

239737

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

CENTRO DE ECOLOGÍA UACPyP/CCH



BIBLIOTECA
INSTITUTO DE ECOLOGIA
UNAM

*EL MÉTODO COMPARATIVO EN
LOS ESTUDIOS DE EVOLUCIÓN DE
HISTORIAS DE VIDA: UN EJEMPLO
CON EL GÉNERO *Tithonia* (ASTERACEAE)*

EDUARDO MORALES GUILLAUMIN

TESIS

PARA OBTENER EL GRADO DE
DOCTOR EN ECOLOGIA

MÉXICO, D.F.

JULIO 1996



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.

ÍNDICE

CONTENIDO	PÁGINA
Resumen	i
Abstract	ii
Capítulo I. Introducción General	1 - 16
Capítulo II. Variación Geográfica en el Género <i>Tithonia</i> (Asteraceae): Un Análisis Comparativo de la Morfología	17 - 38
Capítulo III. Variación Genética en el Género <i>Tithonia</i> (Asteraceae)	39 - 66
Capítulo IV. Análisis Comparativo de Características de Historia de Vida en el Género <i>Tithonia</i> (Asteraceae)	67 - 91
Capítulo V. Discusión General	92 - 99
Conclusiones	

RESÚMEN

Las características de historia de vida han sido consideradas por la teoría como adaptaciones particulares a las presiones de selección en la actualidad, aunque muchas de estas puedan ser el resultado de compartir un ancestro común. Comúnmente los estudios de evolución de historias de vida han sido analizados desde una perspectiva ecológica y ahistórica. En este trabajo se pretende cubrir el análisis de la variación geográfica, genética y ecológica desde un enfoque histórico, considerando las relaciones genealógicas.

El Método Comparativo nos permite dividir la varianza total de un carácter dado en su componente filogenético, heredado de sus ancestros y el componente específico, el cual es el resultado de evolución independiente y puede interpretarse como adaptativo.

En este estudio, hemos analizado la variación morfológica, genética y de características de historia de vida en once especies del género *Tithonia* (Asteraceae).

El método de autocorrelación filogenética fué empleado en este estudio para evaluar el nivel al cual los caracteres morfológicos y los de historia de vida, son consecuencia de los efectos filogenéticos y, el análisis de la variación genética para detectar la influencia de la selección natural en la diferenciación de las especies. Se realizaron análisis cladistas con las matrices de presencia-absencia de alelos y los caracteres de historia de vida, para proponer hipótesis evolutivas y compararlas con la propuesta a partir de la información morfológica.

En lo que respecta a la variación geográfica (Capítulo II), encontramos que existen diferencias interespecíficas asociadas al hábito, siendo las especies de ciclo de vida anual, las que presentan un mayor tamaño de semilla, de flor y cabezuelas de mayor talla. Respecto los análisis de autocorrelación, encontramos que, el tamaño de la semilla, el de la flor, el número de flores, semillas por cabezuela y tamaño de la cabezuela, se encuentran grandemente influenciados por la historia evolutiva del grupo entre el 30% y el 60%.

La variación genética (Capítulo III), se analizó con siete enzimas polimórficas y se obtuvo que los valores de heterocigosis oscilan entre 0.103 y 0.129, no se muestra diferencia entre los hábitos anuales y perennes y tampoco entre los esperado según el equilibrio Hardy-Weinberg. El número promedio de alelos varía entre 1.4 y 2.1. Los estadísticos F_{ST} son estadísticamente diferentes de 0, lo que sugiere que la selección puede ser la principal causa de la diferenciación observada entre especies. Se elaboró un cladograma empleando la técnica de parsimonia (PAUP) y se obtuvo una topología que no concuerda con la hipótesis evolutiva morfológica, sobre todo en la disposición de las especies de hábito anual y perenne.

En el Capítulo IV, donde se analiza la variación en las características de historia de vida obtuvimos, para un análisis de componentes principales, que las especies anuales y perennes se diferenciaban por sus respuestas demográficas, a excepción de una especie perenne (*T. diversifolia*) que fue más similar a las anuales. También encontramos evidencia del arrastre filogenético en siete características de historia de vida y porcentajes de varianza relacionados con la historia del grupo entre 37% y 75% .

Finalmente, en la Discusión General (Cap. V), se propone una hipótesis evolutiva del grupo con la evidencia geográfica, molecular y ecológica, la cual presenta gran similitud con la propuesta morfológica. Por último se discuten las ventajas y desventajas del uso del Método Comparativo en estudios de ecología evolutiva.

ABSTRACT

Life-history characters have been considered by the theory as representing adaptations to contemporary selective pressures, although characters could be the expression of sharing a common ancestor. Frequently life-history analysis have been made from an ahistorical perspective. In this Dissertation I attempt to analyse geographic, genetic and ecological variation from an historical perspective, taking into account phylogenetic relationships.

The Comparative Method help us divide total trait values into phylogenetic ones, inherited from an ancestral species, and specific values i.e. those resulting from independent evolution.

In this study I have analysed the morphological, genetic and life-history traits for eleven species of the genus *Tithonia* (Asteraceae).

The phylogenetic autocorrelation model was employed to test whether morphological characters and life history traits are the consequence of phylogenetic effects or independent evolution and the genetic variation analysis were made to detect the influence of natural selection on species differentiation. Cladistic analysis were conducted with the genetic and life-history data (independently), to propose an evolutionary hypothesis and compare them with the morphological cladogram.

With respect to geographical variation (Chapter II), strong interspecific variation was detected in relation to plant habit. Annual species present a higher seed size, head and flower size. Autocorrelation analysis demonstrates that seed, flower and head size, flowers and seeds per head, are greatly influenced by the genus phylogeny having variances between 30% and 60%.

Genetic variation (Chapter III) was detected with electrophoretical analyses. Seven polymorphic isozymes were assayed. Heterocis varies between 0.103 and 0.129, and no difference between annual and perennial habitat was observed. Also, no deviations from Hardy-Weinberg equilibrium were observed. The effective allele number varies from 1.4 to 2.1. F_{ST} values are not statistically different from 0 which strongly suggests that selection may be the main agent in generate differentiation between the species. The phylogenetic tree generated by PAUP with a presence-absence allele matrix is in discordance with the morphological one, the main difference is related with the ubication of annual and perennial species.

When life-history traits were analysed (Chapter IV), via a Principal Component Analysis, perennial and annual species conform different groups (as the morphological cladogram predicts) with exception of *T. diversifolia* a perennial species more related with annuals. Also, high evidence of phylogenetic effects was detected for seven life-history traits and the percentages of variances related with phylogeny varies from 37% to 75%.

Finally a cladogram was built with the morphological, genetic and ecologic information, this "new" topology has more concordance with the morphological tree and finally a discussion about "use and abuse" of comparative methodologies in evolutionary ecology is presented.

CAPITULO I.- INTRODUCCION GENERAL

RESUMEN.

