fertilizado por una porción b de granos de polen M_1 que se capturaron dado que la planta con funciones femeninas asignó $E(S)$ recursos al estigma.

$$t = \frac{bE(S)M_1}{F}$$

Cuando el polen de los residentes casi no es removido la estrategia evolutivamente estable (EEE) para la inversión en pétalos y néctar (A^*), polen M^* y óvulos F^* es:

$$A^* = \sqrt{\frac{gh[bcjd - c_m k(1-d)]}{(1-d)}} - h \quad M^* = \frac{bcj}{2c_m(1-d)V(A^*)} \quad F^* = \frac{1}{c_f(R - A^* - c_m M^*)}$$

donde g es una medida de la habilidad del polinizador, h la función de ganancia del polinizador, b la proporción de óvulos fecundados, c_f el costo de producir un óvulo, j los granos de polen acarreados por un polinizador, d es la depresión endogámica y c_m el costo de producir un grano de polen.

Yahara y Sakai (manuscrito) presentan gráficamente la evolución del sistema para diferentes niveles de inversión de recursos y la depresión endogámica en plantas polinizadas por animales (Figura I.4).

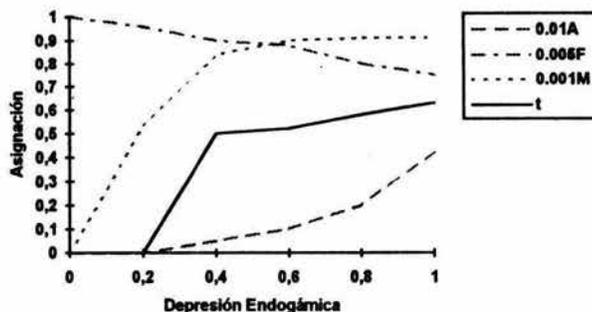


Figura I.4 Yahara y Sakai muestran las tasa de entrecruzamiento que son evolutivamente estables con varios niveles de depresión endogámica. De los datos en el recuadro A es la asignación a la atracción de polinizadores, F es la asignación a la función femenina y M a la masculina, los valores son factores de escala para la gráfica. En el caso de (t), el eje "Y" no es la asignación, sino la tasa de entrecruzamiento estable.

Aquí, se ve que existen muchos valores de t evolutivamente estables entre el rango de 0.3 a 0.9 con diferentes niveles de depresión endogámica. También se ve que la inversión a néctar y pétalos es mayor al aumentar la depresión endogámica y por el contrario la inversión a la función materna disminuye.

En el caso de las plantas polinizadas por viento se tiene que si la depresión endogámica es mayor a 0.5 el resultado final en el sistema reproductivo es la entrecruza. Si por el contrario la depresión endogámica es grande ($d \leq 1/2$) entonces la inversión a estigmas es nula y la autofecundación evoluciona.

En los modelos de Yahara y Sakai (manuscrito) se tiene entonces que en las plantas polinizadas por viento la autofecundación evoluciona cuando la depresión endogámica es menor a 0.5. En el caso de las plantas polinizadas por animales, los modelos predicen que los sistemas mixtos son evolutivamente estables dependiendo de las asignaciones a las funciones femeninas y masculinas.

I.2. Trabajos sobre la evolución de los sistemas reproductivos.

Existen pocos trabajos donde se haya tratado de probar el modelo descrito por Fisher (1941)

y en donde se muestre la importancia del descuento de polen en la evolución de la autofecundación. Ritland (1991) midió en una zona de formación de híbridos el descuento de polen para tres especies del género *Mimulus* con tasas de entrecruza contrastantes, sus resultados muestran que el descuento de polen en todos los casos es muy alto, ya que en estas especies existen plantas con flores cleistogámicas, por lo que las flores que se autofecundan alcanzan a polinizarse con poco polen. En otro caso, Rausher et al., (1993) mostraron que en *Ipomoea purpurea* no hay descuento de polen para las flores que se autocruzan y por lo tanto, pueden aumentar en frecuencia.

Uno de los trabajos mas interesantes que midieron la depresión endogámica es el de Dudash (1990) con *Sabatia angularis*. Este estudio se realizó en tres ambientes distintos y en cada uno de estos se polinizaron manualmente midiendo a la progenie resultante de cada tratamiento su adecuación promedio. Los resultados encontrados muestran que entre la autopolinización y la entrecruza lejana (con individuos a mas de 85 m de distancia) siempre hubo diferencias significativas en la adecuación para todos los ambientes. Sin embargo, con la entrecruza cercana (con individuos donadores de polen a menos de 5 m de distancia) no hubo diferencias (Dudash 1990). Este resultado es importante, ya que la entrecruza a poca distancia ocurre seguramente con individuos emparentados y la depresión endogámica surge no por la autofecundación de una planta sino por la endogamia biparental. Finalmente en el contexto de la evolución de los sistemas de cruza, Dudash (1990) concluye que la protándria exhibida en esta especie es suficiente para mantener la carga genética que ha mantenido el entrecruzamiento en estas poblaciones.

Holsinger (1991) estimó el parámetro de acción de masas en dos poblaciones naturales de *Senecio vulgaris*, donde hay un dimorfismo en las flores de una cabezuela, dichas flores tienen una tasa de entrecruzamiento distinta (el morfo radiado se autopoliniza mas que el no radiado). Holsinger (1991) estimó el número de granos de polen que una planta adquiere de entrecruza comparado con los de autofecundación (morfo radiado y no radiado). El resultado obtenido fue que en las dos poblaciones el morfo de entrecruza se debe de fijar, debido a que en general hay

una densidad alta y por lo tanto hay mas individuos potenciales para la entrecruza. En otro estudio con *Scabiosa columbaria* (van Treuren et al., 1993), se obtuvo que la densidad de individuos reproductivos alteraba la tasa de entrecruzamiento, siendo mayor la t a mayor densidad, ésta es una especie polinizada por animales (abejorros) lo cual hace posible suponer que la densidad modifique la probabilidad de entrecruzarse como propone Holsinger (1991).

Este es el sustento teórico sobre la forma en la que operan los agentes evolutivos en los sistemas de cruza. En este trabajo se tomo al modelo de Lande y Schemske como el modelo que predeciría la evolución del sistema reproductivo del frijol ayocote, ya que según lo reportado por Escalante et al., (1994) esta especie presenta una tasa de entrecruzamiento mixta y con gran variabilidad en la t para cada familia (siendo mas representados los valores entre 0.8 a 1), de tal forma que tomando medidas de la depresión endogámica se podría conocer los cambios del sistema mixto hacia la entrecruza. Sin embargo, se tomaron otras medidas que puede variar los resultados predichos por este modelo como la densidad, la heterosis, la forma de la flores etc., que alteran la conocida relación de la depresión endogámica y la evolución de la entrecruza.

Literatura citada

- Brown, A.H.D. 1990. Genetic characterization of plant mating system. En A.H.D.Brown, M.T.Clegg, A.L.Kahler y B.S. Weir (eds.). Plant Population Genetics, Breeding, and Genetic Resources. Sinauer. 135-142 p.
- Charlesworth, D., y B. Charlesworth. 1987. Inbreeding depression and its evolutionary consequences. Annu.Rev.Ecol.Syst 18:237- 268.
- Dudash, M. A. 1990. Relative fitness of selfed and outcrossed progeny in a self-compatible, protandrous species, *Sabatia angularis* L. (Gentianaceae): A comparison in three environments. Evolution 44:1129-1139.
- Fisher, R. 1941 . Average excess and average effect of a gene substitution. Ann. of Eugenics 11: 53-63.
- Hartl, D.L. y A.G. Clark. 1989. Principles of populations genetics. 2ed. Sinauer. 350 p.
- Hedrick, P.W. 1984. Genetics of populations. Science Books Int.. Boston. 390 p.
- Holsinger, K.E. 1988. Inbreeding depression doesn't matter: the genetic basis of mating system evolution. Evolution 42:1235-1244.
- Holsinger, K.E., 1991. Mass-action models of plant mating systems: the evolutionary stability of mixed mating systems. Am.Natur. 138:606-622.
- Jain, S.K. 1976. Evolution of inbreeding in plants. Annu.Rev.Ecol.Syst. 7:469-495.
- Jarne, P. y D. Charlesworth. 1993. The evolution of the selfing rate in functionally hermaphrodite plants and animals. Annu.Rev.Ecol.Syst 24:441-466.
- Lande, R. y D.W. Schemske. 1985 .The evolution of self-fertilization and inbreeding depression in plants. I.Genetic model. Evolution 39: 24-40.
- Rausher, M.D., D. Agustine y A. Van der Kooi. 1993. Absence of pollen discounting in a genotype of *Ipomoea purpure* exhibiting increased selfing. Evolution 47:1688-1695.
- Ritland, K. 1991. A genetic approach to measuring pollen discounting in natural plant population. Am. Natur. 138:1049-1054.
- Uyenoyama, M.K. y D.M. Waller. 1991. Coevolution of self-fertilization and inbreeding depression.I. Mutation-selection balance at one and two loci.. Theor. Pop. Biology 40:14-46.

- van Treuren, R., R. Bijlsma, N.J. Ouborg y W. van Delden. 1993. The significance of genetic erosion in the process of extinction. IV. Inbreeding depression and heterosis effects caused by selfing and outcrossing in *Scabiosa columbaris*. Evolution 47:1669-1680.

-Yahara, T. y S. Sakai. (manuscrito). Why mixed mating system are common in animal-pollinated plants?: an answer from resource allocation models.

OBJETIVOS

1 Objetivo general.....	18
2. Objetivos particulares.....	18

OBJETIVOS

1. Objetivo general

El objetivo general de este trabajo es el conocer las fuerzas que gobiernan la evolución del sistema de cruce en el frijol "ayocote" *Phaseolus coccineus* L. en dos poblaciones silvestres. Se tomo como base la siguiente hipótesis de trabajo:

Si existe una gran variabilidad genética en la tasa de entrecruzamiento dentro de una población que hagan tener diferente éxito en la fecundidad entre individuos, entonces en esta especie debe de operar la selección natural modificando la tasa de entrecruzamiento hacia la entrecruza o autofecundación dependiendo de la fuerza de la depresión endogámica.

2. Objetivos particulares

En este trabajo se plantearon los siguientes objetivos particulares:

- La descripción de las fluctuaciones de la tasa de entrecruzamiento en dos años en Manantlán y tres años en Tlalpan.
- La descripción de la variabilidad de la tasa de entrecruzamiento por familia, por población para cada año.
- La estimación de la repetibilidad de la tasa de entrecruzamiento para cada población.
- La descripción de las presiones de selección que actúan sobre la tasa de entrecruzamiento y la producción de semillas maduras.
- La estimación de la depresión endogámica con cuatro métodos indirectos.
- La estimación de diferentes factores causales, como el largo de la flor y de la quilla, el tamaño y la heterocigosidad de la planta madre, la densidad de individuos reproductivos, el número de flores y botones, así como la tasa de entrecruzamiento sobre la producción de frutos y semillas en una estructura compleja de covariación

CAPITULO II

ESPECIE Y SITIO DE ESTUDIO

II.1. Descripción de la especie de estudio	19
II.2. Biología floral	20
II.3. Variabilidad genética	20
II.4. Sistema reproductivo.....	21
II.4.1. Tasa de entrecruzamiento	22
II.5. Clasificación taxonómica	22
II.6. Sitios de colecta	
II.6.1. Bosque de Tlalpan.....	23
II.6.2. Sierra de Manantlán	24
Literatura Citada.....	26

ESPECIE Y SITIO DE ESTUDIO

II.1 Descripción de la especie de estudio.

El frijol ayocote *Phaseolus coccineus* es una enredadera perenne de la familia de las leguminosas y de la subfamilia papilionoidea. La planta tiene un buen sistema radicular que sirve como estructura de perenación donde se encuentran las yemas de crecimiento para los tallos y hojas de las siguientes temporadas. La raíz puede variar de tamaño dependiendo de las condiciones ambientales y de la edad de la planta (Fernández, 1979). El tallo es en general cilíndrico y en épocas frías se seca para volver a crecer en verano. Se ha visto que el tamaño de la parte aérea tiene una buena correlación con el tamaño de la raíz (Fernández, 1979). Las hojas son compuestas, ovadas y de tamaño variable dependiendo de la posición en el tallo, así como de la disponibilidad de agua (Delgado, 1988).

Las flores miden aproximadamente 2.5 cm y se agrupan en fascículos biflorales en pseudoaquenios elongados de unos 20 cm de largo. Las bracteolas son variables en forma, pubescencia y longitud pero siempre están presentes. La corola presenta un polimorfismo en el color tanto en cultivares como en poblaciones silvestres y el estigma puede ser introrso, apical o extrorso, característica que se encuentra codificada genéticamente (Manshardt y Basset, 1984; Delgado, 1988). Los frutos son legumbres lineal-oblongadas a oblongadas con unas 4 a 9 semillas por fruto. Según lo reportado por Búrquez y Sarukhán (1980) existen diferencias en el número de granos de polen y óvulos que presenta una planta en función de la altura sobre el nivel del mar.

II.2 Biología floral

Los visitantes de las flores de *Phaseolus coccineus* reportados en Búrquez y Sarukhán (1980) son los siguientes (Tabla II.1):

Tabla II.1 Visitantes florales de *Phaseolus coccineus* L. según lo reportado por Búrquez y Sarukhán (1980)

	Familia	Especie
INSECTA	Thripidae	Thrips (nombre común)
	Lepidoptera	<i>Phoebis sennae</i>
		<i>Dione moneta poeyi</i>
	Coleoptera	<i>Lytta sp.</i>
	Diptera	<i>Bombylus sp.</i>
		<i>Mochlosoma sp.</i>
	Hymenoptera	<i>Bombus spp.</i>
<i>Apis mellifera</i>		
AVES	Trochilidae	<i>Hylocharis leucotis</i>
		<i>Atthis heloisa</i>
		<i>Heliomaster constanti</i>
		<i>Heliomaster longirostris</i>
		<i>Archilocus alexandri</i>
		<i>Calothorax lucifer</i>

La concentración de néctar por flor en *Phaseolus coccineus* varía de 24.8 al 34.8%, el volumen de néctar por flor va de 4.5 a 12.5 μ l y los miligramos de azúcar de 0.011 a 0.044 mg (Búrquez y Sarukhán, 1980). De este mismo trabajo resalta el hecho de que la altitud afecta las características del néctar, siendo mas cercano al síndrome de polinización por aves (ornitofilia) en las poblaciones mas altas y mas cercano al síndrome de polinización por abejas (melitofilia) en las poblaciones mas bajas.

II.3 Variabilidad genética.

La variabilidad genética refleja la historia de los eventos de selección, deriva génica, flujo génico y endogamia de una población. Por esto es muy importante tener esta medida en un trabajo de sistemas reproductivos (Tabla II.2).

Tabla II.2 Diversidad Genética y número de alelos promedio reportados para *Phaseolus coccineus*. y para plantas herbáceas con apareamiento mixto.

Número de Poblaciones	Número de Enzimas	Alelos	Diversidad Genética	Fuente
<i>Diferentes poblaciones de Phaseolus coccineus</i>				
15	1	3.0	0.319	Wall y Wall , 1975
6	5-6	2.9	0.364	Coello y Escalante, 1989
12	9	—	0.247	Piñero, 1989
<i>Plantas herbáceas con apareamiento mixto y polinizadas por animales</i>				
172	17.7	1.99	0.167	Hamrick y Godt, 1989

Esto nos indica que el frijol ayocote tiene una diversidad genética alta. Estos valores del 30% muestran que el sistema de apareamientos no es muy endogámico, es preferentemente de entrecruza y/o es común que haya entrada de genes nuevos en la población a través del flujo génico o tasa de mutación altas.

II.4. Sistema reproductivo

De los datos de las polinizaciones controladas (Búrquez y Sarukhán, 1984; Coello y Escalante, 1989) se aprecia que *P. coccineus* puede autofecundarse y que no hay barreras genéticas de incompatibilidad. El cociente polen óvulo reportado cae en el rango de la xenogamia facultativa, lo que refuerza la idea de que no hay barreras de incompatibilidad (Cruden, 1976; Búrquez y Sarukhán, 1984). Esto es importante mencionarlo, ya que se ha sugerido que la posición del estigma evita la autofecundación, sin embargo, si es posible la autocruza, aunque con la presencia del polinizador para que contacte las anteras y el estigma (Delgado, 1988).

II.4.1. Tasa de entrecruzamiento

El frijol ayocote tiene un sistema de cruce mixto y presenta un coeficiente de endogamia cercano al equilibrio (Tabla II.3)

Tabla II.3. Tasas de Entrecruzamiento multilocus y coeficiente de endogamia estimados para poblaciones silvestres y cultivadas de *Phaseolus coccineus*.

Número de Enzimas	Número de Poblaciones	Tasa de Entrecruzamiento	Coefficiente de Endogamia	Fuente
7	6	0.649	0.250	Escalante, et al. 1994
9	12	0.647*	0.228	Piñero, 1989

* la tasa de entrecruzamiento es en el equilibrio de endogamia ($t = 1-F / 1+F$).

Este resultado sirvió como fundamento para la realización de este trabajo y explorar con mas detalle dentro de una población y durante varios años la tasa de entrecruzamiento, tanto individual como poblacionalmente.

II.5. Clasificación taxonómica.

En esta tesis se muestrearon dos de las cinco subespecies reportadas por Delgado (1988) para *Phaseolus coccineus*.

Phaseolus coccineus subespecie formosus (Kunth) Mare, Masch. y Stain: se estudió en el bosque de Tlalpan, México D.F. Esta subespecie se encuentra distribuida en un amplio rango en México (desde Chihuahua a Chiapas) y fuera de México llega hasta Panamá (Figura II.2). Se le encuentra tanto silvestre como en cultivos aunque esto último no es frecuente. La altitud va desde los 1000 a 3000 msnm en bosques de encino y pino-encino (Delgado, 1988).

Phaseolus coccineus subespecie griseus (Piper) A. Delgado: se estudió en el Laboratorio Natural "Las Joyas" en la Sierra de Manantlán, Jalisco. Esta subespecie se encuentra en esporádicas poblaciones a lo largo de la Sierra Madre Occidental, en el este del Eje Transvolcánico y en la Sierra Madre del Sur (ver Figura II.2). Esta variedad puede crecer en bosques de pino-encino, bosque tropical deciduo y matorral xerófilo, siendo una variedad más de clima seco y cálido (Delgado, 1988).

II.6. Sitios de colecta

II.6.1. Bosque de Tlalpan

Esta población está dentro de los terrenos del Zoológico del Pedregal en la delegación de Tlalpan, México D.F., a una altitud de 2800 msnm en la región suroeste de la cuenca hidrográfica del Valle de México. Esta zona está localizada entre los paralelos 19° 13' y 19° 20' y los meridianos 99° 08' y 99° 14' (ver Figura II.2).

El clima reportado en la estación meteorológica de Ciudad Universitaria corresponde al C(W) (W) b (García, 1989), esto es, templado subhúmedo con lluvias en verano. La temperatura media anual fluctúa entre los 14° y 17° C, con un gradiente térmico que disminuye conforme aumenta la altura (Hernández, 1984, en Parra 1988). Las lluvias se presentan de junio a octubre con un promedio anual de 500 a 700 mm, la época de secas va de noviembre a febrero. El valor promedio anual de humedad varía entre 61% al 70%

En lo que respecta a la vegetación, esta comunidad se encuentra en el ecotono del matorral xerófilo del Pedregal de San Ángel hacia su parte más sur y elevada y el bosque de pino-encino en las faldas del Ajusco. Es un sitio muy perturbado por el centro recreativo que ha instalado la delegación en este lugar y por el crecimiento de la zona urbana que en la actualidad rodea las 94.8 ha del Bosque de Tlalpan.

En este sitio se encuentran representados todos los estratos, con pinos, encinos y tepozanes

en el estrato arbóreo. El palo loco (*Senecio praecox*) como especie dominante en el estrato arbustivo y existen también una gran cantidad de hierbas. Para mas detalles del tipo de vegetación, suelo y clima, ver Rzedowski (1954).

II.6.2. Sierra de Manantlán

La Sierra de Manantlán es parte de la Sierra Madre del Sur, la cual corre desde las costas de Jalisco hasta el Eje Neovolcánico Transversal. En este lugar se muestreó una población silvestre en el laboratorio natural Las Joyas. Esta estación se encuentre a una altitud de 2 000 msnm y la localización geográfica es entre los 19° 26' y 19° 42' de latitud norte y 103° 51' y 104° 27' de longitud oeste (Jardel et al., 1992) (Figura II.2).

La temperatura promedio anual es de 18°C y la precipitación pluvial media va de 900 mm en las zonas mas secas del norte a 1800 mm en las partes altas que son mas húmedas. Los grupos climáticos presentes son (Aw) cálido subhúmedo, A(C) w o (A) Cw semicálido y (Cw) templado subhúmedo. El régimen de lluvias es de verano, con una marcada estacionalidad en la época de secas y lluvias. Normalmente las lluvias se presentan en los meses de mayo a octubre, siguiendo una temporada de lluvias ocasionales hasta diciembre y febrero. Los meses de marzo, abril y mayo son los mas secos (Jardel et al., 1992).

Las comunidades vegetales reportadas en la zona son: bosque de pino, bosque de oyamel, bosque de encino, bosque mesófilo de montaña, bosque tropical caducifolio, matorral subtropical, bosque tropical subcaducifolio, vegetación sabanoide de *Byrsonima* y *Curatella* y vegetación de galería (Jardel et. al., 1992).



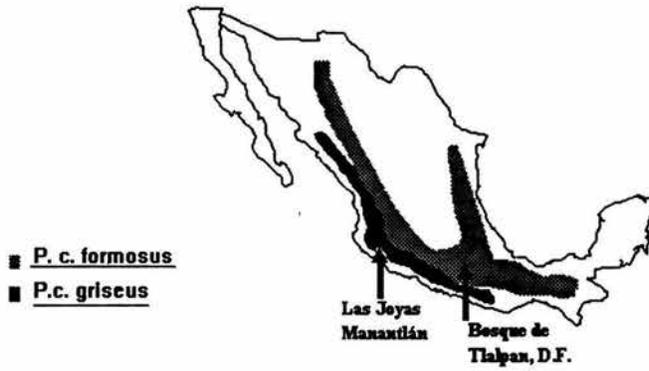


Figura II.2. Distribución geográfica de las dos subespecies de *Phaseolus coccineus* y las localidades muestreadas.