En este capítulo se presentan cuales han sido los modelos más relevantes, desde un punto de vista histórico, para el estudio de la evolución de historias de vida. Asimismo, se incorpora una pequeña revisión sobre la importancia de realizar estudios en ecología que consideren el aspecto de las relaciones filogenéticas de los taxa a estudiar para poder realizar comparaciones entre especies. También se revisa con detalle la metodología comúnmente utilizada para realizar comparaciones y considerar la varianza asociada a un carácter con la historia evolutiva del grupo y aquella que puede ser considerada como evolución ulterior de los taxa. Finalmente, se detallan algunos estudios en especies vegetales que han empleado esta técnica comúnmente llamada "El método comparativo".

INTRODUCCION.

La historia de vida de un organismo está compuesta por sus patrones de crecimiento, diferenciación, almacenamiento de energía y, especialmente, reproducción a lo largo de su ciclo de vida (Begon *et. al.* 1986). Los organismos "invierten" diferentes porcentajes de su vida en cada una de las anteriores actividades, lo que hace que cada historia de vida pueda ser considerada, en esencia, única. Los elementos más importantes a medir en los estudios de evolución de historias de vida son las tasas de

natalidad y mortalidad específicas de la edad en una población.

La principal actividad de la biología evolutiva ha sido la de entender y explicar las similitudes y diferencias en las historias de vida, lo cual hace necesario hacer comparaciones. Las más comunes en los estudios de evolución de historias de vida, consisten en conocer las variaciones demográficas de una misma especie en diferentes ambientes o de especies relacionadas en un mismo ambiente, para evaluar qué tanto por el proceso de selección se pueden estar generando adaptaciones. Durante el curso de su evolución, las especies han

ido difiriendo en la medida en que se han seleccionado adaptaciones características en cada ambiente o en cada especie. Por lo tanto, introducir especies diferentes en un mismo ambiente para evaluar qué tanto una respuesta es debida a la variación ambiental nos permitiría comparar sus diferentes respuestas en el contexto de la teoría de la selección natural.

DESARROLLO DE LA TEORIA DE HISTORIAS DE VIDA.

La teoría de historias de vida se ha desarrollado básicamente a partir de las ideas demográficas. Mac Leod (1894, citado en Hermy y Stieperaere 1985), reconoció que las especies vegetales, en un sentido generalizado, presentan dos tipos de ciclo de vida: *especies capitalistas* y *especies proletarias*. Las primeras son aquellas que pueden acumular gran cantidad de reservas, producen grandes flores muy aromáticas y con mucho néctar, lo que genera muchas visitas por parte de los polinizadores. Usualmente requieren de polinización cruzada y por lo general son de ciclo de vida largo. En el otro extremo, las especies proletarias son aquellas que presentan las características opuestas a las anteriores. Cole (1954), propone que las historias de vida deben analizarse en función del crecimiento poblacional derivado de las estrategias reproductivas que siguen las

poblaciones, las cuáles clasificó en: *semelparidad* e *iteroparidad*. La estrategia semélpara consiste en reproducirse solamente una vez durante todo el ciclo de vida (como los agaves y las especies herbáceas anuales, entre otras) y la iterópara implica más de una reproducción a lo largo de la vida (como la mayoría de las perennes). En dicho estudio, el autor considera que un aspecto importante es el que se refiere al hecho de que es necesario tener conocimiento de la demografía de las especies a estudiar, puesto que la selección natural moldearía los patrones de historia de vida que hicieran a una población eficiente en términos de crecimiento poblacional. Esta contribución a la ciencia permitió a los ecólogos de la década de los años 50^{ºs} pensar en términos de estrategias, esto es, ver el ciclo de vida de una especie como una estrategia designada a maximizar la adecuación de la población, entendida como el producto demográfico l_x (supervivencia específica de la edad) por m_x (fecundidad específica de la edad) (Kingsland 1985).

De estas ideas, surge un tópico importante que ha sido ampliamente documentado y que es el estudio de la evolución de las tasas y los costos de la reproducción (Roff 1992).

Posteriormente, los estudios de Lack (1954) y Cody (1966) particularizaron en el costo de la

reproducción (en poblaciones de aves principalmente) y concluyeron que el tamaño de la nidada era dependiente del ambiente al cual se enfrentara el organismo, de la competencia (principalmente por sitios para anidar y alimento para los descendientes) y de las probabilidades de supervivencia a diferentes edades.

En términos generales, el estudio de Cody (1966) que se denomina el Principio de Asignación, es el que se maneja más comúnmente cuando se hace hincapié en que número de descendientes por evento reproductivo maximiza la adecuación. Por lo general, diremos que la nidada que maximiza la adecuación es la que permite valores mayores de supervivencia y reproducción, para los individuos. Esto es, si en un ambiente que se encuentra cerca del tamaño poblacional conocido como capacidad de carga (K), un individuo deja un número muy alto de descendientes, [como la densidad poblacional se encuentra muy cercana al máximo teórico, entonces la competencia por recursos será alta e intensa], el resultado será que algunos de los descendientes no obtengan los recursos necesarios para aumentar su biomasa y supervivencia y por lo tanto mueran. La moraleja sería que en ambientes de alta densidad poblacional, la selección natural seleccionará o promoverá que aquellos individuos que presenten un

tamaño de nidada más bien pequeño, que al abatir las altas tasas de mortalidad permitirían que los descendientes lleguen a la edad reproductiva. Lo anterior es porque dichos individuos pueden alcanzar tamaños mayores, dado que, tienen más recursos. Por otro lado, en ambientes donde la densidad poblacional sea baja, la selección favorecerá tamaños de nidada altos, puesto que las restricciones impuestas por la competencia interespecífica (p.ej. espacio y alimento), no serán ahora las principales causas que determinen la supervivencia juvenil.

La evidencia presentada por Lack y Cody apuntaba en el sentido de que la densidad poblacional jugaba un papel importante en las estrategias posibles que podían seguir las especies ante diferentes ambientes. Estos argumentos llevaron a MacArthur y Wilson (1967), a plantear las ideas de *selección r* y *selección K* , las cuales están englobadas en un marco más general [la teoría de Biogeografía de Islas], donde se define qué es lo que promueve la selección natural en condiciones de colonización de ambientes o cuando estos se encuentran saturados. Lo que se ha denominado como especies ***r*-seleccionadas** o ***estrategas r*** , son aquellas que crecen en ambientes fluctuantes y se caracterizan por una madurez temprana, alto número de

descendientes, reducción del cuidado paterno a la descendencia y un sólo evento de reproducción con alto esfuerzo reproductivo (**ER**). El **ER** puede definirse como la proporción de recursos disponibles que es asignada a la reproducción en un período determinado de tiempo (Begon *et al.* 1986). Los individuos favorecidos por la selección K, son aquellos que están presentes en ambientes estables, presentan madurez sexual tardía, un gran número de eventos reproductivos con pocos descendientes pero por lo general de gran talla, cuidado paterno a la descendencia y un esfuerzo reproductivo más bien bajo (Stearns 1976). Las ideas de MacArthur y Wilson han sido largamente discutidas, continuamente puestas a prueba, pero sobre todo bastante utilizadas, porque de alguna forma han marcado un parteaguas en los estudios de evolución de historias de vida.