Literatura citada

- Búrquez, A. y J. Sarukhán. 1980. Biología de poblaciones silvestres y cultivadas de *Phaseolus coccineus*. Bol.Soc.Bot.México 39:5-24.
- Búrquez, A. y J. Sarukhán. 1984. Biología de poblaciones silvestres y cultivadas de *Phaseolus coccineus*. Bol.Soc.Bot.México 39:5-24.
- Coello, G. y A.M. Escalante. 1989 . Estructura genética y estimación de los parámetros del sistema de apareamiento en poblaciones silvestres y cultivadas de *Phaseolus coccineus* . Tesis de Licenciatura. Fac. Ciencias, UNAM.
- Cruden, R.W. 1976. Pollen-ovule ratios: a conservative indicator of breeding system in flowering plants. Evolution 31:32-46.
- Delgado, A. 1988. Variation, taxonomy, domestication and germoplasm potentialities in *Phaseolus coccineus* . En P.Gepts (ed.). Genetic Resources of Phaseolus beans. Kluwer Acad.Pub. 140-148 p.
- Escalante, A.M., G. Coello, L. Eguiarte y D Piñero. 1994. Genetic structure and mating system in wild and cultivated population of *Phaseolus coccineus* and *P. vulgaris* (Fabaceae). Amer. J.Botany 81:1096-1103.
- Fernández, P. 1979. Ciclo de vida comparativos de poblaciones de *Phaseolus coccineus* L. (Leguminosae). Tesis Doctoral Fac. de Ciencias, UNAM.
- García, E. 1973. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen . 4a ed. Instituto de Geografía. UNAM. México.
- Hamrick, J.L. y M.J.W. Godt. 1989. Allozyme diversity in plant species. En A.H.D. Brown, M.T. Clegg, A.L.Kahler, B.S.Weir (eds.). Plant Population Genetics, Breeding, and Genetic Resources. Sinauer. 70 p.
- Jardel, E.J., E. Santana, R. Cuevas, L.R. Sánchez, O. Pérez, R. Gutiérrez, B.F. Benz, P. Leán, P. Cruz y C.Mac Farland. 1992. Estrategia para la conservación de la reserva de la biósfera sierra de Manantlán. Documento base para la integración del programa de manejo integral. Editorial Universidad de Guadalajara. 250 p.
- Manshardt, R.M. y M.J. Bassett. 1984. Inheritance of stigma position in *Phaseolus vulgaris* X *Phaseolus coccineus* hybrid populations. J. Hered. 75: 45-50.
- Parra, T.V.P. 1988. Ecología de la polinización en una población de *Echeveria gibbiflora* DC en el pedregal de San Ángel. CU. México. Tesis de Licenciatura. Fac. de Ciencias, UNAM.

- Piñero, D. 1989. Genética del frijol *Phaseolus coccineus*. Reporte Técnico a la AID/USA No.2 correspondiente a enero-junio. 6-9.
- Piñero, D. y L. Eguiarte. 1988. The origin and biosystematic status of *Phaseolus coccineus*: electroforetic evidence. Euphytica 37: 199-203.
- Rzedowski, J. 1954. Vegetación del Pedregal de San Ángel D.F. México. An. Esc. Cien. Biol. 8:59-129.
- Wall, J.R. y S.W. Wall. 1975. Isozyme polymorphism in the study of evolution in the *Phaseolus vulgaris*-*P. coccineus* complex of Mexico. En C.L. Martert (ed.) Isozymes IV. Academic Press. NY. 287-304 p.

CAPITULO III

TASA DE ENTRECruzAMIENTO

III. 1. 1. Introducción	28
III.2. Material y métodos	
III.2.1. Colecta en el campo	30
III.2.2. Análisis electroforético	31
III.2.3. Estimación de la tasa de entrecruzamiento	31
a) Ritland y Jain	32
b) Shaw, Kahler y Allard	33
III.2.4. Estimaciones de la tasa de entrecruzamiento por familia y el modelo nulo	35
III.2.5. Análisis de varianza	36
III.2.6. Endogamia biparental	37
III.2.7. Repetibilidad	37
III.3. Resultados	
III.3.1. Tasa de entrecruzamiento por población por año	38
III.3.2. Tasa de entrecruzamiento por familia	40
- Análisis de varianza	42
III.3.4. Modelo nulo y la estimación de la tasa de entrecruzamiento	43
III.3.5. Endogamia biparental	45
III.3.6. Repetibilidad de la tasa de entrecruzamiento	46
III.4. Discusión	
III.4.1. Tasa de entrecruzamiento poblacional	47
III.4.2. Tasa de entrecruzamiento por familia	48
III.4.3. Modelo nulo	49
III.4.4. Coeficiente de endogamia y tasa de entrecruzamiento	49
III.4.5. Repetibilidad	50
Consideraciones finales	51
Literatura Citada	52

TASA DE ENTRECruzAMIENTO

III.1.1. Introducción

Una de las formas más comunes y extremas de endogamia que se conoce en las plantas es la autopolinización. Cuando una población se autofecunda completamente, las siguientes generaciones se vuelven rápidamente homocigas (Figura III.1) y se fijan alelos en las poblaciones expresándose genes deletéreos recesivos que disminuyen la adecuación promedio. En organismos donde la autofecundación es el sistema de cruce más común, se ha visto algún grado de entrecruzamiento que ocurre esporádicamente (Hedrick, 1983), dando paso entonces a un sistema mixto de cruce donde se tiene una cierta proporción de hijos producto de autofecundación y un remanente de hijos de una entrecruza. Con este tipo de apareamientos la frecuencia de heterocigos no se hace cero como cuando hay solamente autofecundación, ya que existen apareamientos de entrecruza al azar que reconstituyen una fracción de heterocigos cada generación evitando la aparición de alelos deletéreos recesivos (Wright, 1979).

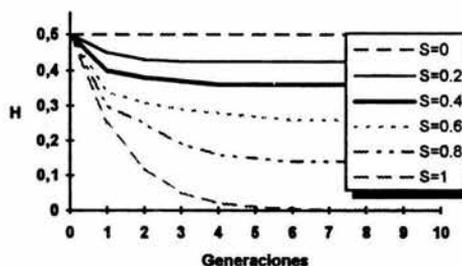


Figura III.1 Heterocigosidad (H) con endogamia parcial. S es la tasa de autofecundación poblacional. Cuando $S=0$ es una población panmítica y la H se mantiene igual cada generación. Cuando $0 < S < 1$ hay diferentes grados de autopolinización y la heterocigosidad disminuye, en el caso de $S=1$ la endogamia es extrema y en pocas generaciones se pierde la variabilidad genética (Hedrick, 1984).

En el supuesto de que la pérdida de variabilidad genética va en detrimento del vigor y la capacidad de enfrentar nuevas condiciones ambientales en una población (Dobzhansky, 1970), el tener un sistema de cruce que permita, por un lado, la existencia de variación genética y además

garantice un número de semillas en condiciones adversas hace pensar que la autofecundación estricta sea un caso raro y que los sistemas mixtos sea un tipo común de cruce en las plantas.

Cuando se analiza el sistema de cruce, medido como la tasa de entrecruzamiento, con algunas características de historia de vida (Figura III.2), tenemos que los grupos taxonómicos (gimno y angiospermas) están mas representados en los extremos que en los valores intermedios de t (Barrett y Eckert, 1990). Al analizar los datos para la forma de vida (Figura III.2.b) el patrón muestra que las plantas leñosas tienen un sesgo hacia la entrecruza ya que su distribución no es uniforme en todo el rango, mientras que las plantas herbáceas perennes y anuales no mostraron ningún sesgo hacia los valores extremos, es decir, se distribuyen como una distribución uniforme.

Esto nos indica que la longevidad de las plantas es un punto muy importante para el tipo de cruce (Barrett y Eckert, 1990).

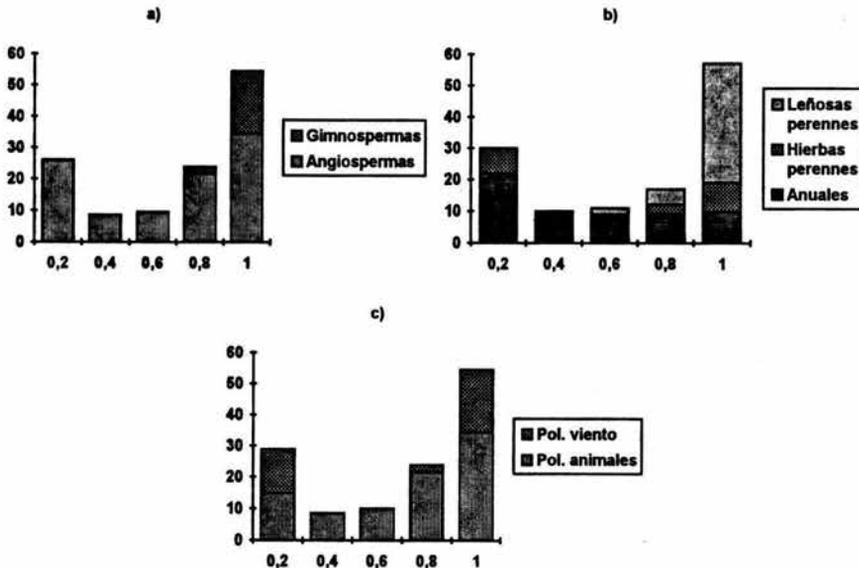


Figura III.2. Gráficas que muestran la relación de la tasa de entre cruzamiento de 129 especies con a) grupo taxonómico, b) ciclo de vida y c) tipo de polinización (Barrett y Eckert, 1990)

En el trabajo de Barrett y Eckert (1990) retomaron también la crítica de Aide (1986) de que el tipo de polinización determina en gran medida la tasa de entrecruzamiento. Aquí se reportan 129 especies (74 más que en el trabajo original de Schemske y Lande, 1985) las cuales mostraron una clara tendencia bimodal en las plantas polinizadas por viento (Figura III.2.c). Sin embargo, Barrett y Eckert (1990) encontraron diferencias significativas de la distribución uniforme para las plantas polinizadas por animales.

En general, la tasa de entrecruzamiento está afectada fuertemente por la forma de vida y el tipo de polinización, aunque el efecto taxonómico puede ser importante (ver también los datos reportados por Eguiarte, 1990)

Para tener una descripción detallada de la tasa de entrecruzamiento poblacional durante varias temporadas reproductivas, así como la distribución de la t por familia y alguna medida de la heredabilidad de este carácter, se propuso en este trabajo hacer un seguimiento de un grupo de plantas reproductivas durante varios años y comparar los resultados en los dos sitios de muestreo.

I.2. Material y métodos

III.2.1. Colecta en el campo

Se marcaron con etiquetas de plástico y mapearon 60 individuos reproductivos en Manantlán y 88 en Tlalpan, durante dos años en la primera población y tres en la segunda. De los individuos marcados se colectó una muestra de tejido foliar de aproximadamente 5cm², la cual se congeló en nitrógeno líquido para su transporte y posterior almacenaje en un ultra congelador a -70° C.

Los hijos de estos individuos muestreados fueron colectados, tomando todas las vainas presentes al momento de la visita y almacenadas en bolsas de papel con naftalina para evitar el daño por ácaros y hongos.

III.2.2. Análisis electroforético.

Las colectas de campo fueron analizadas usando electroforesis horizontales en geles de almidón al 12% (P/V) en dos sistemas de buffer como reportan Piñero y Eguiarte, (1987); Escalante et al, (1989). Las enzimas y los buffer usados se presentan en la Tabla III.1.

Tabla III.1. Sistema electroforético empleado en este estudio para *Phaseolus coccineus* en donde se presenta el buffer ensayado para cada isoenzima según lo reportado por Escalante et al. (1994).

Buffer	pH gel/charola	ALOENZIMA	Abreviatura
Histidina	7.0 / 7.0	Fosfatasa ácida	AcPh
		Malato deshidrogenasa	MDH-3
		Fosfo glucomutasa	PGM-1,PGM-3
Litio	7.6 / 8.0	Glutamato oxalacetato transaminasa	GOT-1
		Diaforasa	DIA
		Fosfo gluco isomerasa	PGI-1

Para el ensayo con las plantas madre no se utilizó mas que agua destilada en la extracción, pero con los hijos de las colectas de 1991 y 1992 para las dos poblaciones se usó un buffer de extracción (Cheliak y Pitel, 1984) ya que en estos casos se ensayó directamente con las semillas sin germinarlas, no así con la colecta de 1990 para Tlalpan que fue germinada y crecida en el invernadero del Centro de Ecología, para posteriormente hacer las electroforesis. Las enzimas encontradas en las semillas fueron las mismas que en el tejido foliar por lo que se unieron en un mismo análisis.

III.2.3. Estimación de la tasa de entrecruzamiento

La estimación de la tasa de entrecruzamiento multilocus, la tasa de entrecruzamiento promedio de locus sencillo, el índice de fijación y las frecuencias alélicas de la poza de polen y la poza de óvulos se hicieron con el programa MLT de Ritland (1990), que está basado en las estimaciones multilocus de Ritland y Jain (1981). También se estimó la tasa de entrecruzamiento usando el

programa desarrollado por Waller y Mitchell-Olds basado en el método de Shaw et al.,(1981).

a) Ritland y Jain

Ritland y Jain (1981) desarrollaron un método que estima la tasa de entrecruzamiento para loci no ligados en plantas con sistema mixto. El procedimiento itera una ecuación que calcula las frecuencias alélicas y la tasa de entrecruzamiento de la siguiente forma:

$$t_{i+1} = 1^T (X + t_1 T/P_k) \underline{1}$$

donde $\underline{1}$ es un vector columna de unos, X es la matriz observada de las transiciones entre los padres y la progenie, T son las probabilidades de una entrecruza dado un genotipo materno y $P = (1-t) S + t T$ (S es la matriz de la probabilidades de autofecundación).

Esta estimación parte de los supuestos del modelo mixto, esto es, la tasa de entrecruzamiento es independiente del genotipo materno, la poza de polen no está estructurada y por lo tanto las frecuencias alélicas esperadas son iguales para todas las familias, todos los hijos de una planta madre son producto de una autofecundación o de una entrecruza y no hay endogamia biparental, no hay selección gamética y no hay eventos de selección natural entre la fecundación y cuando se tomó la muestra. Si cualquiera de estos supuestos no se llegara a cumplir, provocaría un sesgo de sobre o subestimación de la t .

Existe un programa de computadora (MLT) basado en este algoritmo para calcular la tasa de entrecruzamiento (Ritland, 1990) el cual se usó en este estudio para estimar la tasa de entrecruzamiento multilocus poblacional y por familia.

Este programa también genera los errores estandar de los parámetros usando el método de bootstraps (Efron, 1979), teniendo como la unidad de remuestreo los genotipos de los hijos de una familia. Ritland (1990) recomienda usar por lo menos 100 bootstraps, (sino es que 500 o 1000) para tener una buena estimación del error estandar. Sin embargo, aquí se observó el error estandar generado con diferente número de bootstraps, pensando en optimizar el tiempo de computación y al mismo tiempo generar una buena estimación del error estandar. Estos

resultados se muestran en la Figura III.3. De la gráfica se observa que el parámetro más sensible fue el coeficiente de endogamia (F), en el cual disminuyó el error estándar al estimar con 500 bootstraps. Sin embargo, la tasa de entrecruzamiento multilocus (tm) y la tasa de entrecruzamiento promedio para cada locus (ts) no tuvieron un cambio muy drástico. Por esta razón se decidió usar 100 bootstraps, ya que no requiere de un gran tiempo de computación (dependiendo de la maquina a utilizar) y no afectan tanto a la tm y ts.

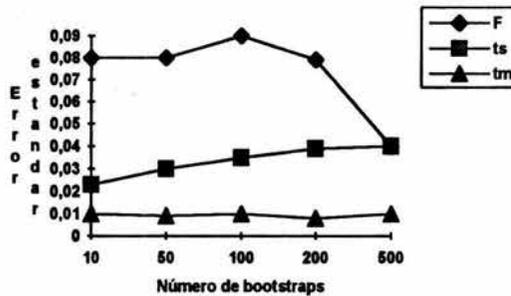


Figura III.3 Error estándar generado con el programa MLT (Ritland, 1990), para diferentes iteraciones de bootstraps en los parámetros: tasa de entrecruzamiento multilocus (tm), tasa de entrecruzamiento promedio para cada locus (ts) y el coeficiente de endogamia (F).

b) Shaw, Kahler y Allard

Otra forma de estimar la tasa de entrecruzamiento es la desarrollada por Shaw, Kahler y Allard (1981) en el cual se usa el genotipo materno y el de la progenie para tener una estimación multilocus. En este método, primero se distingue en la progenie de una planta madre cuales hijos son discernibles de entrecruza y cuáles no son discernibles, debido a que el genotipo de la progenie es idéntico al de la planta madre (por autofecundación o por entrecruza con un donador parecido a la planta madre, ver Tabla III.2)

Tabla III.2. Método de estimación de la tasa de entre cruzamiento por el método de Shaw et al., 1981. En esta figura se muestra cuales hijos son discernibles y cuales son ambiguos.

Progenie	Loci				
	A	B	C	D	E
		Genotipo Materno			
	11	22	12	13	23
		Genotipo de la Progenie			
1	11	22	12	13	13*
2	11	22	22	11	33
3	11	12*	12	23*	13*

* entrecruza discernible

En el caso de la Tabla III.2 el hijo 1 sólo en el locus E muestra que es de entrecruza, el hijo 2 no se puede discernir por lo que se considera un apareamiento ambiguo y el hijo 3 se puede claramente distinguir de entrecruza en el loci B, D y E. Los apareamientos ambiguos son un factor de corrección para estimar la tasa de entrecruzamiento. La proporción ($P(A)$) mide cuantos de los hijos de una cruce son ambiguos, a través de la expresión $P(A) = P(O) * \alpha$, donde $P(O)$ es la probabilidad de una entrecruza en la población y α es la probabilidad de no identificar una entrecruza dado que esta ocurrió.

Existe una porción $1-\alpha$ que define la probabilidad de discernir una entrecruza. En estos casos $1-\alpha$ aumenta con el número de loci usados y con el número de alelos por locus y depende del genotipo materno, la frecuencia de alelos en la poza de polen y el número de hijos ensayados.

Así la tasa de entrecruzamiento (t) se estima como:

$$t = n / N * (1 - \alpha)$$

donde n es el número de hijos que fueron discernibles dada una muestra poblacional de tamaño N y la varianza se estima como $\text{Var}(t) = t(1-t)[1-\alpha] / N (1-\alpha)$. Waller y Mitchell-Olds hicieron un programa en lenguaje pascal para estimar la tasa de entrecruzamiento con este algoritmo (Waller y Knight, 1989).

De esta forma se estimó la tasa de entrecruzamiento usando aquellas familias donde no hubo fallas en la tinción de las enzimas ensayadas, es decir, como se mencionó arriba, es necesario tener todo el genotipo materno y de la progenie para identificar apareamientos ambiguos y no ambiguos, así que en aquellos casos donde por alguna razón no se obtuvo el genotipo materno o de alguna hijo, se eliminó este dato del análisis.

III.2.4. Estimaciones de la tasa de entrecruzamiento por familia y el modelo nulo

Para saber si la variación de la t por familia en una población es producto de algún patrón o esta generada por el azar, se debe comparar los datos obtenidos contra alguna distribución aleatoria. Una primera posibilidad sería comparar contra una distribución uniforme, pero al hacer esta comparación se supone que es igualmente probable obtener cualquier valor de t en una población donde la entrecruza es conocida (Ritland y Ganders, 1985). Una mejor aproximación es comparar contra una distribución hecha con base en la tasa de entrecruzamiento poblacional y las frecuencias de polen y óvulos, que genera una distribución aleatoria que muestra los valores que por azar puede tener la tasa de entrecruzamiento en alguna población específica. Ritland y Ganders (1985) mencionan que la mejor forma de comparar es construyendo un modelo "nulo" (Método de Monte Carlo), generado por azar contra el cual se comparan los datos obtenidos del muestreo en el campo.

En este trabajo se construyó el modelo "nulo" con el programa Progenie (Escalante et al, 1994; disponible en el laboratorio de Genética del Centro de Ecología), el cual generó una población aleatoriamente con las mismas frecuencias génicas para el polen y óvulos, con la misma tasa de entrecruzamiento poblacional y con el mismo número de hijos por familia que la población muestreada. Con estos datos se vuelve a usar el programa MLT y se comparan las varianzas como en Ritland y Ganders (1985). Posteriormente se hizo la distribución de la tasa de entrecruzamiento por familia en la población para cada año y se comparó con la distribución obtenida por el modelo "nulo", para detectar diferencias entre el patrón y el modelo generado al

azar con una prueba de Kolmogorov-Smirnov.

III.2.5. Análisis de varianza.

Otra forma de probar si las tasas de entrecruzamiento son o no significativamente diferentes entre las plantas madre, es a través de un análisis de varianza, donde se comparan las varianzas entre familias y dentro de cada familia (Ritland y El-Kassaby, 1985).

Para calcular la suma de cuadrados del ANOVA se hizo lo siguiente: la suma de cuadrados entre familias (SCen) es la varianza estimada a partir de cada tasa de entrecruzamiento (t_i) menos el promedio (\bar{t}) multiplicada por el número de hijos promedio por familia (\bar{n}). La suma de cuadrados dentro de la familia (SCden) se calculó sumando todas las varianzas para cada planta madre a partir del error estandar (EEi) generado por el MLT (varianza=(error estandar²)*número de hijos por familia). La suma de cuadrados total (SCt) es la suma de estas dos varianzas (SCt=SCen+ SCden).

Los grados de libertad se calcularon de la siguiente forma: entre familias es el número de plantas progenitoras menos uno, dentro de familias es el número de hijos promedio menos uno por el número de plantas progenitoras y los grados de libertad totales es el número de hijos para todo el muestreo menos uno (Tabla III.3)

Tabla III.3 Análisis de varianza para encontrar diferencias en la tasa de entrecruzamiento por familia. EEi y t_i es el error estandar y la tasa de entrecruzamiento por familia; \bar{t} es la tasa de entrecruzamiento promedio (aritmético); N es el número de familias y n el número de hijos por familia.

Fuente	Suma de cuadrados	Grados de libertad
Entre familias (en)	$\sum_{i=1}^N (t_i - \bar{t}) \bar{n}$	N-1
Dentro de una familia (den)	$\sum_{i=1}^N (EE_i^2 * n_i)$	$(\bar{n}-1)N$
Total	entre+dentro	$(n \times N)-1$

III.2.6. Endogamia biparental

Hay dos formas de conocer si la tasa de entrecruzamiento es la generadora de la endogamia o hay otra fuerza que actúe sobre las frecuencias genotípicas (endogamia biparental). Una es comparando el valor del índice de fijación con el esperado en el equilibrio de endogamia $F=(1-t)/(1+t)$, esto es, si la endogamia registrada proviene de los eventos de autofecundación o parte de los hijos de entrecruza provienen de apareamientos con plantas emparentadas (Hedrick, 1984). La otra forma es restando la tasa de entrecruzamiento multilocus (t_m), que si puede distinguirse entre una cruce entre parientes y la tasa promedio de loci sencillos (t_s), la cual no discierne fácilmente un apareamiento consanguíneo, si la diferencia es significativa quiere decir que la t_s tiene una sobre estimación debida a eventos de apareamientos con plantas emparentadas (Ritland, 1990).