Una hipótesis alternativa a las ideas de r y K, es la propuesta por Murphy (1968) y Schaffer (1974), que es conocida como *bet-hedging* (*apuesta protegida* en español), la cual trata específicamente acerca de las consecuencias de las fluctuaciones de las tasas de mortalidad en los diferentes estadios de ciclo de vida. Por ejemplo, cuando la mortalidad juvenil o la tasa de natalidad fluctúan y la mortalidad de los adultos no lo hace o lo hace en menor grado, debido a que el ambiente

es fluctuante, la selección favorece a los organismos que presenten características similares a los individuos sujetos a selección-K. Si las fluctuaciones en las tasas de natalidad y mortalidad de los juveniles son más predecibles como resultado de que el ambiente es estable, los organismos que se reproduzcan a edades tempranas, pero más de una vez, serán los favorecidos. Cuando la mortalidad de los adultos no es predecible, la selección en ambientes fluctuantes y en aquellos clasificados como constantes favorecerá combinaciones de características predichas por la selección r y K. Desde luego que no serán las mismas para ambos tipos de ambiente, sino que habrá características diferentes conforme se "aproxime más" a la estrategia r o a la estrategia K, respectivamente.

Los principios propuestos por Cody (1966), MacArthur y Wilson (1967), Murphy (1968), Schaffer (1974) y Stearns (1976) son los que prevalecen para intentar conocer como es que la selección natural promueve ciertas historias de vida en poblaciones sujetas a diferentes ambientes.

Los estudios de evolución de historias de vida se han enfocado básicamente a entender como es que evolucionan los patrones de supervivencia y fecundidad en diferentes ambientes. Las características de historia de vida se

han considerado principalmente como adaptaciones particulares a un ambiente determinado. Desde luego, esto puede ser parcialmente correcto, pero debemos considerar también que una respuesta demográfica en un ambiente determinado puede estar influenciada por la historia evolutiva del organismo. Esto es, las características que presentan las especies actualmente, pueden haber evolucionado en sus ambientes recientes o tener un origen determinado por los ancestros de las especies en cuestión. Lo anterior implica que un grupo de especies relacionadas pueden presentar características derivadas de un ancestro común o independientemente de él.

En este contexto es que en biología evolutiva uno de los objetivos principales consiste en entender el peso que tiene el proceso de selección natural como factor determinante en generar evolución y producir adaptaciones.

La hipótesis central en la mayoría de los estudios de evolución de características de historias de vida consiste en que la variación en éstos se encuentra restringida en gran medida por los "trade-offs" (trueques es el término que emplearé en este texto) entre caracteres. Dichos trueques pueden definirse y la evolución de los caracteres puede predecirse ya sea por un modelo que asuma que la selección maximiza alguna medida que defina la

adecuación o un modelo genético (Roff 1992). Esto último es importante puesto que la evolución no actúa en ausencia de variación genética y, por lo tanto, es relevante estudiar las bases genéticas de los caracteres de historia de vida. Idealmente los estudios de evolución de historia de vida deberían contemplar el análisis demográfico y el análisis genético de las poblaciones. Sin embargo, evaluar al menos uno de los dos niveles nos permite hacer inferencias válidas sobre los procesos evolutivos.

✓ Cole (1954), propone que la selección natural será determinante en moldear los patrones de historia de vida que hagan a las poblaciones ser "más eficientes". Esa eficiencia, en general, es la tasa de crecimiento poblacional como una medida de la adecuación promedio. Aunque podría pensarse que esta idea favorecería el concepto de selección de grupo, parece claro ahora que la propuesta giraba en torno al genotipo (Roff 1994). ✓

Por lo general los caracteres de historia de vida son considerados adaptativos (Stearns 1992) y definir de una manera precisa que es una adaptación no es una tarea sencilla, de hecho se han formulado muchas definiciones del término.

Para efectos de este estudio utilizaremos la definición de Williams (1966): "Adaptación es un cambio en un fenotipo, el cual se presenta en

respuesta a un cambio específico del ambiente y tiene una clara relación funcional con ese cambio, el cual resulta en un mejoramiento en el crecimiento, la supervivencia o la reproducción; de otra manera no aparecería".

Resulta por lo tanto importante preguntarse ¿Cómo podemos determinar el valor adaptativo de un carácter de historia de vida? ¿Qué enfoques son los más comunmente utilizados y cuál es su validez?

/ La evolución es un proceso de modificación a través de la descendencia y el principal agente de esta modificación es la selección natural. Esta puede producir cambios sustanciales a corto plazo. /

Los estudios que intentan identificar las circunstancias bajo las cuales ciertos caracteres son adaptativos, deben por lo tanto ser evaluadas comparando grupos de organismos que habiten bajo diferentes condiciones (Bell 1989). Si aunado a lo anterior contamos con una hipótesis de la evolución de los grupos a comparar (es decir una filogenia), podemos evaluar qué tanto el carácter a estudiar puede ser resultado de la historia evolutiva del grupo y qué tanto puede deberse a la evolución ulterior del taxón, lo que entenderíamos como adaptación. Desde luego, no necesariamente la historia evolutiva del grupo se encuentra exenta de contener

eventos que sean considerados adaptativos y persistan en los diferentes linajes. Lo que es importante considerar en este punto es la posibilidad de encontrar explicaciones alternativas a los eventos que no sean necesariamente resultado de la historia evolutiva del grupo. Todo lo anterior comprende a lo que en biología evolutiva se conoce como el **Método Comparativo**.

Recientemente Harvey y Purvis (1991), han señalado que los análisis comparativos se han transformado al utilizar un mayor rigor estadístico. Los modelos estadísticos que se utiliza para hacer las comparaciones, son una hipótesis de cómo ha actuado el proceso de evolución. Este tipo de análisis conforman la base de un nuevo enfoque en los estudios comparativos, los cuales están adecuadamente sustentados en reconstrucciones filogenéticas apropiadas. Otra razón por la cual el método comparativo ha mostrado ser importante, es el hecho de que las explicaciones evolutivas no están sujetas a experimentación.

EL METODO COMPARATIVO

El enfoque comparativo no es nuevo en biología evolutiva, de hecho fué la metodología preferida de Darwin (Harvey y Pagel 1991). El propio Darwin utilizó el método comparativo al analizar la frecuencia de especies

dioicas en la flora de Gran Bretaña: "Con un argumento comparativo, mostró que la frecuencia de especies dioicas es mayor entre árboles que en otro tipo de plantas, particularmente las hierbas. Darwin explicó la tendencia argumentando que existía un mayor riesgo de autofertilización en árboles, puesto que presentan un gran número de flores" (Ridley 1992, pp 37). Este argumento sobre la menor incidencia de hermafroditismo en árboles, es uno de los varios argumentos comparativos en el trabajo de Darwin y de los que han provocado mayor interés en la biología evolutiva actualmente, sobretodo por la evidencia cuantitativa y el razonamiento para demostrar la tendencia.

Bock (1977) consideró que los análisis comparativos más utilizados para evaluar adaptaciones eran los siguientes: i) Comparaciones morfológicas, ii) Reconstrucciones filogenéticas, iii) Paleontología y iv) Comparaciones ecológicas. Gittleman y Luh (1992) consideran que esta metodología se ha vuelto obsoleta básicamente por los avances en las reconstrucciones filogenéticas y los análisis estadísticos que son esenciales para el método comparativo.