En este trabajo se midió con los dos métodos la endogamia biparental. En el primer caso se tomó la estimación del coeficiente de endogamia que da el programa BIOSYS-1 por enzima, se calculó la media y la varianza por año en cada una de las poblaciones y se graficó contra lo esperado en el equilibrio de endogamia.

En el caso de la comparación entre t_m - t_s , se obtuvo directamente del programa MLT así como su error estandar generado con 100 bootstraps.

III.2.7. Repetibilidad

Debido a que se obtuvieron estimaciones de la tasa de entrecruzamiento para cada planta madre en varios años consecutivos, se calculó el coeficiente de correlación de la tasa de entrecruzamiento ya que como menciona Falconer (1981) esta es una medida de la repetibilidad de un carácter. De tal forma que la estimación de la correlación se hizo tomando solamente aquellas plantas a las que se les había estimado la tasa de entrecruzamiento en 1990, 1991 y 1992.

III.3. Resultados

III.3.1. Tasa de entrecruzamiento por población por año

Los valores obtenidos para la tasa de entrecruzamiento multilocus para las dos poblaciones en 2 y 3 años se presentan en las Tabla III.4 y III.5.

Tabla III.4 Tasa de entrecruzamiento multilocus en *Phaseolus coccineus* para Tlalpan en 1990, 1991, 1992 y Manantlán en 1991, 1992, usando el programa MLT (Ritland, 1990). En esta tabla se muestra el número de familias usadas en la estimación, así como el número de hijos en la muestra.

Población	Año	(tm)	Error estandar	Número de familias	Número de individuos
Tlalpan	1990	0.730	0.042	27	116
	1991	0.773	0.049	21	154
	1992	0.956	0.012	16	196
Manantlán	1991	0.943	0.115	20	134
	1992	0.993	0.112	14	134

Se observa de la tabla III.4 que en la población de Tlalpan la t varió del 73% en 1990 a 95.6% en 1992. La tasa de entrecruzamiento promedio (aritmético) para los tres años en Tlalpan es de 81.97%. En el caso de Manantlán la variación fue menor del 94.3% en 1991 a 99.3% en 1992 el promedio en esta población fue de 96.8%. Los intervalos en general se sobrelapan (dentro de una población para diferentes años), salvo 1992 en Tlalpan.

En la Tabla III.5 se presentan los resultados obtenidos con el programa de Waller y Mitchell-Olds (abreviado como, WM).

Tabla III.5. Estimaciones de la tasa de entrecruzamiento para *Phaseolus coccineus* hechas con el programa de Waller y Mitchell-Olds, basado en el algoritmo de Shaw et al., (1981). En este caso α es la probabilidad de no identificar una entrecruza dado que esta ocurrió. En la tabla se muestra, también el número de loci usados en esta estimación, así como las familias y el número de hijos (siempre que se tuviera el genotipo para las mismas enzimas que la planta madre). El error estandar se estimó a partir de la varianza ($EE = \sqrt{\text{Var}/n}$) donde n es el número de progenie.

Población	Año	(t) no ambigua	Error estandar	α	loci	familias	progen
Tlalpan	1990	0.4286	0.0118	0.11	5	11	42
	1991	0.7185	0.0140	0.29	3	10	32
	1992	0.8571	0.0038	0.21	5	10	91
Manantlán	1991	0.8088	0.0063	0.19	5	12	68
	1992	0.6531	0.0048	0.42	5	13	98

En la tabla III.5 se muestra que en la población de Tlalpan la tasa de entrecruzamiento varió de 42.86% en 1990 a 85.71% en 1992, siendo el promedio de 66.81%. Para Manantlán en 1991 la tasa de entrecruza fue de 80.9% y disminuyó a 65.31% en 1992, el promedio en los dos años es de 73.1%

Dado que los resultados numéricamente son diferentes con las dos estimaciones, se compararon los resultados de las Tablas III.4 y III.5 con una prueba de t-Student para frecuencias (Tabla III.6)

Tabla III.6. Comparación de la tasa de entrecruzamiento multilocus de *Phaseolus coccineus* para los dos métodos empleados en este trabajo. Se presenta en negritas los valores que fueron estadísticamente distintos en cada año de estimación.

Población	Año	t-Student	gl	p
Tlalpan	1990	5.16	156	p <0.001
	1991	0.65	184	p >0.5
	1992	6.42	285	p <0.001
Manantlán	1991	0.96	200	p >0.2
	1992	2.79	230	p <0.01

En la Tabla III.6 se muestra como las estimaciones en la población de Tlalpan dieron valores estadísticamente distintos en 1990 (0.73 MLT, 0.428 WM) y 1992 (0.956 MLT, 0.857 WM). En la población de Manantlán en 1992 hubo diferencias significativas (0.993 MLT, 0.653 WM). El patrón que se observa en estas diferencias es que siempre fue mayor la estimación con el programa MLT de Ritland (1990) que con el de Waller y Mitchell-Olds (basado en Shaw et al. 1981).

La tasa de entrecruzamiento promedio multiloci para las dos poblaciones es de 0.78. Esto quiere decir que el 22% de los hijos se producen por autofecundación y el 78% por entrecruza.

Viendo la tasa de entrecruzamiento entre poblaciones, aunque los valores de la (t) en Manantlán son mas altos que en Tlalpan, esta diferencia no es significativa estadísticamente

t-Student=0.63, $gl = 2$, $p > 0.3$

Al revisar la tasa de entrecruzamiento por año en cada población, se vió que solamente en Tlalpan para el año 1992 fue mayor a los otros dos años (con el programa MLT). Sin embargo, con la estimación del método de Shaw et al. (1981), todos los años fueron significativamente diferentes y fue creciendo los valores de la tasa de entrecruzamiento. En Manantlán no hubo diferencias entre años con el método de Ritland y Jain (1981). Con las estimaciones hechas con el algoritmo de Shaw et al. (1981) si fueron distintas, disminuyendo en 1992 la entrecruza.

III.3.2. Tasa de entrecruzamiento por familia

Las estimaciones de la tasa de entrecruzamiento multilocus por familia se presentan en el Anexo I. A continuación se muestran graficamente estos datos por año y por población, junto con su error estandar y la tasa de entrecruzamiento poblacional (Figura III.4).

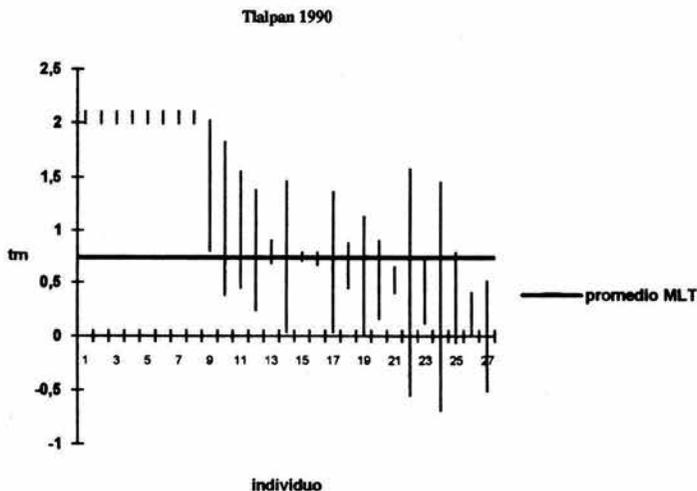


Figura III.4. Tasa de entrecruzamiento en *Phaseolus coccineus* reportado para cada familia (ordenada de mayor a menor) en cada año para las poblaciones de Tlalpan y Manantlán. Las rayas indican el error estandar estimado con el programa MLT

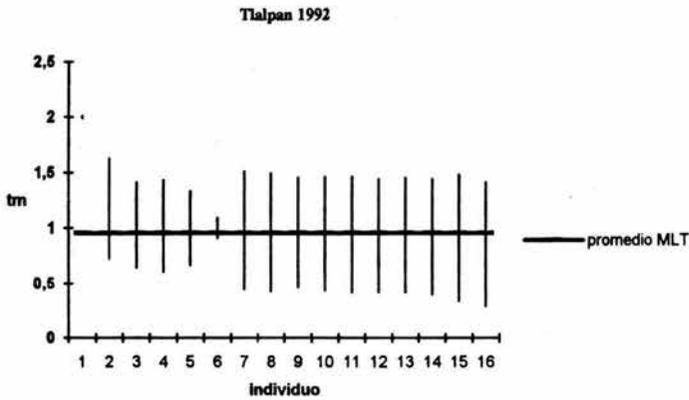
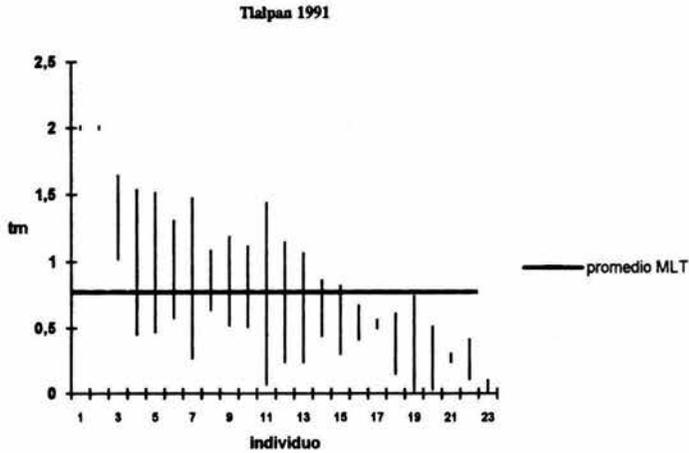


Figura III.4. Tasa de entrecruzamiento en *Phaseolus coccineus* reportado para cada familia (ordenada de mayor a menor) en cada año para las poblaciones de Tlalpan y Manantlán. Las rayas indican el error estándar estimado con el programa MLT

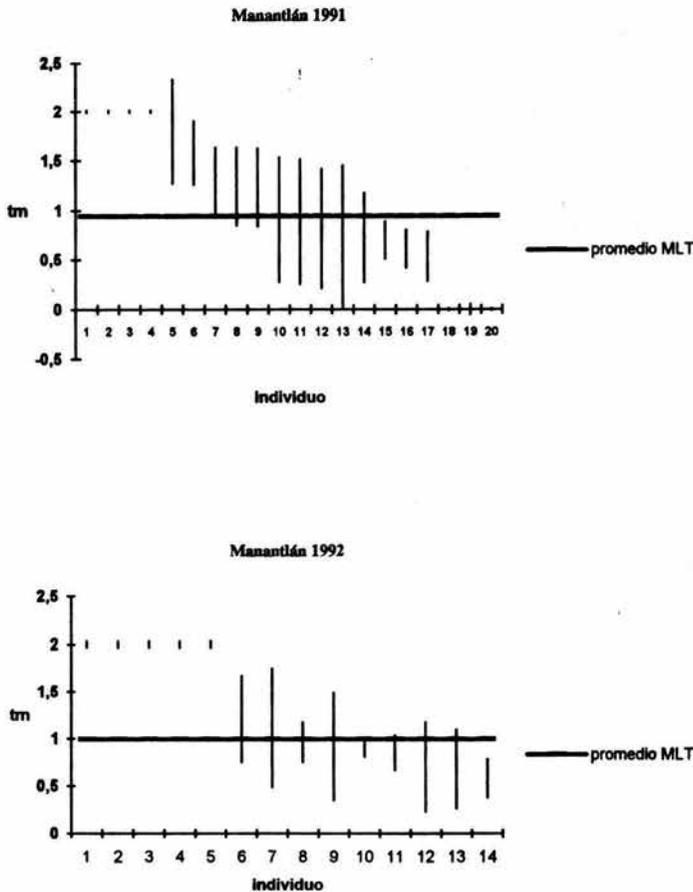


Figura III.4. Tasa de entrecruzamiento en *Phaseolus coccineus* reportado para cada familia en cada año para las poblaciones de Tlalpan y Manantlán. Las rayas indican el error estandar estimado con el programa MLT

En la Figura III.4. se aprecia que los errores de estimación para cada familia fueron muy grandes y que dentro de cada población (en cada año) existen sólo algunas familias que tienen tasas de entrecruza diferentes (ver en Tlalpan 1990,1991, y Manantlán 1991,1992).

- Análisis de varianza

Se realizó un análisis de varianza con las estimaciones de la tasa de entrecruzamiento por

familia, los resultados están en la Tabla III.7.

Tabla III.7 Varianza en los valores de la tasa de entrecruzamiento entre y dentro de cada familia en *Phaseolus coccineus*, para Tlalpan (1990, 1991 y 1992) y Manantlán (1991 y 1992). Las sumas de cuadrados se estimaron como indica la Tabla III.3.

Fuente de Variación	SC	gl	CM	F	p
Tlalpan 1990					
Entre Familia	2.1791	15	0.1452	0.4315	p>0.5
Dentro de Familia	16.1594	48	0.3365		
Tlalpan 1991					
Entre Familia	1.5070	18	0.0837	0.5520	p>0.5
Dentro de Familia	18.6990	123	0.1516		
Tlalpan 1992					
Entre Familia	0.7895	15	0.0526	0.2479	p>0.5
Dentro de Familia	35.0304	165	0.2123		
Manantlán 1991					
Entre Familia	2.1791	19	0.1147	0.8467	p>0.5
Dentro de Familia	11.5140	85	0.1354		
Manantlán 1992					
Entre Familia	2.6087	13	0.2007	1.719	p>0.1
Dentro de Familia	12.0814	103	0.1173		

Por lo que respecta a los ANOVA ninguno fue significativo, lo que quiere decir que la varianza dentro de una familia es muy grande contra la que se obtiene entre familias, este efecto se puede deber probablemente al reducido tamaño de la muestra .

III.3.3. Modelo nulo y la estimación de la tasa de entrecruzamiento

Las estimaciones hechas con el programa Progenie y la distribución de frecuencias de la tasa de entrecruzamiento por familia se presenta en la Figura III.5.(a y b), para la población de Tlalpan y Manantlán.

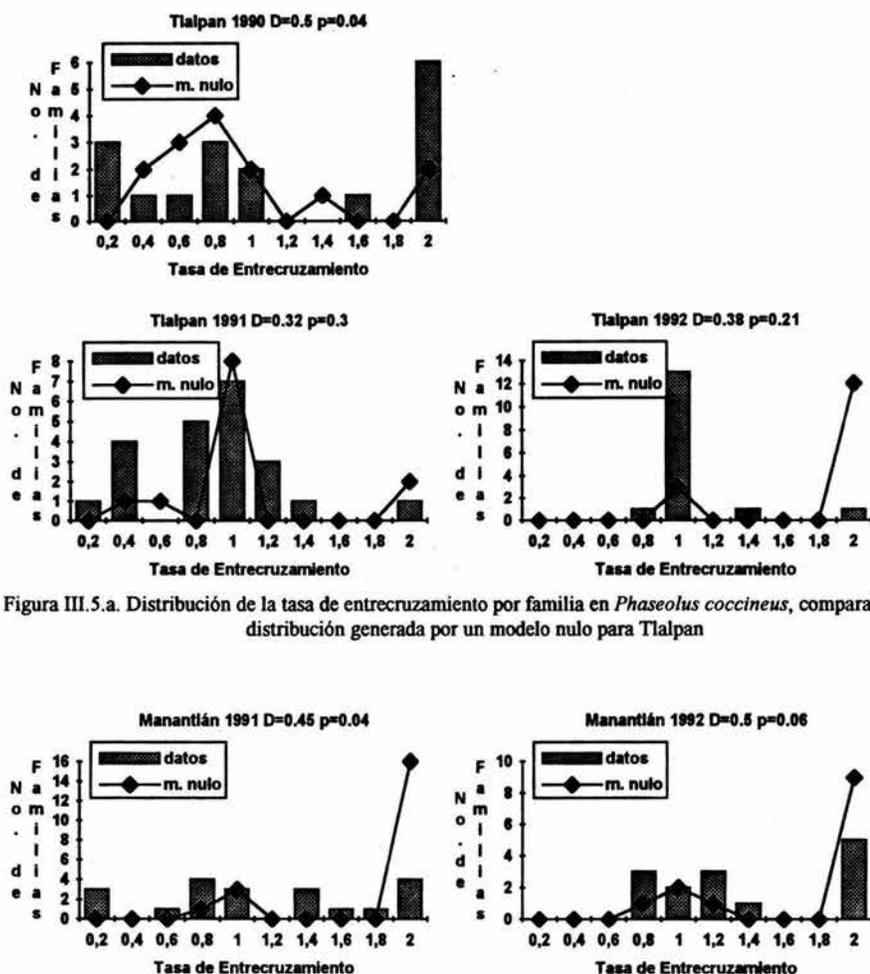


Figura III.5.a. Distribución de la tasa de entrecruzamiento por familia en *Phaseolus coccineus*, comparada con la distribución generada por un modelo nulo para Tlalpan

Figura III.5.b. Distribución de la tasa de entrecruzamiento por familia en *Phaseolus coccineus*, comparada con la distribución generada por un modelo nulo para Manantlán

Las distribuciones fueron significativamente distintas en la población de Tlalpan para 1990 y en Manantlán para 1991 y marginalmente en Manantlán en 1992. Esto quiere decir, que la distribución de la tasa de entrecruzamiento por familia en Tlalpan (1991 y 1992) tiene mucho ruido estadístico, al igual que Manantlán (1992), es decir, la estimación se hizo con una muestra pequeña y no se tuvo resolución para encontrar diferencias estadísticamente significativas.

III.3.4. Endogamia biparental

En la Figura III.6 se presenta graficamente el valor del coeficiente de endogamia contra lo que se espera cuando el sistema reproductivo es la única fuerza que genera la endogamia.

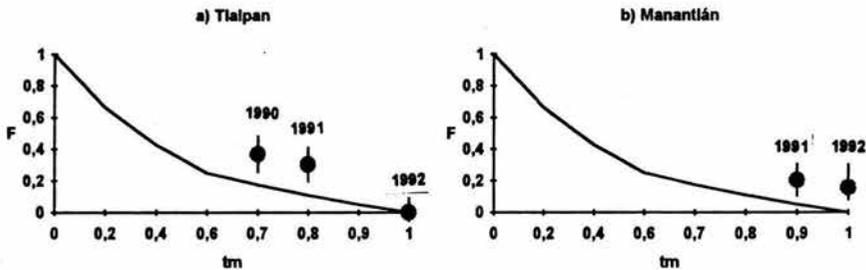


Figura III.6. Coeficiente de endogamia de *Phaseolus coccineus* comparado con el equilibrio de endogamia (línea continua) para Tlalpan y Manantlán. Las barras corresponden al intervalo al 95%

Esta gráfica muestra que la F en la población de Tlalpan en 1990 y 1991 están por arriba del equilibrio, en 1992 el valor es como lo que predice la fórmula $F=1-t/1+t$. La población de Manantlán está en el equilibrio para los dos años.

Con lo que respecta a las estimaciones hechas con las diferencias en las estimaciones de las tasas de entrecruzamiento tenemos lo siguiente Tabla III.8

Tabla III.8 Diferencia entre la tasa de entrecruzamiento multilocus y la tasa promedio de loci sencillo, estimada con el programa MLT (Ritland, 1990) para *Phaseolus coccineus*.

Población	Año	t_m-t_s	error estandar
Tlalpan	1990	0.176	0.034
	1991	0.124	0.031
	1992	0.018	0.034
Manantlán	1991	0.040	0.063
	1992	0.084	0.103

En la Tabla III.8 se muestra que la población de Tlalpan las estimaciones van de 0.018 a 0.176

siendo estadísticamente distintas de cero los dos primeros años. En Manantlán las dos estimaciones 0.040 y 0.084 no fueron significativas. Esto quiere decir que no se detectó endogamia biparental en esta población.

III.3.5. Repetibilidad de la tasa de entrecruzamiento

En la Figura III.7 se muestra la correlación que hay entre dos estimaciones consecutivas de la tasa de entrecruzamiento para una misma familia genética.

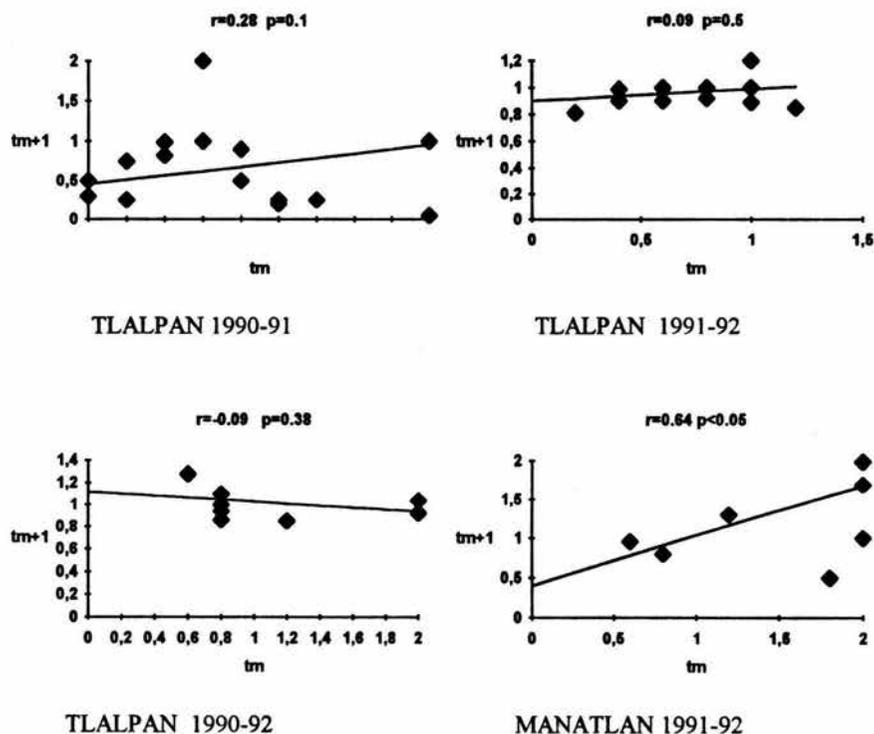


Figura III.7 Repetibilidad en la tasa de entrecruzamiento en *Phaseolus coccineus* para las poblaciones de Tlalpan y Manantlán

La Figura III.7. nos muestra que las correlaciones fueron bajas en la población de Tlalpan ($r=0.28$ $p>0.1$, $r=0.09$ $p>0.5$ y $r=-0.09$ $p>0.3$), lo que indica que hay poca repetibilidad de la tasa de entrecruzamiento en este sitio. En cuanto a la población de Manantlán la correlación si fue significativa ($r=0.64$ $p<0.05$), aunque si bien es cierto el tamaño de la muestra es pequeño, el hecho de que sea significativa implica que para esas pocas plantas hay una constancia en el sistema de cruce en por lo menos dos años y quizá sea reflejo de varianza genética aditiva en la t para la población o de que el ambiente donde se registró la tasa de entrecruzamiento fue constante.