¿Cómo es que se concibe actualmente el Método Comparativo?

Básicamente cualquier estudio comparativo cumple o intenta cubrir las siguientes cinco consideraciones generales (Gittleman y Luh 1992):

i) Hipótesis principal. Las explicaciones causales que involucran factores ecológicos o evolutivos que afectan a los caracteres fenotípicos.

ii) Rango de variación de los caracteres a estudiar.

iii) Existencia de una hipótesis evolutiva o clasificación jerárquica. Por ejemplo, filogenia o taxonomía.

iv) El rango de variación una vez que los valores fenotípicos de los caracteres a estudiar han sido transformados por algún procedimiento estadístico.

v) Conocimiento de la tasa y tiempo de evolución que muestre la divergencia de los caracteres. En muchos estudios comparativos esta información evolutiva se basa (modelo nulo) en la variación esperada de los caracteres.

¿Cuáles son los análisis utilizados en los estudios comparativos?

Cómo primer punto debemos considerar que existen comparaciones para variables discretas y continuas. Para analizar las variables discretas, el método de conteo de eventos evolutivos independientes (Ridley 1983), resulta el más adecuado. Este método se ha desarrollado para identificar eventos de evolución paralela y convergente. La lógica del

método de Ridley reside en identificar cambios o transiciones en los estados de los caracteres a lo largo de una filogenia. Idealmente, los patrones de cambio estarían libres de los efectos de la filogenia, dado que el método considera sólo los eventos de evolución independientes a partir de los estados ancestrales (Pagel y Harvey 1988).

Para el análisis de variables continuas, los métodos que podemos considerar más relevantes son los de Clutton-Brock y Harvey (1977), Stearns (1983), Cheverud *et al.* (1985) y Felsenstein (1985). El método de Clutton-Brock (1977), utiliza un análisis de varianza anidado para examinar como la variación total de un carácter de distribución continua se distribuye entre los diferentes niveles taxonómicos. Stearns (1983) generó una técnica que utiliza el análisis de varianza para controlar los efectos de la taxonomía en los estudios de evolución de historias de vida. Las diferencias en los valores promedio de las variables en los diferentes ordenes, así como para familias dentro de ordenes, representan los efectos taxonómicos que ejercen influencia sobre los valores promedio a nivel específico. Posteriormente se procede a restar para cada especie el valor promedio del orden; los residuales para el nivel de especie se encontrarían libres de variación resultante de diferencias entre ordenes.

El método de Cheverud *et al.* (1985), consiste en dividir la varianza total de un carácter fenotípico en el componente atribuible a su herencia filogenética más una fracción de la varianza que no se atribuye a la filogenia. Esto permite conocer cuantitativamente la inercia filogenética que puede poseer un carácter en un linaje determinado.

Gittleman y Kott (1990), han producido una modificación al modelo anterior en el cual presentan la posibilidad de emplear tanto información filogenética como clasificaciones taxonómicas. Este se basa en el uso del análisis de autorregresión: los datos comparativos están correlacionados debido a la filogenia y la correlación tiende a disminuir conforme lo hace la distancia filogenética. Conforme se ha descrito en la teoría de procesos espaciales (Cliff y Ord 1981, en Gittleman y Luh en prensa), los métodos de autorregresión, suponen alguna correlación entre los datos y permiten eliminarla. Por lo tanto, un requisito para utilizar los métodos de autorregresión en problemas de índole comparativo es el diagnosticar correlación filogenética en los datos (Gittleman y Kott 1990).

Un objetivo común en los estudios que incluyen información filogenética en sus análisis es "tener control sobre los **efectos** de la

filogenia", para poder conocer el significado adaptativo de cierto carácter. Con base en lo anterior debemos diferenciar entre un **efecto** de la filogenia y una **restricción** filogenética. Cuando existe variación en un carácter (o falta de) o existe correlación entre ese carácter y la filogenia empleada, es evidencia de un **efecto** de la filogenia. Una **restricción** implica disminución del rango del carácter en respuesta a fluctuaciones en el ambiente o cambios en la presión de selección (Edwards y Naeem 1993).

Es importante recalcar que considerar la perspectiva histórica en los análisis comparativos puede proveer dos grandes ventajas: i) considerar la filogenia permite o incorpora el potencial de elaborar de una manera más refinada análisis tanto ecológicos como evolutivos y ii) la disponibilidad de un árbol filogenético mejora el entendimiento de la evolución de estructuras complejas, sugiriendo hipótesis de la transformación sobre los caracteres.

ECOLOGIA Y FILOGENIA: LA INTERACCION.

Los enfoques filogenéticos en ecología principalmente se han aplicado en la ecología de poblaciones, ecología de la conducta, evolución de historias de vida y también en estudios de coevolución. De un total de **30** estudios

reportados que emplean alguna de las metodologías comparadas, solamente **tres** de ellos han sido realizados con especies vegetales (Miles y Dunham 1993, ver Tabla 1).

Uno de los primeros estudios para especies vegetales, conjuntando la información ecológica y la evolutiva (un árbol filogenético en particular para este caso) es el de Wanntorp (1983). Dicho autor considera que la ecología evolutiva trata de proporcionar explicaciones adaptativas de los caracteres de los organismos. Anota que si se observa la distribución de caracteres entre especies relacionadas se encontrará que están agrupadas con una cierta jerarquía y esto podría representarse en un cladograma. Analiza también, con base en información proporcionada por la hipótesis evolutiva, el hábito de ser perennifolio o deciduo para diferentes especies de encinos y concluye que existe una relación estrecha entre ser perennifolio y los ambientes tropicales y mediterráneos y entre ser caducifolio y los ambientes templados. Lo relevante para la biología evolutiva es que es necesario tener consideraciones previas de la sistemática de los grupos a estudiar para probar hipótesis particulares sobre la adaptación. En ese estudio se discute que la condición de ser caducifolio podría ser una adaptación a los ambientes templados.

Tabla 1.- Métodos comparativos empleados en diferentes estudios. (Sólo se anotan los que emplean los métodos de remoción y control de los efectos de la filogenia). (Modificado de Miles y Dunham 1993).

METODO EMPLEADO (AUTOR)	RELACIONES GENEALÓGICAS	ESTUDIOS REALIZADOS
ANDEVA ANIDADO (BELL 1989)	TAXONOMIA	ANIMALES = 6 VEGETALES = 2 (Mazer 1989), (Herrera 1992).
AUTOCORRELACION FILOGENETICA (CHEVERUD et al 1985)	TAXONOMIA y SISTEMATICA FILOGENETICA	ANIMALES = 5 VEGETALES = 0
CONTRASTES FILOGENETICOS INDEPENDIENTES (BURT 1989)	TAXONOMIA y SISTEMATICA FILOGENETICA	ANIMALES = 14 VEGETALES = 0
REGRESION FILOGENETICA (GRAFEN 1989)	TAXONOMIA y SISTEMATICA FILOGENETICA	ANIMALES = 3 VEGETALES = 0
MAPEO DE CARACTERES Y OPTIMIZACIÓN (CARPENTER 1988)	SITEMÁTICA FILOGENÉTICA	ANIMALES = 10 VEGETALES = 1 (Donoghue 1989)
COMPARACIÓN DE GRUPOS HERMANOS (MITTER et al. 1989)	SISTEMÁTICA FILOGENÉTICA	ANIMALES = 5 VEGETALES = 1 (Ericksson y Bremer 1991)
PEDIGREE FILOGENETICO (LYNCH 1991)	SISTEMATICA FILOGENETICA	ANIMALES = 1 VEGETALES = 0

Telenius *et al.* (com. pers.), realizaron un estudio con la tribu Anthemideae (Asteraceae) cuyo objetivo principal era el de incluir la filogenia en la interpretación de características cuantitativas del ciclo de vida. Entre los resultados más interesantes que mencionan, se

encuentra la idea que el ser anual o perenne es un caracter que ocurre en un nivel taxonómico superior al específico y son caracteres compartidos por grupos monofiléticos. Asimismo, sugieren que en los ancestros de las especies actuales evolucionaron los caracteres relacionados con el hábito.

La conclusión que proponen es que el trazo de los caracteres en una filogenia puede ser importante para conocer donde se originaron estos, cuántas veces han aparecido en un grupo y la posible presencia de convergencias y/o paralelismos. Finalizan asegurando que esta metodología mejora la precisión de los estudios de evolución de historias de vida y es una correcta aproximación para generar interpretaciones adaptativas, además de ser complementaria a los estudios ecológicos.

Otro ejemplo interesante para analizar la adaptación es el utilizado por Funk (1982 citado en Brooks y McLennan 1991) con el género *Montanoa* (Asteraceae). Dicho género tiene 30 especies, de las cuales 21 son arbustos, cuatro lianas y cinco son árboles de aproximadamente 30 m de altura. En este estudio se sobreponen en el cladograma el ser diploide o poliploide y el habitar en zonas elevadas o en zonas de escasa elevación. Se considera que el ancestro del grupo es un arbusto diploide y que las especies arbóreas han mostrado un cambio hacia la poliploidia. Las especies arbóreas habitan únicamente en las partes altas de los bosques mesófilos y los arbustos se distribuyen en las zonas bajas de las montañas. Se analizó dicha información bajo las ideas de adaptaciones convergentes y divergentes y se propone que la

segregación de hábito entre árboles y arbustos resulta de restricciones de desarrollo en los requerimientos o tolerancias a la humedad, posiblemente por una fuerte selección contra los diploides en los bosques mesófilos y contra los poliploides en ambientes de mucho menor humedad. La autora finaliza mencionando que las especies diploides y las poliploides nunca ocurrirán simpátricamente y, por lo tanto, las condiciones para que existiera una competencia interespecífica nunca se establecerían. Es decir la autora, elimina dicha interacción biótica como causa de la diferenciación de hábitats entre especies arbustivas y arbóreas.

Kelly y Purvis (1993), reanalizaron los datos de Foster y Janson (1985), para comprobar si existía relación entre el tamaño de la semilla y las condiciones de establecimiento para árboles tropicales, considerando como nueva variable las relaciones taxonómicas entre las especies. Sus resultados contradicen la hipótesis de que las especies con semillas de mayor tamaño tienden a establecerse en claros pequeños o sombreados. Asimismo, concluyen que los ecólogos interesados en elaborar comparaciones entre varias especies deben considerar "a priori" las relaciones taxonómicas para poder entender los procesos que determinan los patrones ecológicos, aún cuando la

pregunta gire en torno a la ecología y no la evolución.

Givnish (1987), ha mostrado la importancia de los estudios comparativos en generar y probar hipótesis respecto a las adaptaciones en las hojas, la importancia relativa de las restricciones filogenéticas y las presiones de selección y el surgimiento de adaptaciones dentro de linajes. Dicho autor menciona que el enfoque más eficiente para el estudio de la adaptación y la ecología en plantas, debe ser integrativo, contemplando comparaciones a los niveles ecológicos, filogenéticos y biogeográficos. Asimismo, concluye que los estudios que comparan la ecología de las especies de plantas usualmente tienen algunos de los siguientes objetivos: (1) generar hipótesis que contemplen el valor adaptativo en las variaciones de tamaño, forma y fisiología. (2) Evaluar la importancia relativa de la selección, respecto a las restricciones filogenéticas, en la determinación de patrones a nivel poblacional y (3) analizar las radiaciones adaptativas y el surgimiento de adaptaciones dentro de linajes.

En el presente trabajo, se realiza un estudio de evolución de historias de vida en el género *Tithonia* (Asteraceae) empleando el método comparativo. Para cumplir este objetivo, el trabajo se fundamenta en tres capítulos:

I) Variación fenotípica. Se realiza un análisis de la variación morfológica para tratar de conocer las causas de diferenciación entre especies y se evalúa con análisis comparativos la fracción de la variación de los caracteres morfológicos que pueda ser explicada por la filogenia del género. La información para este capítulo se obtuvo principalmente de material de herbario y de colectas de campo

II) Variación genotípica. Empleando la técnica de análisis electroforético en geles horizontales de almidón, se documenta la variación genética intra e interespecífica. También se evalúan los niveles de heterocigosis y se calculan sus desviaciones respecto a lo esperado. Con dicha información, se realizan inferencias sobre los niveles al cual operan las fuerzas evolutivas, principalmente la selección. También se desea evaluar si existe consistencia entre una topología construida con base en una matriz de presencia-ausencia de alelos y aquella propuesta a partir de los caracteres morfológicos.

III) Análisis comparativo de características de historia de vida. En este capítulo se elabora un análisis comparativo de los parámetros demográficos de once especies del género para conocer que tanto de la varianza asociada a los caracteres medidos se relaciona con la filogenia del grupo y que fracción de la misma se

asocia con la evolución ulterior del grupo. Por último, con la información ecológica, se construyó un cladograma, que se compara con la topología obtenida en el apartado II).

Finalmente, se elabora una discusión general en la cual se enfatiza sobre la importancia de realizar estudios evolutivos con la información ecológica y filogenética.

BIBLIOGRAFIA

- Bell,G. (1989). A comparative method. **American Naturalist**. 133:553-571.
- Begon,M.,J.L.Harper y C.R.Townsend (1986). **ECOLOGY.Individuals, Populations and Communities**. Blackwell Scientific Publications. EUA.
- Bock,W.J. (1977). Adaptation and the comparative method. En: **Major patterns in vertebrate evolution** (eds. M.K.Hecht, P.Godoy y B.Hecht). pp:57-82. Plenum Press, EUA.
- Brooks,D.R. y D.A.McLennan (1991). **PHYLOGENY, ECOLOGY, AND BEHAVIOR. A Research Program in Comparative Biology**. The University of Chicago Press. EUA.
- Cheverud,J.M.,M.M.Dow y W.Leutenegger,W. (1985). The quantitative assesment of phylogenetic constrains in comparative analyses: sexual dimorphism in body weight among primates. **Evolution**.39:1335-1351.
- Clutton-Brock,T.H. y P.H.Harvey (1984). Comparative approaches to investigating adaptation. En: **Behavioural ecology: an evolutionary approach**. 2ª. Ed. (eds. J.R.Krebs y N.B.Davies). pp:7-29. Blackwell Scientific Publications. Gran Bretaña.
- Cody,M.L. (1966). A general theory of clutch size. **Evolution**. 20:174-184.
- Cole,L.C. (1954). The population consequences of life history phenomena. **The Quarterly Review of Biology**. 29:103-137.
- Donoghue,M.J. (1989). Phylogenies and the analysis of evolutionary sequences, with examples from seed plants. **Evolution**. 43:1137-1156.