III.4. Discusión.

III.4.1. Tasa de entrecruzamiento poblacional

La tasa de entrecruzamiento poblacional se calculó para conocer los eventos reproductivos y de esta forma saber cual es el sistema de cruce del frijol ayocote. Otra de las razones fue para medir cuanto cambiaba (si es que lo hacía) el sistema reproductivo en años consecutivos.

De los resultados obtenidos se puede decir que en Tlalpan el sistema de cruce es mixto, sesgado hacia valores mayores al 0.5 pero siempre menores a 1. En Manantlán la tasa de entrecruzamiento es también mixta, pero mucho mas cercana a 1 que en Tlalpan. En lo que respecta a los cambios registrados de año a año, en Manantlán no hubo diferencias en los dos años de análisis. En Tlalpan el último año fue significativamente mayor (Tabla III.4). Escalante et al (1994) reportaron en la población de Tlalpan para el año de 1987 que la tasa de entrecruzamiento multilocus era de 0.662 ± 0.068 usando el programa MLT. Esto es estadísticamente menor a los datos de los años reportados aquí. Esto podría deberse a que hay una tendencia a aumentar la tasa de entrecruzamiento, pero también a que Escalante et al (comunicación personal) muestrearon en sitios diferentes dentro del Bosque de Tlalpan, esto hace que estrictamente no se puedan comparar los resultados. Sin embargo, si nos da una idea de que el frijol mantiene un sistema mixto desde 1987.

En cuanto a los métodos empleados la Tabla III.6, nos muestra que en tres de los cinco casos las estimaciones fueron distintas estadísticamente y siempre con valores inferiores con el algoritmo de Shaw et al (1981). Algo similar es reportado por Waller y Knight (1989). Una explicación probable de este patrón es que el método de Ritland y Jain (1981) es más sensible para detectar eventos de entrecruza, ya que en este caso el programa MLT usa tanto las frecuencias de los genes en el polen y en los óvulos, el número de hijos en cada categoría aportados por cada familia, no así el método de Shaw et al (1981) que solamente utiliza los hijos discernibles de entrecruza y calcula una probabilidad de tener apareamientos ambiguos (α). Un trabajo que sería necesario explorar es el de generar con el programa Progenie (donde la tasa de entrecruzamiento poblacional se fija en un valor conocido) y comparar los resultados con ambos métodos, para saber cual tiene un mejor ajuste.

III.4.2. Tasa de entrecruzamiento por familia

Uno de los objetivos de este trabajo era el de detectar variabilidad en la tasa de entrecruzamiento a nivel individual, ya que solamente si existen diferencias en el sistema de cruza puede entonces estar sujeta a selección natural. En los análisis la tasa de entrecruzamiento multilocus para cada familia mostró mucha variación (desde 0 hasta 2). Para probar estadísticamente estas diferencias se usó un ANOVA (Tabla III.8.) el cual no detectó significancia entre familias, es decir, la variación de la estimación dentro de una familia fue mayor que la que se reporta entre plantas. De la Figura III.4., se observa que se obtuvieron tasas mayores que 1, lo cual quiere decir que hubo una sobre representación de hijos heterocigos para una madre homociga en una muestra no muy grande. Esto es, si una planta madre con el genotipo AA tiene 6 hijos con el genotipo Aa el algoritmo del programa da una estimación de (t) infinita (la cual es cortada en 2 por razones de programación, Ritland, comunicación personal). Las explicaciones de esta sobre representación tienen un significado biológico, si algún proceso de selección (a favor del heterocigo) esta actuando en la producción de las semillas (aborciones

selectivas de la madre o depresión endogámica), pero también es posible que tal cosa ocurra con muestras pequeñas y sesgadas. En el caso del frijol como se muestra en el siguiente capítulo la depresión endogámica no parece ser muy intensa, pero Rocha y Stephenson (1991) demostraron que en el frijol *P. coccineus* existen abortos selectivos por parte de la madre.

III.4.3. Modelo nulo

Como se mencionó en la metodología, Ritland y Ganders (1985) mostraron que no siempre se puede detectar variación entre familias genéticas con las herramientas estadísticas convencionales, por esto era necesario crear un modelo nulo y comparar la variación que se genera al azar contra la de los datos obtenidos. Así las distribuciones generadas por el modelo nulo y las observadas se ve que hay mayor varianza en los datos (en Tlalpan 1990 y Manantlán 1991) que lo esperado por el azar, pero en el resto de los datos no se detectó diferencia alguna entre lo que se genera aleatoriamente y los resultados obtenidos. Escalante et al., (1994) reportaron el mismo patrón, es decir, que no hubo diferencias significativas entre las dos distribuciones para la población de Tlalpan en 1987. El que en dos ocasiones se haya tenido una diferencia significativa quiere decir, que las proporciones de plantas con una cierta tasa de entrecruza aparecen mas de lo que se podría explicar por azar, es decir, que el patrón tiene una tendencia a sobre representar plantas de entrecruza en Tlalpan y a subrepresentarlas en Manantlán. Pero, en general para todos los años, podemos decir que se detectó poca variación sobre la cual puede actuar la selección natural.

III.4.4. Coeficiente de endogamia y tasa de entrecruzamiento

Para conocer si el exceso de homocigos es producto de los eventos de autofecundación de las plantas o se debe a otras causas (apareamientos entre plantas emparentadas o algún proceso de selección), se comparó la F con la esperada en equilibrio de endogamia ($F = (1 - t) / (1 + t)$), encontrándose que en Tlalpan (1990 y 1991) existe mas endogamia que la esperada únicamente

en el sistema de cruce, es decir, que se cruzan más entre parientes que lo esperado por azar. También se vio, que en esta población para los mismos años las diferencias entre la t_m y t_s son significativamente distintas de cero. Leclerc-Potvin y Ritland (1994) mostraron que en *Mimulus guttatus* la quinta parte de la endogamia registrada era debida a eventos de cruces entre plantas emparentadas (endogamia biparental) y una tercera parte a autofecundación de flores distintas en la misma planta (geitonogamia). Ellos concluyen que la endogamia biparental es una consecuencia inevitable de la estructuración de las poblaciones y en el caso de *P. coccineus* puede ser este mismo fenómeno (la estructuración de la población en pequeños núcleos reproductivos) la causa del exceso de endogamia registrada.

La endogamia es una de las fuerzas más comunes en las poblaciones naturales y esta comúnmente se debe a que las plantas de sistema mixto generan una porción de descendencia endogámica por autofecundación. Pero en este trabajo se detectó que no solamente es este proceso generador de endogamia el único que opera para las dos poblaciones en todos los años.

La diferencia entre la tasa de entrecruzamiento multilocus y el promedio para loci sencillos es diferente de cero lo cual quiere decir que existe en la población indicios de endogamia biparental, reforzando el hecho de que la F este fuera del equilibrio y la tasa de entrecruzamiento promedio para cada locus esta subestimada Ritland (1990).

III.4.5. Repetibilidad

Para medir la heredabilidad de la tasa de entrecruzamiento se necesita tener una estimación de la varianza genética aditiva en esta característica (Falconer, 1981) y hasta la fecha no hay ninguna publicación que haya estimado esta varianza en la t para alguna población natural (Barrett y Eckert, 1990). Una forma alternativa de tener algún parámetro relacionado con la heredabilidad de un carácter es midiendo la repetibilidad. Esta mide la proporción de la varianza fenotípica que es producto de alguna diferencia genética o ambiental entre individuos y se considera como la cota máxima de la heredabilidad.

La repetibilidad medida para la tasa de entrecruzamiento en este trabajo es baja para la población de Tlalpan. Podemos decir que la (t) para esta población no tiene un fuerte componente genético, sino está afectada por cuestiones ambientales (Herrera, 19. Schemske y Horvitz (1988) y Herrera (1990) mostraron que la comunidad de polinizadores puede variar mucho de año en año y con ello la producción de semillas, pero también se puede suponer que la tasa de entrecruzamiento puede ser muy distinta entre años. En la población de Manantlán la situación parece diferente, ya que la repetibilidad si fue alta, esto se puede deber (como se verá mas adelante) a que los caracteres morfológicos tienen una correlación fuerte con la tasa de entrecruzamiento.

Otra explicación dada a los bajos niveles de heredabilidad es que estas características están mas relacionadas con la adecuación del individuo y que por lo tanto la selección natural ha bajado los niveles de la varianza genética aditiva (Falconer, 1981). Esto nos dice que la tasa de entrecruzamiento tiene una fuerte relación con la adecuación de la planta y por lo tanto un alto nivel adaptativo. Sin embargo, es necesario considerar que esta característica depende fuertemente de factores ambientales (atracción de polinizadores, y conductas de forrajeo como se mencionó en la introducción general) y por eso mismo no es raro que su repetibilidad no sea significativa.

Consideraciones finales.

Como se mencionó en la introducción de este capítulo, el objetivo perseguido aquí era describir la tasa de entrecruzamiento poblacional, para conocer la estrategia reproductiva. Junto con esto se intentaba medir la variabilidad de la tasa de entrecruzamiento y si esta era heredable o por lo menos constante en dos años de análisis. Los resultados aquí descritos nos mostraron que: el frijol si tiene un sistema de cruce mixto que no varía grandemente de año a año pero la variación en la tasa de entrecruzamiento tiene fuertes componentes ambientales. Esto hace que en si misma la tasa de entrecruzamiento sea un carácter poco dúctil para que la selección natural lo molde.

Literatura citada

- Aide, T.M. 1986. The influence of wind and animal pollination on variation in outcrossing rates. Evolution 40:434-435.
- Barrett, S.C.H. y C.G.Eckert. 1990. Variation and evolution of mating systems in seed plants. En S. Kawano (ed). Biological Approaches and Evolutionary Trends in Plants. Academic Press.
- Búrquez, A. y J. Sarukhán. 1980. Biología de poblaciones silvestres y cultivadas de *Phaseolus coccineus*. Bol.Soc.Bot.México 39:5-24.
- Cheliak, W.M. y J.A.Pitel. 1984. Techniques for starch gel electrophoresis of enzymes from forest tree species. Information report PI-X-42. Petawawa National Forestry Institute Canadian Forestry Service.
- Dobzhansky, T. 1970. Genética del proceso evolutivo. Textos Extemporáneos. 462 p.
- Eguiarte, L.E. 1990. Genética de Poblaciones de *Astrocaryum mexicanum* Liebm. en los Tuxtlas. Veracruz. Tesis Doctoral Centro de Ecología/UACPyP. UNAM.
- Escalante, A.M., G. Coello, L. Eguiarte y D Piñero. 1994. Genetic structure and mating system in wild and cultivated populations of *Phaseolus coccineus* and *P. vulgaris* (Fabaceae). Amer. J.Botany 81:1096-1103.
- Efron, B. 1979. Bootstraps methods: another look at the Jackknife.. Annals of stat 7:1-26.
- Falconer, D.S. 1981. Introduction to Quantitative Genetics. London Longman. 340 p.
- Hedrick, P.W. 1984. Genetics of Populations. Science Books Int.. Boston. 390 p.
- Herrera, C.M. 1990. The adaptedness of the floral phenotype in a relict endemic, hawkmoth-pollinated violet. Biol.Jour.Linnean Soc. 40:263-274.
- Leclearc-Potvin, C. y K. Ritland. 1994. Modes of self-fertilization in *Mimulus guttatus* (Scrophulariaceae): a field experiment. Amer. J. Botany 81:199-205.
- Levin, D.A. y H.W. Kerster. 1969. Density-dependent gene dispersal in *Liatris*. Amer.Nat. 103:65-95.
- Piñero, D. 1989. Genética del frijol *Phaseolus coccineus*. Reporte Técnico a la AID/USA No.2 correspondiente a enero-junio. 6-9.
- Piñero, D. y L. Eguiarte. 1987. The origin and biosystematic status of *Phaseolus coccineus*: electroforetic evidence. Euphytica 37: 199-203.

- Ritland, K. 1990. A series of FORTRAN computer programs for estimating plant mating system. J. Hered. 81:235-236.
- Ritland, K. y S.K. Jain. 1981. A model of the estimation of outcrossing rate and gene frequencies using independent loci. Heredity 47:35-52.
- Ritland, K. y Y.A. El-Kasaby. 1985. The nature of inbreeding in a seed orchard of Douglas fir as shown by an efficient multilocus model. Theor. Appl. Genet 71:375-384.
- Ritland, K. y F.R. Ganders. 1985. Variation in the mating system of *Bidens menziesii* (Asteraceae) in relation to population substructure. Heredity 47:35-52
- Rocha, O.J. y A.G. Stephenson. 1991. Effects of nonrandom seed abortion on progeny performance in *Phaseolus coccineus* L.. Evolution 45:1198-1208.
- Schemske, D.W. y C.C. Horvitz. 1988. Plant-animal interactions and fruit production in a neotropical herb: A path analysis. Ecology 69:1128-1137
- Schemske, D.W. y R. Lande. 1985. The evolution of self-fertilization and inbreeding depression in plants. II. Empirical observations. Evolution 39: 41-51.
- Shaw, D.V., A.L. Kahler y R.W. Allard. 1981. A multilocus estimator of mating system parameters in plant populations. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 78:1298-1302.
- Waller, D.M. y S.E. Knight. 1989. Genetic consequences of outcrossing in the cleistogamous annual. *Impatiens capensis* II. Outcrossing rates and genotypic correlations. Evolution 43:860-869.
- Wright, S. 1979. Evolution and the Genetics of Populations Vol.4. Univ. Chicago Press.

CAPITULO IV

DEPRESIÓN ENDOGÁMICA

IV.1.1. Introducción.....	54
IV.1.2. Polinizaciones controladas en el frijol <i>P. coccineus</i>	55
IV.2. Material y métodos	
IV.2.1. Diversidad genética.....	55
IV.2.2. Estimación indirecta con t y F	56
IV.2.3. Invernadero	56
IV.2.4. Endogamia y producción de frutos y semillas	57
IV.3. Resultados	
IV.3.1. Diversidad genética.....	58
IV.3.2. Estimación indirecta con t y F	59
IV.3.3. Invernadero	61
IV.3.4. Endogamia y producción de frutos y semillas	62
IV.4. Discusión	
IV.4.1. Diversidad genética.....	64
IV.4.2. Estimación indirecta con t y F	65
IV.4.3. Invernadero	66
IV.4.4. Endogamia y producción de frutos y semillas	66
Consideraciones finales.....	68
Literatura Citada	69

DEPRESIÓN ENDOGÁMICA.

IV.1.1. Introducción

La depresión endogámica (δ) se define como la pérdida de capacidad reproductiva o de sobrevivencia (adecuación) de un organismo que se originó a partir de una cruce endogámica (King y Stansfield, 1990). Esta pérdida de adecuación se suponía como la causa de que la mayor parte de las plantas eviten las cruces endogámicas (Stebbins, 1957) principalmente la autofecundación. Aún así, no se introdujo a la depresión endogámica en los modelos de la evolución de los sistemas reproductivos hasta los trabajos de Maynard-Smith (1978), Lloyd (1979) y Lande y Schemske (1985).

Como se mencionó en la introducción general, para Lande y Schemske (1985) el estado reproductivamente estable de una planta va a depender únicamente del valor de la depresión endogámica. Así, un mutante que promueva la autofecundación puede invadir una población de individuos de entrecruza si $\delta < 1/2$, siendo el caso contrario ($\delta > 1/2$) también una condición para que evolucione la entrecruza. A partir de entonces se buscó probar en condiciones naturales y de invernadero el efecto de la depresión endogámica y con ello hacer predicciones de la evolución del sistema reproductivo (Jarne y Charlesworth, 1993). Charlesworth y Charlesworth (1987), publicaron una revisión sobre la depresión endogámica, en este artículo se presenta evidencia de la presencia de depresión endogámica en alguna parte del ciclo de vida, en general muestran que hay pocos datos que traten de seguir el efecto de la autocruza en todo el ciclo de vida o durante varios años para un grupo de plantas.

En la actualidad, sin embargo, ha aumentado el número de trabajos que miden la depresión endogámica en plantas y ya hay evidencia suficiente que muestra a la depresión endogámica como un factor importante, pero no el único, en la evolución de los sistemas reproductivos (Holsinger, 1988; Uyenoyama y Waller, 1991).

En los trabajos previos realizados con esta especie se vió que el efecto de la endogamia en el número de abortos era significativo en una correlación entre la tasa de entrecruzamiento y la aborción (Escalante et. al., 1994), esto muestra que es necesario conocer el efecto de las cruzas endogámica en el frijol "ayocote".

De tal forma se observó la necesidad de medir directa o indirectamente (ver mas adelante) la depresión endogámica de *P. coccineus*.

IV.1.2. Polinizaciones controladas en el frijol *Phaseolus coccineus*.

Para poder medir la depresión endogámica se necesita controlar experimentalmente el grado de endogamia de los grupos a comparar (auto y entrecruza), en este caso con polinizaciones manuales, excluyendo los eventos de polinización natural.

Para el caso de *P. coccineus*, este tipo de experimentos son difíciles, ya que las plantas presentan altas tasas de aborción de flores y frutos. En 1992 se intentó hacer este trabajo con un grupo de 52 individuos donde se polinizaron manualmente un total de 156 flores obteniendo al final tan sólo 4 frutos para 12 semillas. Con estos resultados se sesga un análisis estadístico. Considerando estas tasas de aborción se necesitarían 1365 flores tratadas en cuatro o cinco semanas para obtener al final alrededor de 100 semillas para hacer una comparación.

Por esta razón en este trabajo sólo se pudieron tener medidas indirectas que nos dan una idea aproximada del efecto de la endogamia en la evolución del sistema reproductivo de esta especie.

IV.2. Material y métodos.

IV.2.1. Diversidad genética.

En primer término se analizaron los índices de diversidad genética, ya que esta es una medida indirecta del vigor genético de la población (Tabla IV.1). Así mismo se comparó la heterocigosis observada por conteo directo con la que se espera en Hardy-Weinberg (Tabla IV.2.). Se usó el programa BIOSYS-1 (Swofford y Selander, 1981) para obtener los índices de diversidad

genética, y los valores esperados en Hardy-Weinberg.

IV.2.2. Estimación indirecta con t y F.

Posteriormente se analizó el coeficiente de endogamia por alozima contra la tasa de entrecruzamiento y con estos datos se calculó la adecuación de los hijos de autocruza con respecto a la de los de entrecruzamiento. Cada valor individual (por enzima) se promedió y con base en ese promedio se calculó un error estandar para probar la significancia de cada estimación. Al cociente obtenido se resto de uno, para tener una medida de la depresión endogámica ($DE=1-W_a/W_e$).

Para medir la depresión endogámica de manera indirecta según (Ritland, 1989) hay que estimar el coeficiente de endogamia F y la tasa de autofecundación (s) para utilizar la siguiente formula (cuando hay equilibrio de endogamia):

$$\frac{W_a}{W_e} = \frac{2(1-s)F}{s(1-F)}$$

donde W_a es la adecuación de los hijos de autofecundación y W_e de los hijos de entrecruza (esta formula puede tomar valores de $-\alpha$ a α). Esta ecuación fue empleada aquí para darnos una idea de si era posible estimar los efectos de la endogamia vía estos dos estimadores. Se usó el programa MLT para estimar la tasa de entrecruzamiento para un locus y el coeficiente de endogamia (Ritland, 1990).

IV.2.3. Invernadero.

Se tomaron 258 semillas de la colecta en el Bosque de Tlalpan en 1990 y se crecieron durante 26 semanas en el invernadero del Centro de Ecología. Se usaron 86 macetas con tres individuos por maceta puestas al azar dentro del área asignada. Las plantas fueron crecidas en tierra de hoja con 10% del volumen con fertilizante orgánico y 5% con arena. El riego se realizó

automáticamente con un sensor de humedad. Se censaron las plantas cada 3 o 4 semanas para registrar las plantas sobrevivientes.

Los datos de campo se agruparon para dos "estrategias" de apareamiento, es decir, se formaron dos grupos de plantas dependiendo de su tasa de entrecruzamiento ($t < 1$ un grupo y $t = 1$ otro grupo). Con el supuesto de las dos estrategias reproductivas se procedió a analizar la sobrevivencia de los hijos colectados en 1990, en el invernadero durante 26 semanas, es decir desde semillas hasta la etapa reproductiva, para la población de Tlalpan. Las curvas de sobrevivencia fueron analizadas con la prueba de Peto y Peto sugerida por Pike y Thomson (1986).

IV.2.4. Endogamia y producción de frutos y semillas.

Dado que los tratamientos del inciso anterior abarcan dos grupos en una escala muy gruesa ($t > 1$ y $t = 1$), se pensó que midiendo el efecto de la endogamia en una escala continua sería más fácil detectar algún evento de depresión endogámica. De tal forma se hizo un análisis de correlación entre el número de frutos y semillas contra diferentes niveles de endogamia calculados a partir del equilibrio, usando las estimaciones de la t por familia ($F = 1 - t/1 + t$). El número de frutos y semillas se midió de la siguiente forma:

- número de frutos por planta: con un contador manual se censó el número de vainas ya maduras para cada planta madre en el campo.
- número de semillas maduras por plantas: de las vainas colectadas se contó el número de semillas maduras que había para cada familia genética.

Las correlaciones se estimaron con el programa STATGRAPHICS en el módulo de regresión lineal simple.

IV.3. Resultados

IV.3.1. Diversidad genética

La diversidad genética por enzima para cada población se presenta en las Tablas IV.1

Tabla IV.1 Índices de heterocigosis para *Phaseolus coccineus* tomando el conteo directo de los datos. En esta tabla se presentan los valores de Tlalpan (1990, 1991 y 1992) y Manantlán (1991 y 1992).

Población	Año	Heterocigosis por enzima (conteo directo)					
		AcPh	MDH	PGM-1	PGM-3	DIA	GOT
Tlalpan	1990	0.386	0.057	0.000	0.333	0.320	0.773
	1991	0.568	0.390	0.246	0.263	0.316	0.509
	1992	0.540	0.3528	0.465	0.598	0.586	0.573
Manantlán	1991	0.411	0.434	0.300	0.438	0.619	0.434
	1992	0.406	0.706	0.412	0.000	0.504	0.645

De la Tabla IV.1. se puede observar que la heterocigosis en general se incrementa en cada año de análisis, aunque no es completamente igual para todas las enzimas en todos los años, ya que en 1990 en la población de Tlalpan no se detectó heterocigosis para la enzimas PGM-1, al igual que en Manantlán (1992) en PGM-3.

También, se presentan los valores de heterocigosis observada promedio para todas las enzimas, la esperada en Hardy-Weinberg, los intervalos de confianza al 95% con una distribución normal y los coeficientes de endogamia, para la progenie y las plantas madre en las dos subespecies (Tabla IV.2)

Tabla IV.2 Índice de heterocigosis observada por conteo directo comparada contra lo esperado en Hardy-Weinberg (H-W) en *Phaseolus coccineus*. Se muestran los intervalos de confianza al 95% y el coeficiente de endogamia ($F=1-H_o/H_e$) para cada población, en cada uno de los años de muestreo.

Población	Año	H _o observada	intervalo 95%	H _e H-W	intervalo 95%	F
Tlalpan	Madre	0.478	0.172	0.484	0.112	0.012
	1990	0.312	0.222	0.496	0.155	0.371
	1991	0.382	0.106	0.548	0.061	0.303
	1992	0.548	0.039	0.543	0.071	-0.009
Manantlán	Madre	0.481	0.073	0.399	0.070	-0.204
	1991	0.439	0.082	0.552	0.049	0.205
	1992	0.446	0.200	0.530	0.061	0.158

De la Tabla IV.2 se ve que los intervalos de confianza calculados al 95% se sobrelapan para lo observado y lo que se esperaría en Hardy-Weinberg. Se presenta también, los índices de fijación promediando para todas las enzimas en cada año de cada población. En Tlalpan las plantas madres tienen una F que no es distinta de cero, para la descendencia en 1990 y 1991 el coeficiente de endogamia es positivo y distinto de cero, esto quiere decir que, hay un exceso de homocigos en las semillas colectadas en estos años. En 1992 el valor registrado no es distinto de cero.

En la población de Manantlán las plantas madres son estadísticamente distintas de cero y con signo negativo, lo cual quiere decir que hay un exceso de heterocigos. Por el contrario en los dos años de datos para las semillas se tienen valores de F positivos y estadísticamente distintos de cero.

IV.3.2. Estimación indirecta con t y F.

Usando el método indirecto propuesto por Ritland (1989) para medir la depresión endogámica se obtuvo lo siguiente (Tablas IV.3 y IV.4), para las dos poblaciones durante los años del muestreo.

Tabla IV.3 Estimación de la depresión endogámica a través de los índices de fijación y la tasa de entrecruzamiento (Ritland 1989) en *Phaseolus coccineus*. Para la población de Tlalpan. Las abreviaturas son: t es la tasa de entrecruzamiento multilocus calculada con el programa MLT, F es el coeficiente de endogamia calculado con el programa BIOSYS-1 y δ es la depresión endogámica calculada como en Ritland, (1989).

Isoenzimas (Tlalpan)									
	AcPh	MDH	PGM-1	PGM-3	GOT	DIA	PGI	Promedio	Intervalo al 95%
t	0.634	0.001	----	----	0.999	0.703	----		
F	0.382	0.595	----	----	-0.300	0.118	----		
δ_{1990}	-1.142	0.997	----	----	0.0765	0.367	----	0.0747	0.120
t	0.958	0.701	0.620	0.389	0.736	0.322	0.205		
F	0.337	0.607	0.292	0.435	-0.300	0.016	-0.300		
δ_{1991}	-22	-6.20	-0.345	0.0197	2.287	0.985	1.111	-3.481*	3.143
t	0.884	1.000	0.984	0.901	1.000	0.773	0.979		
F	0.278	0.900	0.467	0.167	-0.300	-0.014	0.261		
δ_{1992}	-4.86	2.66	-0.07	-2.60	-0.30	1.09	-2.2	-0.897	5.09
Isoenzimas (Manantlán)									
	AcPh	MDH	PGM-1	PGM-3	GOT	DIA	PGI	Promedio	Intervalo al 95%
t	0.613	1.264	0.629	0.788	0.001	1.547	0.582		
F	0.649	-0.300	-0.218	0.247	-0.300	-0.300	-0.300		
δ_{1991}	-4.858	-1.210	1.607	-1.438	1.000	-0.305	1.643	-0.509	0.732
t	0.464	1.216	0.920	----	0.260	1.114	1.251		
F	0.124	-0.300	-0.290	----	-0.300	-0.199	0.800		
δ_{1992}	0.755	-1.598	6.300	----	1.162	-3.51	4.99	1.350	1.582

* distinto de cero

Los resultados de la Tabla IV.3 y IV.4 muestran un rango de variación muy alto, pero se puede tener una idea del efecto de la endogamia en el sistema reproductivo. Para la población de Tlalpan en dos años consecutivos la depresión endogámica fue distinto de cero y negativa lo que

nos muestra una mayor adecuación para los hijos de autofecundación. En todos los demás resultados no hubo diferencias con valores de 0.

IV.3.3. Invernadero.

Los resultados del invernadero se presentan en la Tabla IV.4, durante 26 semanas, las categorías de edad son números arbitrarios que se asignaron en la tabla.

Tabla IV.4. Supervivencia de los hijos de madres con dos estrategias de cruzamiento en *Phaseolus coccineus*. En este caso ($t < 1$) son las semillas producidas por una planta madre que tiene algún grado de autofecundación y $t = 1$ son aquellas semillas que provienen de una madre que exclusivamente se entrecruza. El tiempo en que se registro el censo fue desde semillas (categoría 1) hasta la producción de flores (categoría 7) después de 6 meses.

Categoría de Edad	Tiempo (semanas)	Supervivencia $t < 1$	Supervivencia $t = 1$
1	0	82	93
2	3	71	82
3	6	59	71
4	11	39	41
5	17	34	37
6	23	26	21
7	26	22	13

Con esto se observa, que no existen diferencias en la supervivencia en el invernadero para los hijos producidos de madres que no se autofecundan y las que si los hacen ($X^2 = 1.1$ gl=1 $p > 0.1$). Así es posible pensar que no hay evidencia de que los hijos de madres con $t_m < 1$ sean menos viables que los de madres de $t_m = 1$.

IV.3.4. Endogamia y producción de frutos y semillas.

En las siguientes figuras se muestra la correlación de coeficiente de endogamia estimado para cada familia a partir de la t_m (suponiendo equilibrio de endogamia), contra dos variables; número de frutos, y el seed set, que nos muestran la contribución familiar a las siguientes generaciones.

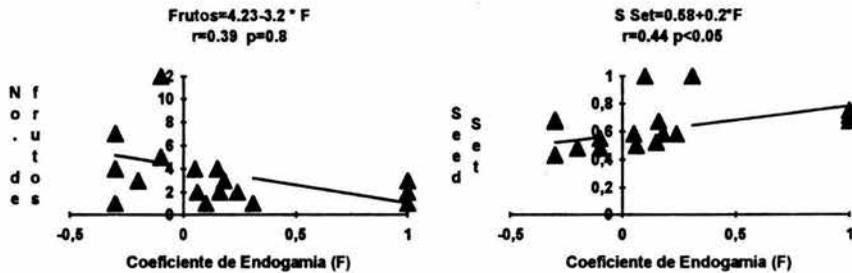


Figura IV.1. Producción de Frutos y Semillas con diferentes niveles de endogamia en *Phaseolus coccineus* para la población de Manantlán (1991)

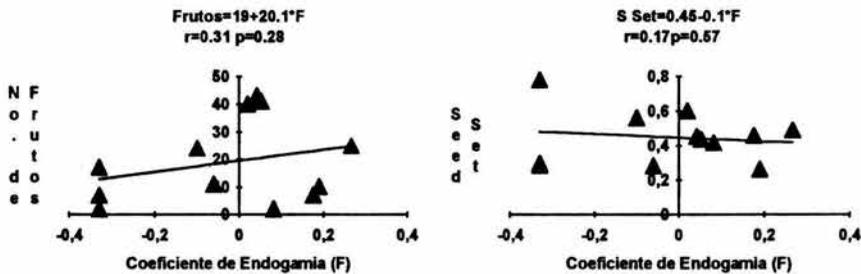


Figura IV.2. Producción de Frutos y Semillas con diferentes niveles de endogamia en *Phaseolus coccineus* para la población de Manantlán (1992)

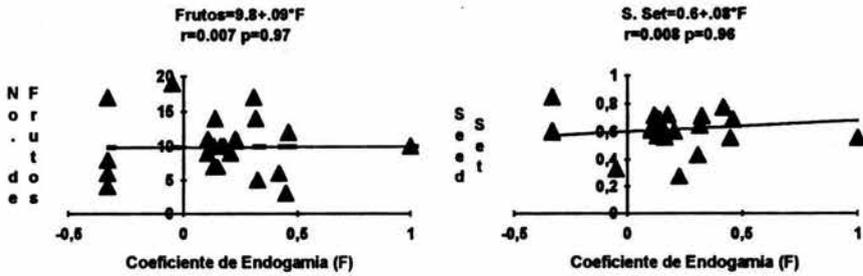


Figura IV.3. Producción de Frutos y Semillas con diferentes niveles de endogamia en *Phaseolus coccineus* para la población de Tlalpan (1990)

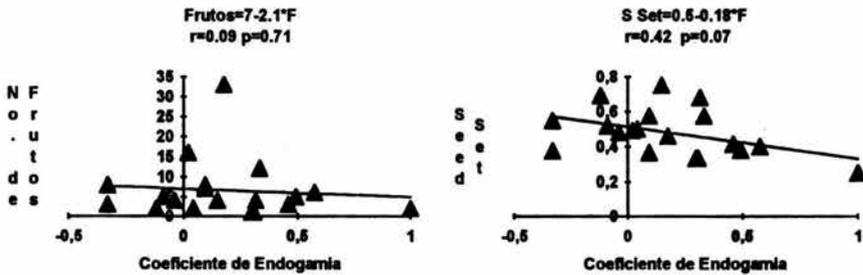


Figura IV.4. Producción de Frutos y Semillas con diferentes niveles de endogamia en *Phaseolus coccineus* para la población de Tlalpan (1991)



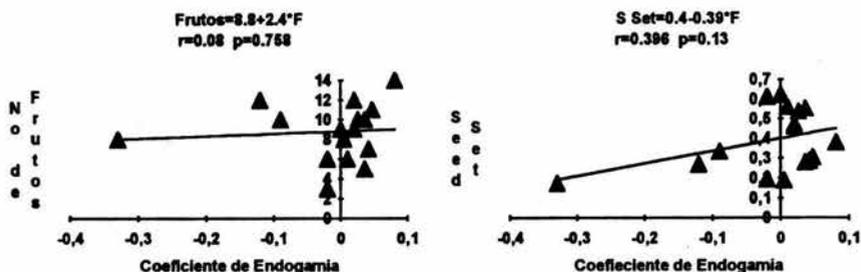


Figura IV.5. Producción de Frutos y Semillas con diferentes niveles de endogamia en *Phaseolus coccineus* para la población de Tlalpan (1992)

De las figuras (IV.1. a la IV.5.) se ve que solamente en Manantlán (1991) hay un efecto positivo de la endogamia en la producción de semillas (seed set). En el resto de los casos no se encontró efecto alguno del coeficiente de endogamia con estas dos variables.

IV.4 Discusión.

IV.4.1. Diversidad genética

Los valores de la heterocigosis tanto por enzima como los promedios son altos, mucho mayores en GOT, DIA y AcPh que en MDH, PGM-1 y PGM-3. Al comparar con otras especies de angiospermas dicotiledoneas Hamrick y Godt (1989) reportan un promedio de $H = 0.096 \pm 0.0005$, lo cual pone al frijol por arriba de este promedio. Con lo que respecta a otras características del ciclo de vida, las plantas herbáceas perennes como el frijol también están muy por debajo de lo reportado aquí ($H = 0.084 \pm 0.028$). Esto hace pensar que en el frijol el sistema reproductivo y la selección natural (si es que hay sobredominancia) están manteniendo niveles altos de variación. Otra posibilidad es que en estas isoenzimas exista un proceso de mutación y deriva que mantenga altos niveles de variación, dado que es muy probable que sean loci neutrales

(Kimura, 1983; Hedrick, 1984; Futuyma, 1987). Sin embargo, la tasa de entrada de nuevos alelos a la población debe ser alto (vía flujo génico o mutaciones), pero no existen trabajos que lo reporten en *P. coccineus*.

En lo que respecta a las diferencias del coeficiente de endogamia de las plantas madre y las semillas, se puede interpretar estas diferencias como signos de depresión endogámica como en *Astrocaryum mexicanum* (Eguiarte et al, 1992). En el siguiente apartado se va a tratar con mas detalle la relación de \bar{F} y \bar{t} con la depresión endogámica, aquí podemos decir que este resultado es la única evidencia indirecta de que en esta especie se presenta depresión endogámica en alguna parte del ciclo de vida. No es sencillo dar una interpretación alternativa ya que como menciona Ritland (1990) los cambios para disminuir el coeficiente de endogamia en distintas generaciones es un reflejo de un proceso de selección contra la descendencia de una cruce endogámica (uni o biparental).

IV.4.2. Estimación indirecta con \bar{t} y \bar{F} .

Las medidas de depresión endogámica de forma indirecta a través del coeficiente de endogamia y la tasa de autofecundación, muestran una gran variabilidad por enzima. Dole y Ritland (1993) mostraron que para tener estimaciones no sesgadas se necesitan tamaños de muestra muy grandes (alrededor de 1,000 hijos por cada población). En el caso del frijol los tamaños de muestra estuvieron alrededor de 150 hijos, por lo que es muy probable que las estimaciones estén sesgadas. Esto puede ser el caso en los valores registrados en la enzima GOT, donde existe una heterocigosis grande y los valores de depresión endogámica son también muy altos. Aunque en el promedio con todas las enzimas no se encontró evidencia de depresión endogámica por los errores estandar tan grandes.

Aunque el método de estimación usando \bar{t} y \bar{F} haya sido usado con poca fortuna en el frijol ayocote, es un método que debiese ser seguido con mas interés, ya que a la fecha no ha habido muchos intentos por usarlo (Dole y Ritland, 1993). Una de las ventajas que este método tiene

sobre la mayoría de las formas de probar depresión endogámica es que se puede estimar directamente en el campo en poblaciones naturales, en condiciones donde la selección contra la descendencia de autocruza se esta efectuando y no bajo condiciones de control en invernaderos o parcelas experimentales.

IV.4.3. Invernadero

En el invernadero se hizo un análisis para conocer la sobrevivencia de dos grupos de plantas que tienen tasas de entrecruzamiento contrastantes (Tabla IV.5). El resultado obtenido es que las madres que permiten la autofecundación en algún grado ($t < 1$) tuvieron hijos igualmente viables que las madres que sólo tuvieron hijos de entrecruza ($t = 1$). El hecho de no haber encontrado diferencias entre estos dos grupos puede deberse a varios factores, uno de ellos es que en el invernadero el ambiente es menos drástico que en las poblaciones naturales por lo que la fuerza de la selección natural puede verse atenuada. Dudash (1990) mostró que las condiciones controladas en los invernaderos varían mucho de las que hay en el campo, por lo que es necesario buscar estimar la depresión endogámica en las poblaciones directamente. Otro posible factor, de la ausencia de depresión endogámica es que el evento de selección en contra de los hijos de autofecundación haya ocurrido antes de la germinación (aborción selectiva; Rocha y Stephenson, 1992) y por lo tanto al crecer las semillas en el invernadero ya no se detectó el evento de selección. Finalmente, no se puede descartar tampoco, que no exista depresión endogámica en estas poblaciones y aún usando métodos directos o mas finos no se podrá detectar.

IV.4.4. Endogamia y producción de frutos y semillas.

Para medir la depresión endogámica es necesario conocer las diferencias en todas las partes de ciclo de vida de los individuos endogámicos con los no endogámicos (Charlesworth y Charlesworth, 1987). Una parte importante es la etapa reproductiva en donde se pueden evaluar

las diferencias en fecundidad para dos estrategias reproductivas (Maki, 1990; Motten y Antonovics, 1992; Willis, 1993).

Lo que se hizo para *P. coccineus* fue correlacionar dos medidas del éxito reproductivo de una planta (número de frutos y seed set, Schemske y Horvitz, 1988; Louda, 1982 citado por Domínguez, 1990) con el coeficiente de endogamia por familia (generado por una planta madre). El tener una medida de la endogamia en un intervalo continuo donde existen familias genéticas con altos grados de endogamia y otras sin ella, permite tener una mejor aproximación que la hecha a partir con las dos estrategias de entrecruza ($t < 1$, $t = 1$) como en el análisis del invernadero.

Las gráficas (Figura V.1 a la V.5) muestran que no hay un efecto en la producción de frutos y semillas al aumentar la endogamia, salvo para la población de Manantlán en 1991 y marginalmente en Tlalpan para el mismo año. Ambas regresiones sobre el seed set muestran tendencias opuestas, mientras que en Tlalpan se tiene un efecto negativo de la producción de semillas al aumentar la endogamia en Manantlán es al revés, sería importante tener mas experimentos de germinación con estas semillas para tener datos de la existencia de depresión endogámica.

En *Mimulus guttatus* Willis (1993) comparó los porcentajes de germinación, floración, producción de frutos y viabilidad del polen en cuatro líneas provenientes de cruzas con diferentes grados de endogamia ($F=0$, $F=0.25$, $F=0.5$ y $F=0.75$), encontrando un efecto de la endogamia en todas las medidas excepto en el porcentaje de germinación. En el caso del frijol ayocote, las correlaciones no fueron tan significativas debido quizá, a que las líneas endogámicas no son producto de un programa de cruzas y aunque el rango de variación es igualmente amplio ($F=0$ hasta $F=1$) el efecto acumulativo de la endogamia en otras generaciones no necesariamente es el mismo que el de las líneas controladas.

Dole y Ritland (1993) midieron la adecuación de los hijos de autofecundación en dos especies de *Mimulus* durante tres generaciones con tasas de entrecruzamiento contrastantes. Sus resultados mostraron que en la población mas endogámica hubo menos depresión endogámica, lo

cual apoya la idea de la dominancia parcial, donde las cruza endogámicas "purgan" genes letales (Charlesworth y Charlesworth, 1987). Existe también, evidencia que es contrario a los resultados de Dole y Ritland (1993), en *Begonia* Ågren y Schemske (1993) reportan altas tasas de autofecundación con altos niveles de depresión endogámica, lo que apoyaría la hipótesis de que la depresión endogámica se debe a la ventaja del heterócigo. En *P. coccineus*, la depresión endogámica probablemente actúe de forma débil ya que plantas con altas tasa de endogamia no producen necesariamente descendencia menso vigorosa. Esto puede significar que se ha purgado el lastre genético en generaciones previas y que como en *Mimulus* la dominancia parcial de genes letales tenga un efecto en la adecuación de las plantas.

Consideraciones finales.

El objetivo de este capítulo fue conocer la magnitud de la depresión endogámica y para ello se usaron cuatro formas de probarla de manera indirecta. De los resultados no se pudo detectar algún efecto de la endogamia en la viabilidad, sobrevivencia y fecundidad de las plantas en *P. coccineus*. Por esta razón, se puede concluir que si bien es necesario probar con experimentos de cruza controladas y en condiciones de campo las diferencias entre los hijos de entre y autocruza, la depresión endogámica no es tan fuerte en estas poblaciones, de forma que se pueda detectar de manera indirecta.

Literatura citada

- Ågren, J. y D.W. Schemske. 1993. Outcrossing rate and inbreeding depression in two annual monoecious herbs, *Begonia hirsuta* and *B. semiovata*. Evolution 47:125-135.
- Charlesworth, D. y B.Charlesworth. 1987. Inbreeding depression and its evolutionary consequences. Ann. Rev. Ecol. Syst. 18:237- 268.
- Dole, J. y K. Ritland. 1993. Inbreeding depression in two *Mimulus* taxa measured by multigenerational changes in the inbreeding coefficient. Evolution 47:361- 373.
- Domínguez, C. 1990. Consecuencias ecológicas y evolutivas del patrón de floración sincrónico y masivo de *Erythroxylum havanense* Jacq. (Erythroxylaceae). Tesis Doctoral. Centro de Ecología UACPyP/CCH, UNAM. México 168 p.
- Dudash, M. A. 1990. Relative fitness of selfed and outcrossed progeny in a self-compatible, protandrous species. *Sabatia angularis* L. (Gentianaceae): A comparasion in three enviroments. Evolution 44:1129-1139.
- Eguiarte, L.E. 1990. Genética de Poblaciones de *Astrocaryum mexicanum* Liebm. en los Tuxtlas, Veracruz. Tesis Doctoral Centro de Ecología/UACPyP, UNAM. México 180 p.
- Eguiarte, L.E., N Pérez y D. Piñero. 1992. Genetic structure, outcrossing rate and heterosis in *Astrocaryum mexicanum* (tropical palm): implications for evolution and conservation. Heredity 69:217-228.
- Escalante, A.M., G. Coello, L. Eguiarte y D Piñero. 1994. Genetic structure and mating system in wild and cultivated population of *Phaseolus coccineus* and *P. vulgaris* (Fabaceae). Amer. J.Botany 81:1096-1103.
- Falconer, D.S. 1981. Introduction to quantitative genetics. London Longman. 340 p.
- Futuyma, D. 1987. Evolutionary biology. Sinauer. 210 p.
- Hamrick, J.L. y M.J.W. Godt. 1989. Allozyme diversity in plants species. En A.H.D. Brown, M.T: Clegg, A.L. Kahler y B.S. Weir (eds.). Plants Population Genetics. Breeding and Genetic. Sinauer. 70 p.
- Hedrick, P.W. 1984. Genetics of Populations. Science Books Int. Boston. 290 p.
- Holsinger, K.E., 1988, Inbreeding depression doesn't matter, Evolution 42:1235-1244.
- Jarne, P. y D. Charlesworth. 1993. The evolution of the selfing rate in functionally hermaphrodite plants and animals, Annu.Rev.Ecol.Syst. 24:441-466

- Kimura, M. 1983. The neutral theory of molecular evolution. Cambridge University Press. Cambridge. 150 p.
- King, R.C. y W.D. Stansfield. 1990. A dictionary of genetics. 4a ed. Oxford University Press. Oxford. 405 p.
- Lande, R. y D.W. Schemske. 1985. The evolution of self-fertilization and inbreeding depression in plants. I. Genetic model. Evolution 39: 24-40.
- Lloyd, D.G. 1979. Some reproductive factors affecting the selection of self fertilization in plants. Amer. Nat. 113:67-79
- Maynard Smith, J. 1978. The evolution of sex. Cambridge Univ. Press, Cambridge.
- Maki, M. 1993. Outcrossing and fecundity advantage of females in gynodioecious *Chionographis Japonica* var *kurohimensis* (Liliaceae). Amer. J. Botany 80:442-7.
- Motten, A.F. y J. Antonovics. 1992. Determinants of outcrossing rate in a predominantly self-fertilizing weed. *Datura stramonium* (Solanaceae). Amer. J. Botany 79:419-427.
- Pike, D.A. y J.N. Thompson. 1986. Statistical analysis of survival and removal rate experiments Ecology 67:240-245.
- Ritland, K. 1989. Gene identity and the genetic demography of plants population En A.H.D. Brown, M.T. Clegg, A.L. Kahler y B.S. Weir (eds.). Plants Population Genetics. Breeding and Genetic. Sinauer. 110 p.
- Ritland, K. 1990. A series of FORTRAN computer programs for estimating plant mating system. J. Hered. 81 (3):235-236.
- Ritland, K. y S.K. Jain. 1981. A model of the estimation of outcrossing rate and gene frequencies using independent loci. Heredity 47:35-52.
- Rocha, O.J. y A.G. Stephenson. 1991. Effects of nonrandom seed abortion on progeny performance in *Phaseolus coccineus* L.. Evolution 45:1198-1208.
- Schemske, D.W. y C.C. Horvitz. 1988. Plant animal interaction and fruit production in a neotropical herb: a path analysis. Ecology 69 (4):1128-1137
- Stebbins, G.L. 1957. Self fertilization and population variation in the higher plants. Am. Nat. 91:337-354.
- Swofford, D.L. y R.B. Selander. 1981. BIOSYS-1: a FORTRAN program for the

comprehensive analysis of electrophoretic data in population genetics and systematics. The Journal of Heredity 72:281-283.