- Edwards,S. y S. Naeem (1993). The phylogenetic component of cooperative breeding in perching birds. **American Naturalist**. 141:754-789.
- Ericksson,O. y B.Bremer (1991). Fruit characteristics, life forms, and species richness in the plant family Rubiaceae. **American Naturalist** 138: 751-761.
- Felsenstein,J. (1985). Phylogenies and the comparative method. **American Naturalist**. 125:1-15.
- Foster,S.A. y C.H.Janson. (1985). The relationship between seed size and establishment conditions in tropical woody plants. **Ecology**. 66:773-780.
- Gittleman J.L. y M. Kot (1990). Adaptation: Statistics and a null model for estimating phylogenetic effects. **Systematic Zoology**.39(3):227-241.
- Gittleman,J.L. y H-K,Luh (1992). On comparing comparative methods. **Annual Review of Ecology and Systematics**. 23:383-404.
- Givnish,T.J. (1987). Comparative studies of leaf form: assesing the relative roles of selective pressures and phylogenetic constrains. **New Phytologist**. 106:131--160.
- Harvey,P.H. y A.Purvis (1991). Comparative methods for explaining adaptations. **Nature**. 351:619-624.
- y M.D.Pagel (1991). **The comparative method in evolutionary biology**. Oxford Series in Ecology and Evolution No.1. Oxford University Press. Gran Bretaña.
- Hermy,M. y H.Stieperaere (1985). Capitalists and proletarians Mac Leod 1894): an early theory of plant strategies. **OIKOS**. 44(2):364-366.
- Herrera,C.M. (1992). Historical effects and sorting processes as explanations for contemporary ecological patterns: character syndromes in Mediterranean woody plants. **American Naturalist** 140:421-446.
- Kelly,C.K. y A.Purvis (1993). Seed size and establishment conditions in tropical trees. On the use of taxonomic relatedness in determining ecological patterns. **Oecologia**. 94:356-360.

- Kingsland, S.E. (1985). **Modelling Nature**. The University of Chicago Press. Chicago. EUA.
- Lack, D. (1954). **The Natural Regulation of Animal Numbers**. Clarendon Press. Oxford. Gran Bretaña.
- MacArthur, R.H. y E.O. Wilson (1967). **The theory of Island Biogeography**. Princeton University Press. EUA.
- Mazer, S.J. (1989). Ecological, Taxonomic and Life History Correlates of Seed Mass among Indiana Dune Angiosperms. **Ecological Monographs**. **59(2):153-175**.
- Miles, D.B. y A.E. Dunham (1993). Historical perspectives in ecology and evolutionary biology: The use of phylogenetic comparative analyses. **Annual Review of Ecology and Systematics**. 24:587-619.
- Murphy, G.I. (1968). Pattern in life history and the environment. **American Naturalist**. 102:390-404.
- Pagel, M.D. y P.H. Harvey (1988). Recent developments in the analysis of comparative data. **The Quarterly Review of Biology**. 63:413-440.
- Roff, D.A. (1992). **The Evolution of Life Histories. Theory and Analysis**. Chapman and Hall. New York. EUA.
- Ridley, M. (1983). **The explanation of organic diversity: the comparative method and adaptations for mating**. Oxford University Press. Gran Bretaña.
- (1992). Darwin sound on comparative method. **Trends in Ecology and Evolution**. 7(2)37-38.
- Schaffer, W.M. (1974). Optimal reproductive effort in fluctuating environments. **American Naturalist**. 108:783-790.
- Stearns, S.C. (1976). Life history tactics: A review of the ideas. **The Quarterly Review of Biology**. 51:3-47.

----- (1983). The impact of size and phylogeny on patterns of covariation in the life history traits of mammals. **Oikos**. 41:173-187.

----- (1992). **The Evolution of Life Histories**. Oxford University Press. New York. USA.

Wanntorp, H.-E. (1983). Historical constraints in adaptation theory: Traits and non-traits. **Oikos**. 41:157-160.

Williams, G.C. (1966). **Adaptation and natural selection**. Princeton University Press. Princeton. EUA.

CAPITULO II.- VARIACION GEOGRAFICA EN EL GÉNERO *Tithonia* (ASTERACEAE): UN ANALISIS COMPARATIVO DE LA MORFOLOGIA.

RESUMEN.

Se analizó la variación inter e intra específica en diez características morfológicas, para once especies del género *Tithonia*. A nivel interespecífico, se encontraron diferencias estadísticamente significativas para el tamaño de la semilla entre especies de hábito anual y perenne, siendo mayor para las primeras $F(1,203) = 44.326$, $p < 0.00001$. Respecto a la variación intraespecífica, el carácter morfológico con mayor variación es el tamaño de la semilla el cual muestra variación significativa en ocho de once especies y, por el contrario, el número de flores y semillas por cabezuela no tienen en ninguna especie variación estadísticamente significativa. Se realizó un análisis de componentes principales (ACP), para evaluar la diferenciación entre poblaciones y se obtuvo que existe una correlación importante entre los elementos del ambiente y las características de las flores. También se observa una clara diferenciación entre las especies de hábito anual y perenne. Al evaluar los caracteres morfológicos con la metodología de autocorrelación, se obtuvo que el tamaño de la semilla, el de la flor, el número de flores y semillas por cabezuela y el tamaño de la cabezuela, se encuentran grandemente determinados por la historia evolutiva del grupo. La evidencia presentada, nos permite concluir que aunque existe una gran variación determinada por el ambiente y el hábito, ésta se encuentra influenciada en gran medida por la historia común del grupo.

I.- INTRODUCCION

La distribución geográfica de los organismos y su desarrollo son evidencia o pueden mostrar la evidencia de que ha ocurrido evolución. La pregunta de ¿cómo es qué ésta ha operado para producir nuevas especies?, se ha centrado en el

estudio de la variación geográfica (Gould y Johnston 1972).

Los estudios de variación geográfica a nivel específico representan una de las mejores técnicas para realizar estudios de biología evolutiva. Para realizar estudios de este tipo, un primer paso sería muestrear la variación fenotípica de los organismos a estudiar y, con base en esto, entender el arreglo de esa variación en el

espacio. Es importante también conocer la relación de las características del ambiente abiótico con la variación muestreada.

Para cualquier especie podemos delimitar el límite geográfico de distribución y un conjunto de tolerancias ecológicas. La amplitud ecológica de una especie puede reflejar el potencial evolutivo de la misma. Los límites de distribución de las especies pueden analizarse con un enfoque evolutivo y puede buscarse la relación entre la distribución actual y la capacidad de las especies para responder a la selección natural como determinante de dicha distribución (Antonovics 1976).

Para delinear analíticamente los procesos evolutivos que determinan la distribución de las especies, un buen enfoque consistiría en realizar un estudio comparativo de la variación geográfica de diferentes especies que han colonizado exitosamente diferentes ambientes.