- Uyenoyama, M.K. y D.M. Waller. 1991. Coevolution of self-fertilization and inbreeding depression I. Mutation-Selection balance at one and two loci. Theor. Pop. Biology 40:14-46.

- Willis, J. 1993. Effects of different levels of inbreeding on fitness components in *Mimulus guttatus*. Evolution 47:864-876.

-Wright, S. 1979. Evolution and the genetics of populations Vol.4. Univ. Chicago Press.

CAPITULO V

ANÁLISIS DE SELECCIÓN

V.1. Introducción	
V.1.1. Selección natural y análisis de ruta	72
V.1.2. Selección natural sobre caracteres complejos.....	73
V.2. Material y métodos	
V.2.1. Variables medidas en el campo.....	75
V.2.3. Análisis estadístico.....	78
V.3. Resultados	
V.3.1. Diagramas de ruta.....	79
V.3.2. Coeficientes de efecto, directos e indirectos	82
V.3.3. Análisis de correlaciones entre las semillas maduras y la tasa de entrecruzamiento.....	84
V.3.4. Nuevo modelo de rutas para Tlalpan y Manantlán	85
V.4. Discusión	
V.4.1. Modelos.....	88
V.4.2. Correlaciones.....	90
V.4.3. Selección natural.....	91
Consideraciones finales.....	92
Literatura citada	93

ANÁLISIS DE SELECCIÓN

V.1. Introducción

V.1.1. Selección natural y análisis de ruta

Para conocer el efecto de la selección natural sobre un carácter fenotípico se ha propuesto una serie de análisis, como la regresión lineal múltiple y al análisis de rutas (Wright, 1934; Lande y Arnold, 1983; Arnold y Wade, 1984). Para trabajar con la regresión lineal se deben de hacer dos supuestos fundamentales: 1) que la relación de un grupo de caracteres con la adecuación sea completa (que no haya caracteres faltantes) y 2) que el grupo de variables predictoras interactúan independientemente en su efecto con la adecuación (Crespi, 1990). Sin embargo, es muy difícil cumplir con estos supuestos en poblaciones naturales. Para salvar estos problemas se pueden transformar los datos (Mitchell-Olds y Shaw, 1987) o cambiar el análisis (Wright, 1934).

Cuando se transforman los datos para lograr la independencia entre las variables se hace un análisis de componentes principales en donde las variables originales se transforman en un nuevo grupo de variables ortogonales (independientes) que son una combinación lineal de nuestras antiguas medidas (Mitchell-Olds y Shaw, 1987). Sin embargo, no siempre se puede dar un sentido biológico a cada uno de los componentes principales, perdiendo capacidad explicativa este análisis (Crespi, 1990). Por otro lado el análisis de ruta ("path analysis") cambia los supuestos del modelo, haciendo válida la posibilidad de tener variables que no son independientes e inclusive variables no analizadas inicialmente en el modelo que posteriormente se pueden incorporar y el sentido biológico no solamente no se pierde, sino que es fundamental en la estructura del análisis (Crespi y Bookstein, 1989).

El análisis de ruta lo podemos definir como un conjunto de regresiones lineales (simples o múltiples) estructuradas en una red llamada diagrama de rutas, el cual hace gráfica la relación causal que hay entre las variables de estudio (Li, 1981; Pedhazur, 1982). Con este análisis nosotros podemos explicar una matriz de varianzas y covarianzas a partir de un grupo de variables que no son independientes necesariamente y que pueden

tener caracteres no medidos o faltantes que sirven como nuevas variables a medir e incorporar en posteriores hipótesis de causalidad (Crespi y Bookstein, 1989; Crespi, 1990). De esta forma, para tener un modelo general de selección natural usando el análisis de ruta se debe de analizar primero la covarianza entre las variables predictoras (variables independientes) y las variables no analizadas. Después la covarianza con las variables de adecuación y los componentes de estas variables en todo el ciclo de vida del organismo y finalmente evaluar el modelo de rutas propuesto como una hipótesis de causalidad entre variables (Crespi, 1990).

El análisis de ruta es, entonces, una herramienta que puede servir para conocer el efecto de diversas variables sobre medidas de la adecuación, como en *Calathea ovoidensis* donde Schemske y Horvitz (1988) midieron el efecto de las hormigas guardianes, cinco tipos de polinizadores y un herbívoro sobre la producción de frutos y semillas. En este tipo de análisis se puede conocer el efecto en la adecuación por interacciones directas e indirectas de los herbívoros y las hormigas guardianas y, si existiera alguna presión de selección, cómo se afecta o cambia el sistema completo. En este análisis estadístico se tiene la ventaja de poder conocer el ajuste del modelo con respecto a nuestros datos y comparar si es que otro modelo es una mejor aproximación a través de una χ^2 (Mitchell, 1992)

De esta forma si a uno le interesa realizar un estudio de selección natural fenotípica debe tener una herramienta estadística como el análisis de ruta para poder conocer las relaciones complejas entre las variables de selección, (Crespi y Bookstein, 1989; Crespi, 1990).

V.1.2. Selección natural sobre caracteres complejos.

La selección natural modifica las frecuencias alélicas de los genes involucrados en la expresión de los caracteres sujetos a selección. Esta modificación puede afectar la media y la varianza en el carácter seleccionado de las generaciones subsecuentes a la selección, tanto cómo en otros caracteres asociados por el ligamiento genético.

Por estos mecanismos un par de caracteres (X y W) pueden ser el producto de la

expresión de un gen, lo cual resulta en una asociación de caracteres en el fenotipo. En consecuencia, cuando en el proceso de la selección se modifica la expresión de una de estas características (X) también se modifica por lo menos en parte la expresión de la segunda característica (W).

Cuando se examinan caracteres como la tasa de entrecruzamiento, que generalmente tienen una baja heredabilidad, puede ocurrir algún tipo de selección indirecta con otros componentes fenotípicos con los cuales está correlacionada. Muchas veces dichos componentes se encuentra interrelacionados entre si de forma diversa (Figura V.1).

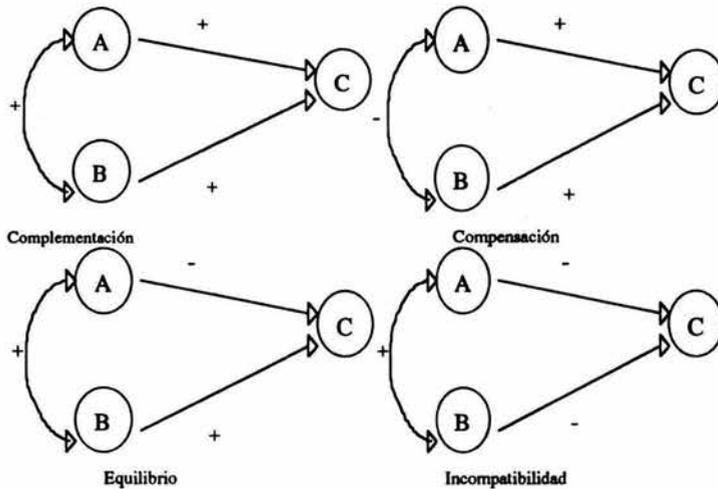


Figura V.1 Formas en las cuales se pueden relacionar caracteres complejos. En este caso "C" es la variable de interés y "A", "B" las variables correlacionadas (Marioti, 1986).

En la figura V.1 se presentan formas típicas de la interacción que puede ocurrir entre caracteres correlacionados (Marioti, 1986). En estos diagramas "C" es el carácter de interés y "A", "B" son los caracteres que lo determinan. En el caso definido como complementación A y B están asociados positivamente entre sí y con C. La selección sobre cualquiera de estas tres características acciona todo el sistema y acelera un rápido aumento del carácter C. El caso de compensación establece un sistema en que el progreso de C se ve dificultado por la selección de A y/o B. Así, la selección al aumentar A que

determina un efecto directo sobre C se puede compensar por la correlación negativa entre A y B esta ultima afectando directa y positivamente a C. El caso de equilibrio es similar a la compensación ya que al aumentar B se aumenta C pero también aumenta A que hace disminuir a C, por lo que el resultado final anula y dificulta el incremento en C. Por último la incompatibilidad hace que C siempre disminuya al aumentar cualquiera de los dos componentes A y/o B.

En este trabajo se pretenden conocer por un lado, los factores que afectan la tasa de entrecruzamiento a nivel familia y población, y por otra parte, los factores que gobiernan la producción de semillas maduras y el papel que juega la tasa de entrecruzamiento en la producción de estas semillas.

V.2. Material y métodos.

V.2.1. Variables medidas en el campo

A continuación se menciona la forma en que se tomaron las medidas de las variables usadas para el análisis de ruta, el diagrama propuesto como una primera aproximación de los datos y por último la justificación del modelo.

1) Color de los pétalos (CLR): con una tabla cromática para diseño gráfico (Guía TyT, 1990) se determinó el color de cada flor de la siguiente manera. Primero con la tabla de gama del naranja (combinaciones de amarillo, magenta y negro) se compararon a ojo de dos a cinco flores por planta (dependiendo del número de flores disponibles). Si no se encontraba el tono, entonces se procedió a usar la tabla tricrómica de combinaciones de azul, magenta y amarillo. Una vez encontrado el color se registró el porcentaje de magenta (rojo) de dicho color.

2) Longitud de los pétalos (LP): con un vernier se midieron entre dos y cinco flores por planta tomando la longitud de los pétalos desde el cáliz hasta la punta del estandarte. Las flores medidas fueron tomadas en dos días consecutivos, a la mitad de la época de floración (agosto en Tlalpan y noviembre en Manantlán).

3) Longitud de la quilla (LQ): se usaron las mismas flores que en los casos anteriores para medir el largo de la quilla. Esta medida se realizó tomando desde la base de los pétalos

que forman la quilla hasta la punta .

4) Densidad de individuos reproductivos (DEN): se contó el número de individuos reproductivos en un cuadro de 21 X 21m, ubicando al individuo focal al centro del cuadro. El tamaño del cuadro se decidió en base al área de la vecindad genética reportada para plantas polinizadas por colibríes (Eguiarte et al., 1994).

5) Porcentaje de heterocigosidad (HET): a partir de los loci analizados se contó el número de enzimas heterocigas que había mostrado un individuo y se dividió entre el total de enzimas ensayadas para ese individuo. Este índice nos da una idea de la heterocigosidad individual, considerando un grupo de aloenzimas que son polimórficas en la población.

6) Tamaño de la planta (TAM): debido a que el frijol es una planta que renueva la parte aérea cada año, se consideró que la estructura de perenación daba una buena medida del tamaño de la planta ya que en la raíz se encuentran las reservas con las que va a construir tallos, hojas y flores en cada temporada (Fernández, 1979). Para medir el tamaño de la raíz se tomó el diámetro mayor y el menor del área ocupada por la parte más superficial aproximando a la superficie de un elipse.

7) Número de botones florales (BOT): con un contador de mano se censó el número de botones florales para cada una de las plantas marcadas en un día del pico de floración de cada población.

8) Número de flores (FLO): al igual que en el caso del número de botones por planta, con un contador manual se censó el número de flores ya abiertas por planta. Aunque con esta medida no se tiene una estimación de todo el esfuerzo reproductivo de un individuo (en cuanto a flores y botones se refiere) si nos indica el éxito probable de entrecruzar polen en la época en que mayor actividad existe, es decir, hay mayor número de flores posibles para entrecruzarse.

9) Densidad de flores (DF): se estimó la densidad de flores en el mismo cuadro mencionado antes de 21 m², sumando el número de flores censadas por planta para todos los individuos reproductivos registrados en el cuadro.

10) Tasa de entrecruzamiento multilocus (TM): con el programa MLT de Ritland (1990), se estimó la tasa de entrecruzamiento multilocus por familia genética, es decir, para cada

planta progenitora usando entre 4 y 15 semillas por familia (ver metodología capítulo III).

11) Número de frutos (VA): al final de la temporada reproductiva se censó el número de vainas ya maduras para cada planta madre en el campo usando un contador de mano.

12) Número de semillas maduras (SEM): de las vainas colectadas se contó el número de semillas maduras por planta

13) Número de semillas abortadas (AB): de las vainas colectadas se contó las semillas que no terminaron su desarrollo como el número de abortos por planta madre

14) Semillas dañadas (COM): se contó también, el número de semillas dañadas por hongo, insectos, etc. para cada vaina en la planta madre.

El diagrama de rutas propuesto inicialmente es el siguiente:

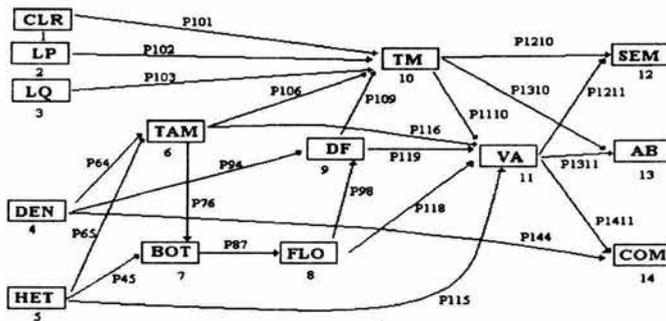


Figura V.2. Diagrama de Rutas que relaciona 14 variables medidas en *Phaseolus coccineus* con 23 coeficientes directos estimados. Donde P_{ij} corresponde al coeficiente de ruta de la variable j sobre la variable i

Las relaciones propuestas son las siguientes:

La densidad de individuos reproductivos afecta al tamaño de la planta debido a que se puede presentar competencia que determinen el tamaño de un individuo (Donald, 1951; Watkinson, 1984). También, la densidad de individuos reproductivos afecta la densidad de flores, así como la cantidad de semillas dañadas por insectos, hongos, etc. debido esto a que es posible que el daño se presente por efecto de contagio (Way y Cammell, 1970).

El porcentaje de loci heterocigos afecta el tamaño del individuo, el número de botones

florales y el número de frutos esto debido a que el vigor de la planta este determinado por su genotipo (Schwartz y Laughner, 1969; Eguiarte et al., 1992).

La tasa de entrecruzamiento está afectada por cinco variables tres de ellas son el color de los pétalos, longitud de la quilla y largo de los pétalos, que son caracteres florales que se han relacionado con la actividad de los polinizadores (Mitchell, 1992). y las otras dos son la densidad de flores (que también afecta la actividad de los polinizadores) y el tamaño del individuo que puede ser un reflejo del vigor de la planta afectando el sistema reproductivo (Morgan y Barrett, 1989).

La relación del número de flores y botones es directa (Schemske y Horvitz, 1988) y se espera que el número de botones se afecte por el tamaño y el genotipo de la planta (Morgan y Barrett, 1989).

Por otro lado el número de frutos (vainas) producidas por una planta según este modelo se ve afectado por la tasa de entrecruzamiento, con lo cual se intenta probar si hay relación del sistema reproductivo y la producción de vainas (Morgan y Barrett, 1989). También es afectada por el tamaño de la planta, lo que pretende probar esta ruta es el efecto del vigor y la limitación por recursos en la producción de frutos (Begon et al., 1986). La heterocigosidad también afecta la producción de frutos por efectos del genotipo materno (mientras más heteróciga una planta mayor producción de vainas). Por último el número y la densidad de flores afectan la producción de vainas debido a que la inversión que hace una planta en flores restringe la producción de frutos y la densidad de flores que abren en un día que afecta la probabilidad de polinizar una flor (Mitchell, 1992).

La producción de semillas maduras y el número de semillas abortadas en este modelo están afectadas por el numero de frutos (Begon et al., 1986), es decir que la cantidad de frutos restringe el número de semillas maduras y abortadas. Además de que, para esta especie se ha reportado una relación inversa de la tasa de entrecruzamiento con la aborción de semillas (Escalante et al., 1994).

V.2.2. Análisis estadístico.

Como ya se mencionó, el primer paso es hacer un diagrama que refleje una relación

causal entre las variables que se prueba como hipótesis causal. En este trabajo se presenta un diagrama que asocia las 14 variables. Los coeficientes de ruta se obtuvieron del programa SYSTAT y los coeficientes de efecto, directos e indirectos se midieron con el método matricial descrito en Pedhazur (1982)

El ajuste de cada ecuación se midió a través de la R^2 y el ajuste total con una ji-cuadrada (Pedhazur, 1982; Mitchell, 1992), de la siguiente forma:

$$X^2 = -(d-N) \ln (S/M)$$

donde d = el número de rutas eliminadas a partir de un modelo saturado, N es el tamaño de muestra, S la multiplicación de los errores de cada ecuación en un modelo saturado y M , la del modelo considerado aquí (Pedhazur, 1982).

V.3. Resultados

V.3.1. Diagramas de rutas

El diagrama que se propone para las 14 variables referidas se muestra a continuación en la Figura V.3 y la matriz de correlaciones en la Tabla V.1 donde se puede observar cual es la estructura de variación conjunta de las variables medidas.

Tabla V.1. Matriz de correlaciones de Pearson estimada con el programa SYSTAT en *Phaseolus coccineus*. Arriba de la diagonal corresponde a la población de Tlalpan y abajo de la diagonal para Manantlán. Los números en negritas son significativos al 95%. Las abreviaturas se describen en el texto.

	clr	lp	lq	den	het	tam	bot	flo	df	tm	va	sem	ab	com
clr	1	0.27	-0.15	0.47	-0.50	-0.04	-0.2	-0.11	0.09	-0.10	0.27	0.32	0.39	-0.4
lp	0.30	1	0.06	-0.12	-0.10	0.01	0.18	0.28	-0.06	0.30	0.43	0.40	0.40	0.48
lq	0.02	0.79	1	0.15	-0.57	0.03	-0.1	-0.01	-0.14	-0.11	0.35	0.25	0.60	-0.2
den	0.19	0.02	-0.07	1	-0.44	0.39	0.10	0.37	0.61	-0.03	-0.15	-0.18	-0.07	-0.4
het	0.25	0.21	0.02	0.73	1	-0.1	0.01	-0.15	0.18	-0.08	-0.22	-0.09	-0.36	0.02
tam	0.24	0.02	-0.24	0.32	0.01	1	0.82	0.80	0.68	-0.30	0.07	-0.08	0.05	0.40
bot	0.04	-0.38	-0.25	0.05	-0.04	-0.27	1	0.91	0.62	0.021	0.51	0.40	0.38	0.74
flo	-0.28	-0.59	-0.43	0.05	-0.21	-0.27	0.88	1	0.71	0.097	0.43	0.30	0.34	0.63
df	0.22	-0.2	-0.22	0.81	0.57	-0.09	0.46	0.32	1	-0.22	0.12	0.09	0.08	0.05
tm	0.02	-0.29	-0.26	-0.19	-0.15	-0.1	-0.23	-0.05	-0.14	1	0.31	0.38	0.15	0.31
va	0.16	-0.14	-0.18	-0.25	-0.03	-0.14	-0.08	-0.1	-0.2	0.20	1	0.97	0.95	0.51
sem	0.09	0.05	0.11	-0.41	-0.18	-0.22	-0.11	-0.19	-0.36	0.14	0.91	1	0.90	0.40
ab	0.29	-0.05	-0.37	0.21	0.37	0.16	-0.18	-0.1	0.12	0.45	0.70	0.47	1	0.34
com	0.06	-0.31	-0.25	-0.31	-0.1	-0.25	0.01	0.02	-0.18	0.12	0.94	0.83	0.52	1

Esta matriz, muestra por encima de la diagonal las correlaciones en Tlalpan, para el año 1991 y por debajo para Manantlán en el mismo año. A partir de estas correlaciones se obtuvieron los siguientes diagramas:

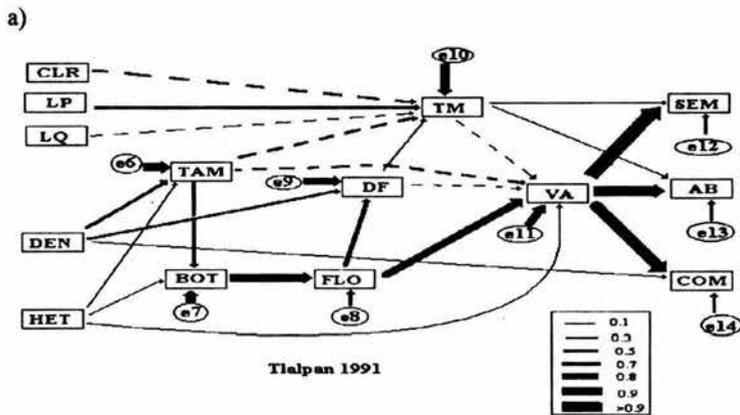


Figura V.3. Diagramas de Rutas para *Phaseolus coccineus* en la población de Tlalpan en 1991. El ancho de la línea indica el valor de la interacción. La línea continua muestra un efecto positivo mientras que la punteada un efecto negativo. Las abreviaturas se describen en el texto.

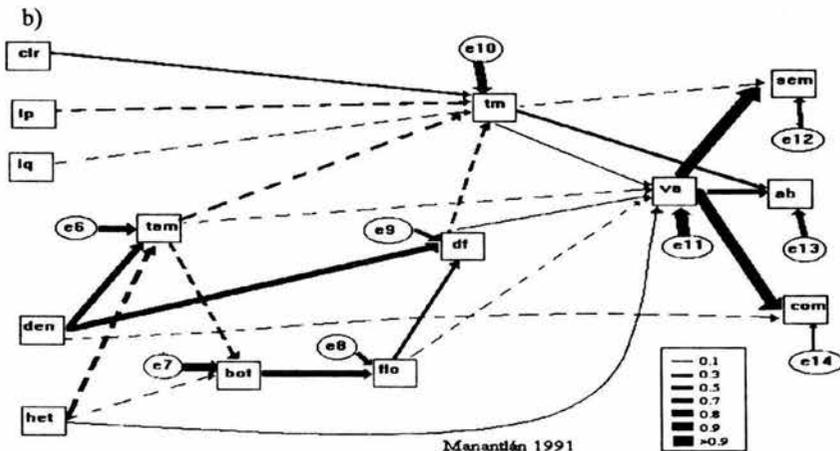


Figura V.3. Diagramas de Rutas para *Phaseolus coccineus* en la población de Manantlán en 1991. El

ancho de la línea indica el valor de la interacción. La línea continua muestra un efecto positivo mientras que la punteada un efecto negativo. Las abreviaturas se describen en el texto.

A continuación se describe el efecto sobre las cuatro variables endógenas (tm, va, sem y ab) mas importantes en ambas poblaciones:

a) Población de Tlalpan (1991)

- Tasa de entrecruzamiento: la proporción de la varianza explicada para la tasa de entrecruzamiento en el modelo es no significativa ($R^2=0.228$, $p=0.90$), siendo el factor mas importante la longitud de los pétalos y el tamaño de la planta, este último afecta de manera negativa. También es importante notar que la densidad de flores tuvo un efecto directo positivo, aunque muy pequeño.

- Número de frutos: la varianza explicada en este análisis para el número de vainas por planta es $R^2=0.227$ ($p=0.70$) lo cual no es significativo. Siendo el número de flores por planta el factor que directamente mas afecta la producción de vainas. En lo que a la tasa de entrecruzamiento se refiere, esta actuó de forma débil y con signo negativo.

- Número de semilla maduras: la R^2 obtenida en este análisis fue significativa 0.969 ($p<0.001$). Es claro de la Figura V.3.a que el número de vainas por planta limita el número de semillas producidas finalmente por un organismo. En lo que respecta a la tasa de entrecruzamiento el efecto de esta fue muy pequeño y de signo positivo.

- Número de semillas abortada: la varianza explicada en este análisis para las semillas abortadas fue alta $R^2=0.888$ y significativa ($p<0.001$). Nuevamente aquí vemos que el número de frutos determina cuantas semillas se abortan. En lo que respecta a la tasa de entrecruzamiento existe una relación débil pero positiva, lo que nos diría que las plantas de entrecruza abortan mas semillas que las de autofecundación y este resultado es contrario a lo reportado por Coello y Escalante (1989) para la población de Tlalpan en 1987.

b) Manantlán 1991

- Tasa de entrecruzamiento: la varianza explicada aquí para la tasa de entrecruzamiento es

baja $R^2=0.193$ ($p=0.8$). De la Figura V.3.b es notorio que la relación de (t) con las variables independientes es de signo negativo (excepto el color de los pétalos). Esto nos indicaría que las flores mas pequeñas son las que tienen mayor tasa de entrecruza probablemente por estar mas expuestas (en una observación de campo se vió que las flores que están mas arriba en la inflorescencia son mas pequeñas).

- Número de frutos: la varianza explicada para el número de vainas producidas por planta fue del 10.8 % ($p=0.9$) lo cual no es significativo. La diferencia en las dos poblaciones es que aquí la relación entre la tasa de entrecruzamiento y el número de vainas fue positiva.

- Número de semillas maduras: en este caso la varianza explicada fue alta $R^2=0.839$ ($p<0.001$), debido a que el efecto del número de vainas es significativo (Figura V.3.b). Al analizar el efecto que tiene la tasa de entrecruzamiento vemos que es muy débil y que afecta de forma negativa el número de semillas maduras. Sin embargo, el efecto indirecto de la (t) si es importante como lo muestra la Tabla V.7.

- Número de semillas abortadas: la fue de $R^2=0.582$ y la significancia de $p=0.005$. La relación con la tasa de entrecruzamiento es de signo negativo lo que refleja al igual que en Tlalpan una relación no esperada, de mayor probabilidad de aborción cuando hay mas polen de entrecruza.

Los ajustes para todo el modelo en Tlalpan $X^2= 1034$ $gl=57$ $p<0.0001$ y para Manantlán $X^2=678$ $gl=57$ $p<0.001$. Esto quiere decir que se rechaza la hipótesis nula de que este modelo es el mejor ajuste para la matriz de correlaciones de los datos.

V.3.2. Coeficientes de efecto, directos e indirectos

En este apartado se presentan los coeficientes directo e indirectos sobre las variables número de semillas maduras y tasa de entrecruzamiento. De aquí se consideró como los coeficientes de selección direccional a la suma de los efectos directo e indirectos (coeficientes de efecto) de cada variable sobre las semillas maduras (Tabla V.2).

Tabla V.2. Coeficientes de selección sobre las variables número de semillas y tasa de entrecruzamiento en *Phaseolus coccineus* para Tlalpan (a) y Manantlán (b) en 1991.

a) Tlalpan

V. dependiente	V. independiente	C. efecto	C. indirecto	C. directo
TM	CLR	-0.218	0	-0.218
	LP	0.408	0	0.408
	LQ	-0.077	0	-0.077
	DEN	-0.084	-0.084	0
	HET	-0.019	-0.019	0
	TAM	-0.334	0.004	-0.338
	BOT	0.0097	0.0097	0
	FLO	0.0109	0.0109	0
	DF	0.025	0	0.025
SEM	CLR	0.0108	0.0108	0
	LP	-0.004	-0.004	0
	LQ	-0.002	-0.002	0
	DEN	0.0231	0.0231	0
	HET	0.0062	0.0062	0
	TAM	0.4549	0.4549	0
	BOT	-0.112	-0.112	0
	FLO	-0.126	-0.126	0
	DF	-0.041	-0.041	0
	TM	-0.063	-0.006	-0.057
	VA	0.715	0	0.715

b) Manantlán

V. dependiente	V. independiente	C. efecto	C. indirecto	C. directo
TM	CLR	0.23	0	0.23
	LP	-0.301	0	-0.301
	LQ	-0.147	0	-0.147
	DEN	-0.376	-0.376	0
	HET	0.092	0.092	0
	TAM	-0.180	0.026	-0.206
	BOT	-0.100	-0.100	0
	FLO	-0.110	-0.110	0
	DF	-0.310	0	-0.310
SEM	CLR	0.025	0.025	0
	LP	-0.03	-0.03	0
	LQ	-0.02	-0.02	0
	DEN	-0.33	-0.33	0
	HET	0.211	0.211	0
	TAM	-0.13	-0.13	0
	BOT	-0.1	-0.1	0
	FLO	-0.29	-0.29	0
	DF	-0.11	-0.11	0
	TM	0.108	0.161	-0.053
	VA	0.925	0	0.925

Las variable mas importantes en la producción de semillas en la población de Tlalpan

son: el número de frutos, el tamaño de la planta y el número de flores (de forma negativa); en la población de Manantlán son: el número de frutos, la densidad y el número de flores (de forma negativa). A la tasa de entrecruzamiento la afectan principalmente en la población de Tlalpan la longitud de los pétalos y el tamaño de la planta, mientras que en Manantlán son la densidad de individuos y de flores las variables mas importantes.

V.3.3. Análisis de la correlación entre las semillas maduras y la tasa de entrecruzamiento

Esta correlación se descompone en un efecto directo de la tasa de entrecruzamiento sobre la producción de semillas, un efecto indirecto vía el número de frutos, dos efectos espurios (por el tamaño y la densidad de flores que tienen efecto sobre las dos variables) y cuatro no analizados. A continuación se presentan los efectos de cada ruta en la correlación (Tabla V.3).

Tabla V.3. Análisis de la correlación entre el número de semillas maduras (SEM) y la tasa de entrecruzamiento (TM) en *Phaseolus coccineus*, para Tlalpan (T1991) y Manantlán (M1991) en 1991. La S son los efectos espurios y NA los no analizados.

Correlación	T1991	M1991
Directo	-0.057	-0.053
Indirecto	-0.006	0.161
S1	0.097	0.0278
S2	0.006	0.0781
NA1	-0.062	-0.021
NA2	0.0129	0.0172
NA3	-0.018	-0.0097
NA4	-0.0015	0.0395
TOTAL	-0.0288	0.2399

En estas correlaciones el efecto mas importante para la población de Tlalpan es el S1, esto es, el efecto espurio que surge por que el tamaño de la planta afecta a ambas variables. Para la población de Manantlán, el efecto mas importante es el indirecto vía las vainas producidas. En las dos poblaciones la correlación tiene muy bajo impacto del efecto directo que tiene la tasa de entrecruzamiento sobre el número de semillas maduras.

V.3.4. Nuevo modelo de rutas para Tlalpan y Manantlán

Se elaboró un nuevo diagrama de ruta en el que se muestra el efecto directo del tamaño de la planta, la densidad, la heterocigosidad y el número de flores abiertas por planta, en la producción de semillas. También, se anuló el color de los pétalos porque no fue registrada en un rango continuo, lo cual viola un de los supuestos del análisis de ruta. Así como el número de semillas abortadas y dañadas, para tener un modelo menos complejo y conocer sólo el efecto sobre la producción de semillas. Los resultados para cada una de las poblaciones se muestra en la figura V.4.

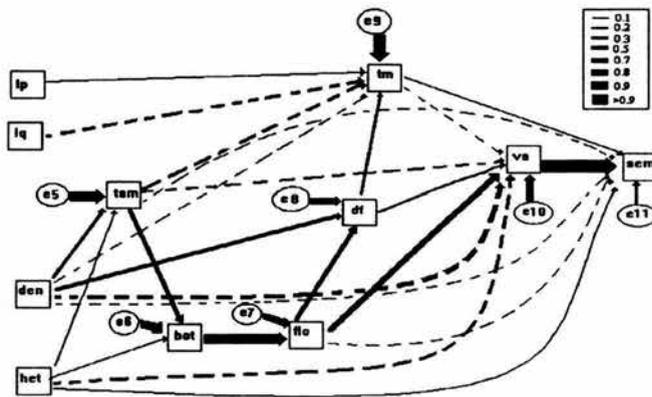


Figura V.4. Resultado del diagrama de rutas de *P. coccineus* para la población de Tlalpan (1991)

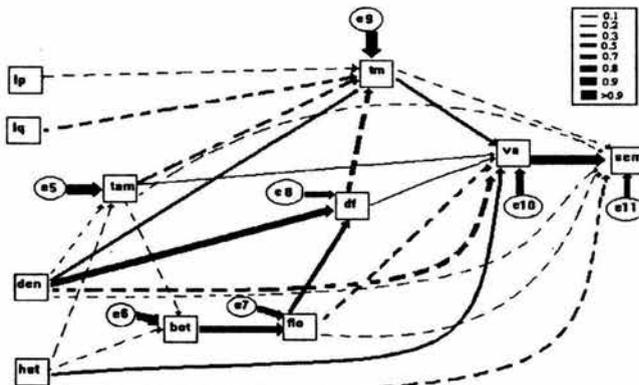


Figura V.4. Resultado del diagrama de rutas de *P. coccineus* para la población de Manantlán (1991).

A continuación se describe el ajuste sobre la tasa de entrecruzamiento, el número de frutos y semillas maduras por planta.

a) Tlalpan 1991

- Tasa de entrecruzamiento: aquí el ajuste fue $R^2 = 0.134$ y no fue significativo ($p > 0.9$), siendo el efecto más importante la longitud de la quilla en las flores de manera negativa.
- Número de vainas: en este caso $R^2 = 0.370$, lo cual no dió significativo ($p = 0.59$) y los factores que más afectaron fueron el número de flores positivamente y la densidad de individuos reproductivos negativamente.
- Semillas maduras: el porcentaje de varianza explicada en este caso fié significativamente distinta de cero, con un valor de 98.1% ($R^2 = 0.981$ y $p < 0.001$) y mostró nuevamente que el número de frutos es el factor mas importante.

b) Manantlán 1991

- Tasa de entrecruzamiento: aquí el ajuste fue $R^2 = 0.175$ y no fue significativo ($p > 0.85$), siendo el efecto más importante la densidad de flores de forma negativa.
- Número de vainas: en este caso $R^2 = 0.263$, lo cual no dió significativo ($p = 0.69$) y los factores que más afectaron fueron la densidad de individuos reproductivos de manera negativa, el porcentaje de loci heterócigos de forma positivamente y la tasa de entrecruzamiento positivamente también, lo cual es importante en este análisis.
- Semillas maduras: el porcentaje de varianza explicada en este caso fié significativamente distinta de cero, con un valor de 64% ($R^2 = 0.641$ y $p = 0.042$) y mostró nuevamente que el número de frutos es el factor mas importante.

Los coeficientes directos, indirectos y de efecto se muestran sobre las variables número de semillas maduras y la tasa de entrecruzamiento (Tabla V.4).

Tabla V.4. Coeficientes de efecto, directos e indirectos sobre la tasa de entrecruzamiento y la producción de semillas en *Phaseolus coccineus* para Tlalpan (a) y Manantlán (b) en 1991.

a)

V. dependiente	V. independiente	C. efecto	C. indirecto	C. directo
TM	LP	0.151	0	0.151
	LQ	-0.322	0	-0.322
	DEN	-0.030	-0.013	-0.043
	HET	-0.005	-0.005	0
	TAM	-0.228	0.036	-0.264
	BOT	0.0873	0.0873	0
	FLO	0.0979	0.0979	0
	DF	0.225	0	0.225
SEM	LP	-0.008	-0.008	0
	LQ	0.0171	0.0171	0
	DEN	-0.456	-0.439	-0.017
	HET	-0.221	-0.279	0.058
	TAM	-0.001	0.0495	-0.051
	BOT	0.6121	0.6121	0
	FLO	0.6862	0.7012	-0.015
	DF	0.2024	0.2024	0
	TM	-0.058	-0.092	0.034
	VA	0.997	0	0.997

b)

V. dependiente	V. independiente	C. efecto	C. indirecto	C. directo
TM	LP	-0.153	0	-0.153
	LQ	-0.328	0	-0.328
	DEN	-0.074	-0.450	-0.328
	HET	0.0367	0.0367	0
	TAM	-0.323	0.0202	-0.343
	BOT	-0.137	-0.137	0
	FLO	-0.173	-0.173	0
	DF	-0.579	0	-0.579
SEM	LP	-0.009	-0.009	0
	LQ	-0.019	-0.019	0
	DEN	-0.385	-0.349	-0.036
	HET	0.0349	0.2619	-0.227
	TAM	-0.107	0.0765	-0.183
	BOT	-0.223	-0.223	0
	FLO	-0.282	-0.134	-0.148
	DF	0.0639	0.0639	0
	TM	0.0588	0.2098	-0.151
	VA	0.731	0	0.731

En este caso (aunque no es posible obtener la significancia para el coeficiente de efecto, Pedhazur, 1982), la producción de semillas en Tlalpan esta afectada mayormente por el número de frutos, flores y botones de cada planta. En Manantlán el número

de frutos, la densidad y el número de flores (estas dos últimas de maneras negativas) afectan la producción de semillas. En cuanto a la tasa de entrecruzamiento en Tlalpan la longitud de la quilla y el tamaño de la planta fue los mas importante y en Manantlán la densidad de individuos y la longitud de la quilla tuvieron el efecto mas importante.

V.4. Discusión

V.4.1 Modelos

El primer modelo propuesto tuvo un bajo ajuste como se vió en el apartado V.3.1. Posteriormente se analizó un nuevo modelo que cambió las interacciones poniendo con efecto directo a las variables que habían tenido un efecto indirecto alto sobre la producción de semillas. Con lo que respecta a la tasa de entrecruzamiento se incorporó la densidad como un efecto directo ya que este puede afectar como menciona Holsinger (1991). Los resultados de este nuevo modelo en el ajuste es el siguiente: Tlalpan $\chi^2=72.49$ $p>0.25$ y Manantlán $\chi^2=108.91$ $p<0.001$, lo cual quiere decir que los dos modelos ajustaron igualmente en Tlalpan, pero en Manantlán el segundo modelo es una mejor aproximación.

Aunque en el análisis de ruta no se puede tener la significancia del coeficiente de efecto (Pedhazur, 1982), se puede hacer un análisis cualitativo del efecto positivo y negativo de cada una de las variables y saber en promedio si las correlaciones del modelo tienden a aumentar o disminuir alguna de las variables, en este caso la tasa de entrecruzamiento. En la población de Tlalpan (1991) con ambos modelos vemos que en promedio se tiene un efecto negativo sobre la t , (cinco variables negativas y cuatro positivas), lo cual sugiere que tiende a disminuir, es decir, que se esperaría mas autofecundación al siguiente año (Figura V.5). En la población de Manantlán (1991) el efecto también es negativo (siete variables negativas y dos positivas) y se tendería a disminuir mas rápidamente la tasa de entrecruzamiento (Figura V.5.).

Si comparamos estos resultados con las estimaciones hechas en el año de 1992 para estas dos poblaciones, vemos que la tasa de entrecruzamiento no disminuyó (Tabla

III.4). Este resultado se puede deber a que hay variables que no fueron consideradas en el modelo que tienen un efecto importante sobre la tasa de entrecruzamiento (los residuales de las ecuaciones tienen un efecto muy alto (e10 Figura V.3. y e9 Figura V.5)), como podrían ser los cambios temporales de la comunidad de polinizadores, en una época o entre años (Búrquez y Sarukhán, 1984; Schemske y Horvitz, 1988; Herrera, 1990).

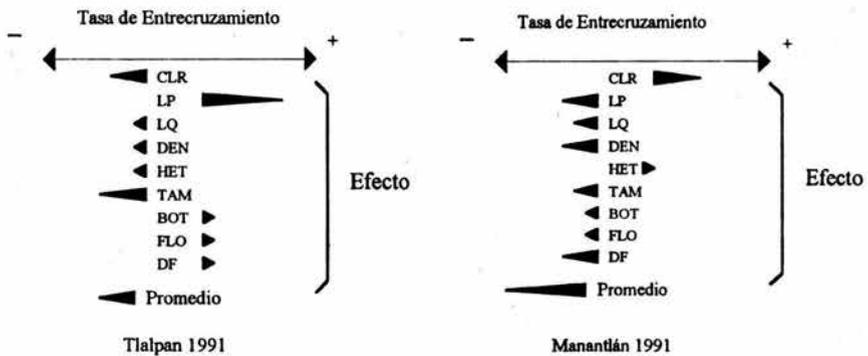


Figura V.5. Análisis cualitativo donde se ve el efecto de cada variable y el efecto promedio sobre la tasa de entrecruzamiento de *Phaseolus coccineus* en cada población. En la figura las flechas a la izquierda son negativas y a la derecha positivas. Las abreviaturas corresponden a las descritas en el texto.

V.4.2. Correlaciones

La correlación de la morfología floral y la tasa de entrecruzamiento en la población de Tlalpan se muestra similar a lo que Marioti (1986) llama equilibrio (Figura V.1). Es decir, el efecto negativo que pueden tener el color de los pétalos y el largo de la quilla se ve atenuado por la relación positiva que tiene el largo de los pétalos con la (t) (Figura V.6) de forma tal que aunque hubiera alguna presión en disminuir la tasa de entrecruzamiento al aumentar la pigmentación roja y la longitud de la quilla, la longitud de los pétalos compensaría este efecto llegando finalmente a un estado de equilibrio donde la tasa de entrecruza no cambiaría aunque hubiera cambios en la flor.

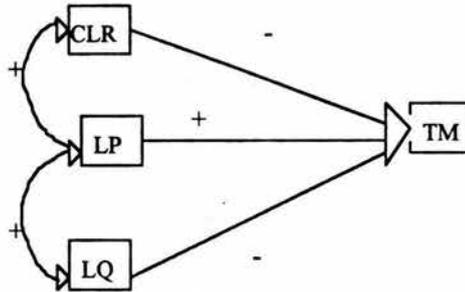


Figura V.6. Correlación entre la Tasa de Entrecruzamiento y la Morfología Floral como lo presentado en la Figura V.1. (Marioti, 1986).

En la población de Manantlán la tasa de entrecruzamiento esta afectada por la longitud de los pétalos (modelo 1, Figura V.3) y el largo de la quilla (modelo 2, Figura V.4). Estas variables están correlacionadas positivamente entre ellas y tienen un coeficiente directo negativo sobre la (t). Como se mencionó en la introducción este caso sería parecido al de incompatibilidad de la Figura V.1 (Marioti, 1986). Así, si el largo de los pétalos o el largo de la quilla aumentaran por alguna fuerza evolutiva esto disminuiría la tasa de entrecruzamiento de forma rápida (Figura V.7). En otros trabajos, la relación reportada de la forma de la flor y la tasa de entrecruzamiento es de signo positivo como en *Lycopersicon pimpinellifolium* (Rick et al. 1978, en Barret y Eckert, 1990). Esto nos muestra que la relación de la ξ y la morfología de las flores en plantas polinizadas por animales no necesariamente tiene un patrón determinado ya que depende en buena medida de que es lo que ven los polinizadores y cual es la recompensa que buscan (Schemske y Horvitz, 1988; Morgan y Barrett, 1989; Mitchell, 1992). En el frijol las flores mas grandes son mas dificiles de manipular por las abejas que las flores mas pequeñas (Delgado, 1988). Aunque no se presentan datos de la importancia de cada uno de los polinizadores, en el supuesto de que las abejas fueran un grupo importante, sería una posibilidad que en flores mas pequeñas se puede tener mas éxito en la polinización cruzada que en las mas grandes.