Desde luego es importante considerar que cuando queremos analizar la variación geográfica de las especies, estamos interesados en tres preguntas principales (Gould y Johnston 1972):

i).- ¿Cómo está distribuida esta variación en el espacio?

ii).- ¿Está correlacionada ésta distribución con alguna característica ambiental?

iii).- ¿Podemos determinar alguna causa de esta distribución?

Si determinamos que la correlación implica una causalidad entonces podemos resolver algunos problemas de variación geográfica con medidas cuantitativas. También es importante reconocer que los estudios de variación geográfica deben contemplar dos aspectos importantes previos a cualquier análisis de causalidad: i) debe existir una medida objetiva de las diferencias fenotípicas entre muestras y ii) debe mostrarse dicha variación gráficamente (v.g. un mapa).

Los estudios de variación geográfica y de diferenciación morfológica de las especies dentro de sus límites de distribución han sido considerados de gran importancia en los estudios de evolución de las especies (Wyatt y Antonovics 1981). Los estudios de variación geográfica a nivel intraespecífico son posiblemente la herramienta más efectiva en la biología evolutiva. Un elemento de gran relevancia en este tipo de estudios es mostrar la evidencia de que existe variación fenotípica. Si esta posteriormente se relaciona con la variación genotípica y/o los componentes del ambiente abiótico se puede determinar -según las preguntas que se planteen- el peso relativo de cada uno de los tres elementos en la diferenciación morfológica observada.

Con base en lo anterior podemos entender o tratar de contestar a la interrogante de por qué la variación se encuentra distribuida en la forma en la que la encontramos.

La relación entre los caracteres de los individuos y los componentes del clima ha sido observada durante mucho tiempo y ha sido sistematizada por Rensch (1960), en lo que se denominan las **Reglas Ecogeográficas**. Estas reglas son generalizaciones basadas en la variación intraespecífica de las dimensiones del cuerpo y la pigmentación, las cuales están correlacionadas con cambios en la temperatura y la humedad. El significado adaptativo de dichos cambios se ha sugerido, pero ha sido muy difícil el obtener evidencia realmente convincente. Piñero (1982) anota que el estudio de la adaptación es un ejercicio que comprende dos pasos: i) se debe obtener evidencia que sugiera que un carácter está genéticamente determinado y ii) mostrar que el ambiente es importante en el mantenimiento y evolución del carácter. Asimismo, considera que en ecología evolutiva se responde primero al segundo inciso y posteriormente se evalúa el componente genético de ese supuesto carácter adaptativo.

La biogeografía se refiere básicamente a los patrones diferenciales de distribución de los organismos sobre ciertos habitats. Datos relevantes

a este respecto son los relacionados con mostrar como los ambientes donde se desarrollan las especies, su biología y su historia evolutiva, interactúan para determinar esos patrones de distribución. Cuando se desea interpretar el cambio biogeográfico, por lo general las explicaciones adaptativas son tratadas *a posteriori* (Parsons 1988).

Para el género *Tithonia* se ha considerado que la ausencia de poliploidía sugiere que la especiación ha ocurrido sólo a niveles de diploidía (La Duke 1982). Este autor también considera que los mecanismos de aislamiento entre las especies son de dos tipos: i) espacial y ii) reproductivo. El aislamiento espacial es probablemente el modo principal de diferenciación, con la mayoría de los taxa presentándose en áreas geográficamente aisladas entre ellas y, en los casos en que exista sobrelapamiento geográfico, los taxa se aíslan por diferencias en el hábito (anuales y perennes).

En el presente capítulo se reporta un análisis comparativo de la variación morfológica en once especies del género *Tithonia*. Considerando los siguientes criterios:

i) Se comparan los patrones de variación (a nivel intra e interespecífico) en once características morfológicas con análisis de varianza y

métodos multivariados, en particular el análisis de componentes principales,

ii) Se establecen análisis de correlación entre las variables morfológicas y las características físicas del ambiente.

iii) Se analizan los resultados de variación morfológica con las metodologías comparadas propuestas por Miles y Dunham (1992) y Gittleman y Kott (1990).

Con la anterior información se pretende discernir sobre las causas que generan la presencia de variación en los caracteres morfológicos y evaluar la importancia del "arrastre" filogenético dentro del género.

II.- MATERIALES Y MÉTODOS.

EL GÉNERO *TITHONIA*

Tithonia es un género de la familia Asteraceae, el cual se encuentra distribuido principalmente en México y Centroamérica, el género contiene 11 especies y dos subespecies de las cuales 10 se encuentran en la República Mexicana y cinco son endémicas del país: *T. brachypappa*, *T. pedunculata*, *T. koelzii*, *T. fruticosa* y *T. calva*. Los sitios de colecta se presentan en las figuras 1 a 3.

Las especies son por lo general erectas y de hábito anual: (*T. tubaeformis*, *T. brachypappa*, *T. thurberii* y *T. rotundifolia*); o

perenne: (*T. calva calva*, *T. diversifolia*, *T.c. auriculata*, *T.c.lancifolia*, *T. koelzii*, *T. hondurensis*, *T.fruticosa*, *T. pedunculata* y *T. longiradiata*). Son hierbas, árboles y arbustos de tallos circulares principalmente con cabezuelas solitarias. Las hojas son alternas (ocasionalmente opuestas) y pecioladas o sésiles. Como característica importante presentan un pedúnculo largo y hueco, engrosado hacia el extremo. Las flores de la periferia son estériles y las del disco hermafroditas y fértiles. Los aquenios son fértiles con un gradiente de coloración que va del café al negro y de forma redonda-cuadrangular a cuadrada con o sin elaiosoma en la base. La época de floración y fructificación varía con cada especie, existiendo un gradiente desde septiembre hasta abril. El número cromosómico es $n=17$ y la especie tipo es *Tithonia rotundifolia* (La Duke 1982).

ESPECIMENES MUESTREADOS

De material de los herbarios del Instituto de Biología, UNAM (MEXU), de la Escuela Nacional Ciencias Biológicas, IPN (ENCB), de la Universidad de Tucson en Arizona (ARIZ), de los Reales Jardines Botánicos de Kew (KEW) y colectas personales (la lista de las mismas se presenta en el anexo 1) no registradas oficialmente al momento, se obtuvo la

información, que a continuación se enlista. El tamaño de la muestra para

cada parámetro varió dependiendo del número de ejemplares de herbario.