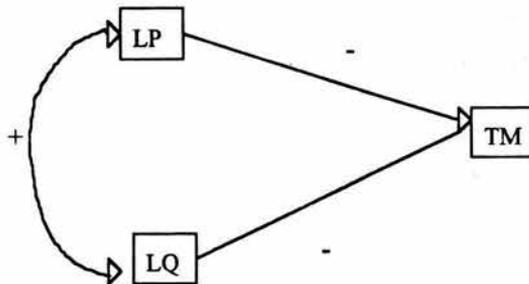


Figura V.7. Correlación de incompatibilidad como lo presentado en la Figura V.1. (Marioti, 1986) entre variables morfológicas (longitud de quilla y pétalos) y la tasa de entrecruzamiento

El efecto directo de la densidad de flores sobre la tasa de entrecruzamiento tiene un componente espurio que se produce por la densidad de individuos reproductivos. La correlación es fuertemente negativa y es similar a lo que reportan Ellstrand et al 1978 en *Helianthus annuus*. Este tipo de fenómenos se pueden observar cuando los polinizadores encuentran un "parche" grande con flores y no se desplazan mayores distancias para polinizar, aumentando las posibilidades de autofecundar una flor. Como los principales polinizadores son abejas y colibríes en *P. coccineus* es factible esperar que exista una respuesta negativa con la densidad (Búrquez y Sarukhán, 1984)

V.4.3. Selección Natural

La medida considerada aquí como de adecuación fue la producción de semillas ya que si hay una contribución diferencial y significativa en este carácter es posible esperar un efecto demográfico en la población (Crespi, 1990).

Cuando se analizan los coeficientes de efecto sobre la producción de semillas notamos que el tamaño del individuo tuvo un efecto importante (además del producción de vainas) en la población de Tlalpan. La tasa de entrecruzamiento tuvo una correlación débil y está fuertemente afectada por el componente espurio debido al tamaño.

En el caso de la población de Manantlán el efecto indirecto vía el número de vainas es muy importante y de signo positivo. Esto nos indica que si debe de tener alguna influencia en la contribución de semillas a la población el tener diferentes tasas de entrecruza y con esto que exista un componente de selección natural actuando

indirectamente sobre la tasa de entrecruzamiento.

Consideraciones finales

El objetivo de este capítulo fue medir la relación de la tasa de entrecruzamiento con la producción de semillas para cada planta adulta y el efecto de una serie de variables sobre la t y la producción de semillas. Con los resultados mostrados por el análisis de ruta se vió que el sistema de cruza tiene un efecto directo no significativo sobre la producción de semillas. Por otro lado, en las tablas de coeficientes de efecto se ve que, las 9 variables que afectan la tasa de entrecruzamiento lo hacen en su mayoría de forma negativa, para las dos poblaciones en los dos modelos. Así, se tendría que bajo este esquema la t disminuiría en las siguientes generaciones, por un efecto de correlación con otras variables pero no por su efecto directo en la producción de semillas.

Literatura citada

- Arnold, S.J. y M.J. Wade. 1984. On the measurement of natural and sexual selection: Applications. Evolution 38:720-734.
- Barrett, S.C.H. y C.G. Eckert. 1990. Variation and evolution of mating systems in Seed Plants. En S. Kawano (ed). Biological Approaches and Evolutionary Trends in Plants. Academic Press.
- Begon, M., J.L. Harper y C.R. Townsend. 1986. Ecology. individual, populations and communities. Blackwell Scientific Publications, Oxford. 501 pp.
- Búrquez, A. y J. Sarukhán. 1984. Biología de poblaciones silvestres y cultivadas de *Phaseolus coccineus*. Bol. Soc. Bot. de México 39:5-24.
- Coello, G. y A.M. Escalante. 1989. Estructura genética y estimación de los parámetros del sistema de apareamiento en poblaciones silvestres y cultivadas de *Phaseolus coccineus*. Tesis de Licenciatura. Fac. Ciencias, UNAM.
- Crespi, B.J. 1990. Measuring the effect of natural selection on phenotypic interaction systems. Am. Nat. 135:32-47.
- Crespi, B.J. y F.L. Bookstein. 1989. A path-analytic model for the measurement of selection on morphology. Evolution 43:18-28
- Delgado, A. 1988. Variation, taxonomy, domestication and germoplasm potentialities in *Phaseolus coccineus*. En P. Gepts (ed.). Genetic Resources of Phaseolus beans. Kluwer Acad. Pub.
- Donald, C.M. 1951. Competition among pasture plants. I. Intra-specific competition among annual pasture plants. Australian J. Agricult. Research 2:335-376.
- Escalante, A.M., G. Coello, L. Eguiarte y D. Piñero. 1994. Genetic structure and mating system in wild and cultivated population of *Phaseolus coccineus* and *P. vulgaris* (Fabaceae). Amer. J. Botany 81:1096-1103.
- Eguiarte, L.E., N. Perez-Nasser y D. Piñero. 1992. Genetic structure, outcrossing rate and heterosis in *Astrocaryum mexicanum* (tropical palm): implications for evolution and conservation. Heredity 69:217-228.
- Eguiarte, L.E., V. Parra y C.F. Vargas. 1994. Biología reproductiva y tamaño efectivo en *Echeveria gibbiflora*; un homenaje a Sewall Wright. En A. Rojo (ed.). Reserva ecológica "El Pedregal" de San Ángel: ecología, historia natural y manejo. UNAM, México. 187-204.
- Ellstrand, N., A.M. Torres y D.A. Levin. 1978. Density and the rate of apparent outcrossing in *Helianthus annuus* (Asteraceae). Syst. Bot. 3:403-407.

- Fernández, P. 1979. Ciclo de vida comparativos de poblaciones de *Phaseolus coccineus* L. (Leguminosae). Tesis Doctoral Fac. de Ciencias, UNAM.
- Guía TyT. 1990. Guía cromática para diseñadores gráficos e impresores. Lumen, México.
- Herrera, C.M. 1990. The adaptedness of the floral phenotype in a relict endemic, hawkmoth-pollinated violet. Biol.Jour.Linnean Soc. 40:263-274.
- Lande, R. y S.J. Arnold. 1983. The measurement of selection on correlated characters. Evolution 37:1210-1226.
- Li, C.C. 1981. Path analysis. The Boxwood Press. California. 147 pp.
- Marioti, A. 1986. Genética Cuantitativa. Secretaría General de la OEA. serie de Biología. USA.
- Mitchell, R.J. 1992. Testing evolutionary and ecological hypotheses using path analysis and structural equation modelling. Functional Ecology 6:123-129.
- Mitchell-Olds, T. y R.G. Shaw. 1987. Regression analysis of natural selection: statistical inferences and biological interpretation. Evolution 41:1149-1161.
- Morgan, M.T. y S.C.H. Barrett. 1989. Reproductive correlates of mating system variation in *Eichhornia paniculata* (Spreng.) Solms (Pontederiaceae). J.Evol.Biol. 2:183-203.
- Parra, T.V., C.F. Vargas y L. Eguiarte. 1993. Reproductive biology, pollen and seed dispersal, and neighborhood size in the hummingbird-pollinated *Echeveria gibbiflora* (Crassulaceae). Amer. J. Botany 80:153-159.
- Pedhazur, E.J. 1982. Multiple regression in behavior analysis. Explanation and Prediction. (2 ed) Holt. Rinehart and Winston. New York University 650 p.
- Ritland, K. 1989. Gene identity and the genetic demography of plants population. En A.H.D. Brown, M.T. Clegg, A.L. Kahler y B.S. Weir (eds.). Plants Population Genetics. Breeding and Genetic. Sinauer. 243 p.
- Schemske, D.W. y C.C. Horvitz. 1988. Plant-animal interaction and fruit production in a neotropical herb: a path analysis. Ecology 69:1128-113758.03
- Schwartz, D. y W.J. Laughner. 1969. A molecular basis for heterosis. Science 166:626-627.
- Watkinson, A.R. 1984. Yield-density relationship: the influence of resource availability on growth and self-thinning in populations of *Vulpia fasciculata*. Annals of Botany

53:469-482.

- Way, M.J. y M. Cammell. 1970. Aggregation behaviour in relation to food utilization by aphids. En A. Watson (ed.) Animal Populations in Relation to their Food Resources. Blackwll Scientific Publications, Oxford. 229-247 pp.

- Wright, S. 1931. Evolution in mendelian populations. Genetics 16:97-159.

- Wright, S. 1934. The method of path coefficients. Ann.Math.Stat 5:161-215.

CAPITULO VI

DISCUSIÓN GENERALES Y CONCLUSIONES

VI.1. Discusión general.....	96
VI.2. Conclusiones generales	103

DISCUSIÓN GENERAL

El objetivo central de esta tesis, como se describió anteriormente, es el de conocer la evolución del sistema reproductivo del frijol *P. coccineus* una planta polinizada por animales que posee un polimorfismo en el sistema de cruce (Búrquez y Sarukhán, 1980; Escalante et al., 1994). Para cumplir este objetivo era necesario conocer bajo un esquema evolutivo, las tres condiciones necesarias para que la selección natural actúe, esto es, que haya variabilidad en el carácter, que esta variabilidad sea heredable y que los individuos con diferencias en esta característica contribuyan diferencialmente con un efecto demográfico a las siguientes generaciones (Ender, 1986). Los dos primeros puntos se midieron en el capítulo III, con los análisis de la t por familia y la repetibilidad en dos años consecutivos de estimación y el tercer punto en el capítulo IV y V con las estimaciones de la depresión endogámica y los análisis de ruta.

Los resultados que se obtuvieron muestran que la variación fenotípica intrapoblacional en la t es pequeña y la repetibilidad en Tlalpan no es distinta de cero, aunque en Manantlán sí es significativa. Con lo que respecta al hecho de que no se haya podido encontrar diferencias en la tasa de entrecruza por familia con el análisis de varianza, puede ser producto de dos cosas: 1) que la estimación generó errores estándares muy altos o 2) que no haya variación entre las plantas en el entrecruzamiento. El segundo punto tiene implicaciones biológicas importantes ya que esto significa que la selección natural no puede actuar sobre la tasa de entrecruzamiento. La baja repetibilidad en la población de Tlalpan, es decir, la baja heredabilidad de la tasa de entrecruzamiento, puede deberse a que en los caracteres que son importantes para la adecuación, la varianza genética aditiva suele ser baja (Falconer, 1986). Así, en el caso de *Datura stramonium* no se encontró heredabilidades distintas de cero para caracteres como la masa de la semilla, el tamaño de la planta, la resistencia a la herbivoría, entre otras variables (Nuñez Farfán, 1991). Una explicación a este hecho es que si la selección natural ha actuado sobre este carácter la varianza genética aditiva se ha agotado por respuestas a selecciones en generaciones pasadas

(Mitchel-Olds, 1986; Venable y Búrquez, 1989) de forma tal que ya no se presenta variación en la tasa de entrecruzamiento.

En la población de Manantlán se encontró que la repetibilidad si fue significativa, esto nos llevar a pensar que la heredabilidad aquí puede ser distinta de cero, por lo que si se podría dar una respuesta a la selección en Manantlán de encontrar diferencias en la adecuación para diferentes tasas de entrecruzamiento (Falconer, 1986).

Los resultados del análisis de ruta nos mostró la correlación entre características como el hábito de la planta, el tamaño del individuo, el número de flores en la época reproductiva, la morfología de la flor, la heterocigosidad promedio y la tasa de entrecruzamiento (Morgan y Barrett, 1989; Waser y Price, 1989; Barrett y Eckert, 1990; von Treuren et al., 1993) el cual se resume en la Tabla VI.1.

Tabla VI.1. Factores que con mayor peso afectaron en el análisis de selección natural en *Phaseolus coccineus* para los dos modelos (H1=primera hipótesis, H2=segunda hipótesis), a la tasa de entrecruzamiento (TM) y la producción de semillas maduras (SEM). En la tabla se muestra el signo de la interacción (con un menos en caso de ser negativa) y la nomenclatura es la siguiente (CLR = porcentaje de color rojo en los pétalos de la flor; LP = largo de los pétalos; LQ = largo de la quilla; TAM = tamaño de la raíz de la planta; DF = densidad de flores; BOT = número de botones; FLO = flores y VA = número de frutos.

Población	Var. dependiente	hipótesis	
		H1	H2
Tlalpan 1991	TM	LP	LQ
		-TAM	-TAM
		-CLR	DF
	SEM	VA	VA
		TAM	FLO
		FLO	BOT
Manantlán 1991	TM	-DEN	-DF
		-DF	-LQ
		-LP	-TAM
	SEM	VA	VA
		-DEN	-DEN
		-FLO	-FLO

En la población de Tlalpan la producción de semillas maduras está afectada por el número de frutos, flores, el tamaño de la planta y la densidad de individuos reproductivos. Así, mientras

mas grane sea una planta se tendrá un mayor número de flores, un mayor número de frutos y finalmente de semillas. Esto indica que las limitaciones en la producción de semillas maduras para una planta están en función de cuantas flores puede producir una planta (limitación por recursos; Sutherland, 1986) y no en función del tipo de polen que recibe (Charlesworth, 1989). Por otro lado, la densidad en la producción de frutos fue importante y negativa (Tabla V.4) lo que apoyaría la hipótesis de la limitación por recursos (sitios muy densos producen menos frutos por efecto de la competencia; Watkinson, 1984).

Se ha visto que la fecundidad de *Phaseolus coccineus* está relacionada con la raíz (estructura de perenación) ya que esta determina el esfuerzo reproductivo que puede tener una planta cada año (Fernández, 1979). Si se observa este hecho en el contexto de la biología de la especie, resulta importante mencionar la asociación micorrítica del frijol con *Rhizobium leguminosarum* (Richards, 1987). Se ha mostrado que existe mucha variación de sepas o electro-tipos asociadas inclusive a una sola planta de frijol. De forma que, el aprovechamiento de recursos en lugares con poco suelo (como en la población de Tlalpan) depende en gran medida de la sepa asociada en las raíces de *P. coccineus* (Souza, 1990).

En lo que respecta a la tasa de entrecruzamiento en la población de Tlalpan la forma de la flor (LP y LQ) fueron importantes, al igual que el tamaño de la planta pero de manera negativa. Con este resultado se tiene que si el tamaño de la planta aumenta, el número de semillas aumentará también, pero la tasa de entrecruzamiento disminuirá, según lo muestra el análisis de ruta. Si se hace un análisis cualitativo de las 9 variables que afectan la t y su coeficiente de efecto, se ve que en Tlalpan hay un tendencia negativo. Esto hace esperar una disminución de la tasa de entrecruza para esta población.

El sistema de cruza, en la población de Manantlán es muy alto, casi entra en el tipo de exclusivamente entrecruzamiento de Brown (1989) y no parece ser importante la limitación por recursos para la producción de semillas según lo mostró el análisis de ruta. Otros datos que muestran las diferencias de las dos poblaciones es que en Manantlán la t puede ser repetible ya

sea porque el ambiente es constante o porque existe todavía un componente de varianza genética aditiva distinta de cero, donde puede actuar la selección natural. Sin embargo, no se detectaron diferencias para diferentes plantas, aunque la distribución de la t por familia no ajusta a un modelo totalmente aleatorio, es decir, existe un proceso que distribuye mas homogéneamente en el rango que lo esperado al azar.

Con lo que respecta a las características florales no se vio tanta variación en el color de las flores como en Tlalpan aunque la longitud de pétalos y quilla pueden cambiar la tasa de entrecruzamiento no como una respuesta a un presión directa al sistema reproductivo, sino por un arrastre de caracteres correlacionados que de forma indirecta la alteran. En general las correlaciones de las variables examinadas con la t mostraron una tendencia fuertemente negativo.

En resumen, podemos decir que las plantas en Tlalpan, donde el suelo es precario, el tamaño de la raíz determina el número de semillas maduras y la producción de hijos de entre y autocruza juega un papel secundario. Es decir, que puede haber limitación por recursos y no existe una presión para cambiar en el sistema de cruce. Es probable que haya selección sexual como reportó Rocha y Stephenson (1991).

Las plantas en Manantlán, donde no parece haber condiciones edáficas precarias, el sistema de cruce tiene mayor probabilidad de tener una respuesta genética a la selección. Sin embargo, aquí no se tuvo evidencia de que exista selección natural direccional para aumentar o disminuir la entrecruza.

Perspectivas

Con base en los resultados de este trabajo se podrían realizar una serie de estudios que pudieran contesta las siguientes preguntas

¿Qué sucede con flores individuales con morfologías distintas? es necesario tener estimaciones que puedan poner a prueba hipótesis de la inversión realizada por plantas con tasas de entrecruza contrastantes a la función femenina, masculina y a la atracción de polinizadores.

¿Qué tan importante es la depresión endogámica en condiciones naturales? Crecer semillas de plantas madre muy endogámicas y de entrecruza en condiciones de campo para evaluar el efecto de la depresión endogámica en las poblaciones naturales.

¿Qué tan importante es la limitación de recursos y polen en la evolución del sistema de cruza de esta especie? Realizar experimentos de adición de nutrientes y agua en diferentes condiciones y comparar el efecto para diferentes niveles de entrecruza

¿Qué tan importante es la selección sexual en la evolución del sistema de cruza?

Finalmente, comparar con otras especies y conocer la importancia del sistema de cruza en los proceso de especiación. Sería igualmente interesante realizar un estudio con el método comparativo entre las diferentes especies del género *Phaseolus* y entre diferentes géneros del grupo de las leguminosas papilionoidea, para conocer cuanto de las características del sistema reproductivo es producto de la filogenia y cuanto es producto de la selección en el nivel de la especie

Literatura citada

- Barrett, S.C.H. y C.G.Eckert. 1990. Variation and evolution of mating systems in seed plants. En S. Kawano (ed). Biological Approaches and Evolutionary Trends in Plants. Academic Press.
- Búrquez, A. y J. Sarukhán. 1980. Biología de poblaciones silvestres y cultivadas de *Phaseolus coccineus*. Bol.Soc.Bot.México 39:5-24.
- Charlesworth, D. 1989. Evolution of low female fertility in plants: pollen limitation, resources allocation and genetic load. TREE 4:238-292.
- Escalante, A.M., G. Coello, L. Eguiarte y D Piñero. 1994. Genetic structure and mating system in wild and cultivated population of *Phaseolus coccineus* and *P. vulgaris* (Fabaceae). Amer. J.Botany 81:1096-1103.
- Endler, J.A. 1986. Natural selection in the wild. Princeton Univeristy Press. Princeton, N.J.
- Falconer, D.S. 1981. Introduction to quantitative genetics. London Longman. 340 p.
- Fernández, P. 1979. Ciclo de vida comparativos de poblaciones de *Phaseolus coccineus* L. (Leguminosae). Tesis Doctoral Fac. de Ciencias, UNAM.
- Lande, R. y D.W. Schemske. 1985 .The evolution of self-fertilization and inbreeding depression in plants. I.Genetic model. Evolution 39: 24-40.
- Holsinger, K.E., 1991. Mass-action models of plant mating systems: the evolutionary stability of mixed mating systems. Am.Nat. 138:606-622.
- Mitchel-Olds, T. 1986. Quantitative genetics of survival and growth in *Impatiens capensis*. Evolution 40:107-116.
- Morgan, M.T. y S.C.H. Barrett. 1989. Reproductive correlates of mating system variation in *Eichhornia paniculata* (Spreng.) Solms (Pontederiaceae). J.Evol.Biol. 2:183-203.
- Nuñez Farfán, J.S. 1991. Biología evolutiva de *Datura stramonium* L en el centro de México: selección natural de la resistencia a los herbívoros, sistema de cruzamiento y variación genética ínter e intrapoblacional. Tesis Doctoral Centro de Ecología/UACPyP. UNAM.
- Richards, B.N. 1987. The microbiology of terrestrial ecosystems. Logman Scientific and Tecnical, Inglaterra. 399 pp.
- Rocha, O.J. y A.G. Stephenson. 1991. Effects of nonrandom seed abortion on progeny performance in *Phaseolus coccimues* L.. Evolution 45:1198-1208.

- Schemske, D.W. y C.C.Horvitz. 1988. Plant-animal interactions and fruit production in a neotropical herb: A path analysis. Ecology 69:1128-1137
- Souza, S.V.F.E.L.M.G. 1990. Genética y ecología de poblaciones en *Rhizobium leguminosarum* bivar. *phaseoli* asociado a *Phaseolus vulgaris* y a *P. coccineus* silvestres y cultivadas, en Morelos, México. Tesis Doctoral Centro de Ecología/UACPyP. UNAM.
- Sutherland, S. 1986. Patterns of fruit set: What controls fruit-flower ratios in plants?. Evolution 40:117-128.
- Uyenoyama, M.K. y D.M. Waller. 1991. Coevolution of self-fertilization and inbreeding depression.I. Mutation-selection balance at one and two loci.. Theor. Pop. Biology 40:14-46.
- van Treuren, R., R. Bijlsma, N.J. Ouborg y W. van Delden. 1993. The significance of genetic erosion in the process of extinction. IV. Inbreeding depression and heterosis effects caused by selfing and outcrossing in *Scabiosa columbaris*. Evolution 47:1669-1680.
- Venable, D.L. y A.M. Búrquez. 1989. Quantitative genetics of size, shape, life history and fruit characteristics of the seed-heteromorphic composite *Heterosperma pinnatum*. I. variation within and among populations. Evolution 43:113-124.
- Watkinson, A.R. 1984. Yield-density relationship: the influence of resource availability on growth and self-thinning in populations of *Vulpia fasciculata*. Annals of Botany 53:469-482.
- Waser, N.M. y M.V. Price. 1989. Optimal outcrossing in *Ipomopsis aggregata*: seed set and offspring fitness. Evolution 43:1097-1109.
- Yahara, T. y S. Sakai. (manuscrito). Why mixed mating system are common in animal-pollinated plants?: an answer from resource allocation models.

CONCLUSIONES GENERALES

- 1) La tasa de entrecruzamiento promedio de todos los años y en las dos poblaciones es del 78%
- 2) No hubo diferencias en la tasa de entrecruzamiento poblacional entre años, salvo para Tlalpan en 1992, estimado con el programa MLT.
- 3) No existe variación en la tasa de entrecruzamiento por familia en ninguna de las dos poblaciones.
- 4) En la población de Manantlán se encontró que la repetibilidad es estadísticamente diferente de cero.
- 5) El programa MLT da valores de tasa de entrecruzamiento mas altos que el de Waller y Mitchell-Olds por ser este un programa mas sensible a los eventos de entrecruzamiento.
- 6) En estas dos poblaciones no se demostró la presencia de depresión endogámica y si esta existe puede ser anterior a la germinación o de manera muy débil en los demás estadios del ciclo de vida, tal que no pude ser observada en el invernadero.
- 7) La tasa de entrecruzamiento no tuvo un efecto importante sobre la producción de semillas
- 8) La variación de las características florales tiene una repercusión significativo en la variación de la tasa de entrecruzamiento.
- 9) No hay evidencia de que haya selección natural sobre la tasa de entrecruzamiento en la actualidad, lo cual no implica que no haya habido selección natural actuado en el pasado.
- 10) En estas poblaciones no se puede decir que se este en un proceso de evolución hacia la entrecruza o autofecundación.