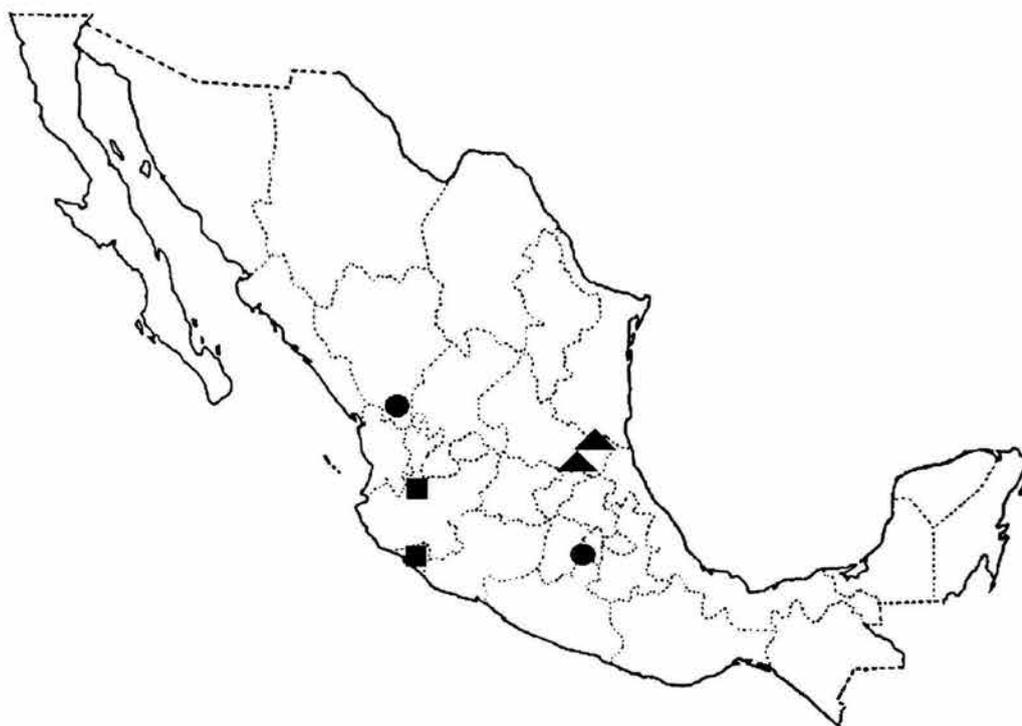


Figura 1.- Sitios de colecta para *Tithonia rotundifolia* (■), *T. brachyppapa* (▲) y *tubaeformis* (●) en México.

VARIABLES REGISTRADAS

Para todas las especies estudiadas, se registraron los siguientes datos:

Tamaño de la semilla (**TSEM**), medido como la longitud promedio en cm (se obtuvo también la biomasa en g y dado que la correlación longitud-biomasa resultó estadísticamente significativa, [$r = 0.94$, $p < 0.001$] se empleó la longitud). Tamaño de la flor (**TFLO**), evaluado como el promedio de la longitud de diez flores por cabezuela. Longitud de la hoja (**LARH**) en cm. Ancho de la hoja

(**ANCH**) en cm. Área de la hoja, obtenida como el producto longitud por ancho (**AREA**), cabe aclarar aquí que este parámetro es una aproximación a lo que es la superficie fotosintética. Diámetro de la cabezuela (**CAB**). Diámetro del tallo (**TALLO**). Número promedio de semillas por cabezuela (**NSC**). Número promedio de flores por cabezuela (**NFC**). Forma de vida (**F.V.**) y finalmente, tipo de vegetación de la zona de colecta (**T.V.**).

Paralelamente se obtuvieron datos climáticos de los sitios de colecta, con el fin de establecer si existían o no correlaciones entre las variables morfológicas y el ambiente. Basicamente los datos ambientales son los siguientes: temperatura promedio anual (**T**), precipitación anual total (**pp**), porcentaje de lluvia invernal (**%I**), oscilación anual de la temperatura (**OT**), varianza de la temperatura (**ÔT**) y varianza de la precipitación (**Ôpp**). Esta información

se obtuvo de los registros de García (1954) y las varianzas se calcularon a partir de los datos promedio ahí reportados. También se realizaron colectas de material siguiendo los reportes de especímenes representativos propuestos por La Duke (1982). De éste material se obtuvo la misma información que aquella de los ejemplares de herbario y solamente se añadió la estatura de los individuos adultos (**ALT**) en m.

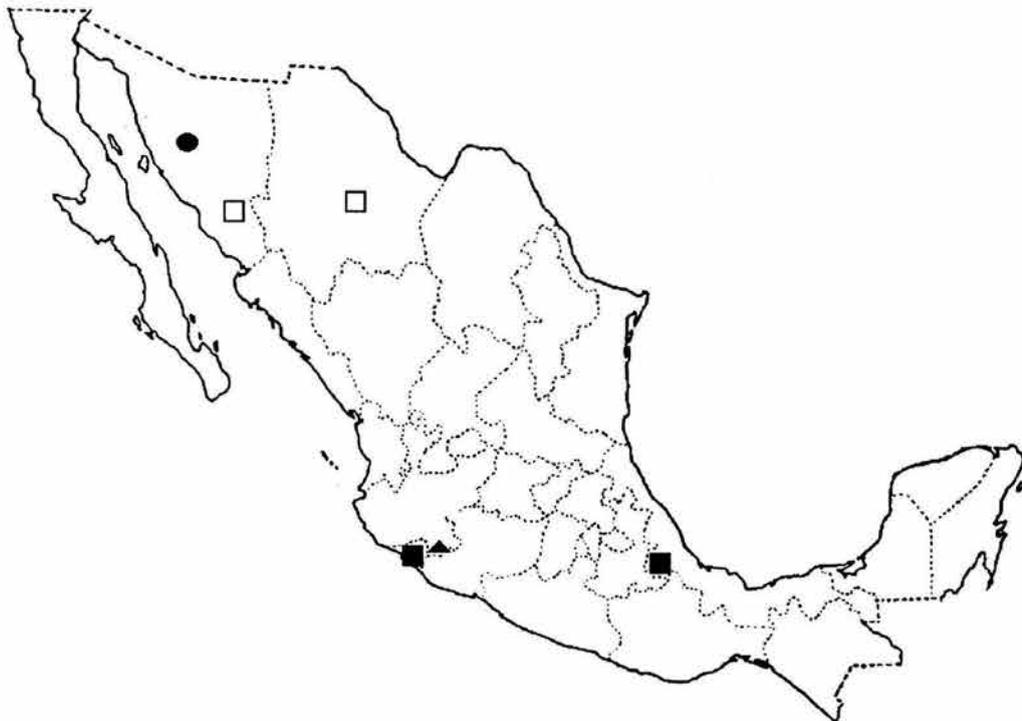


Figura 2.- Sitios de colecta para *Tithonia thurberii* (●), *T. koelzii* (▲), *T. diversifolia* (■) y *T. fruticosa* (□).

Análisis de resultados.

Toda la información obtenida se analizó siguiendo tres criterios:

- 1) Para cada especie estudiada se determinó si existía variación intraespecífica en los caracteres

medidos, con un análisis de varianza de una vía (ANDEVA) (Zar 1984),

tomando como efecto principal el tipo de vegetación donde se colectó el ejemplar, donde cada sitio era considerado como una población. También se evaluó si existían diferencias en los mismos caracteres, pero considerando el hábito de las especies (anual o perenne) como el efecto principal. Con éstos análisis se

desea conocer cuál es el efecto más importante para generar diferenciación entre los caracteres.

1.1) Se analizó también, entre especies, la variación de los mismos caracteres.

2) Con los parámetros morfológicos y ambientales se realizó un análisis de componentes principales (ACP Cuadras 1981), para asignar la cantidad de diferenciación entre las especies y las poblaciones.

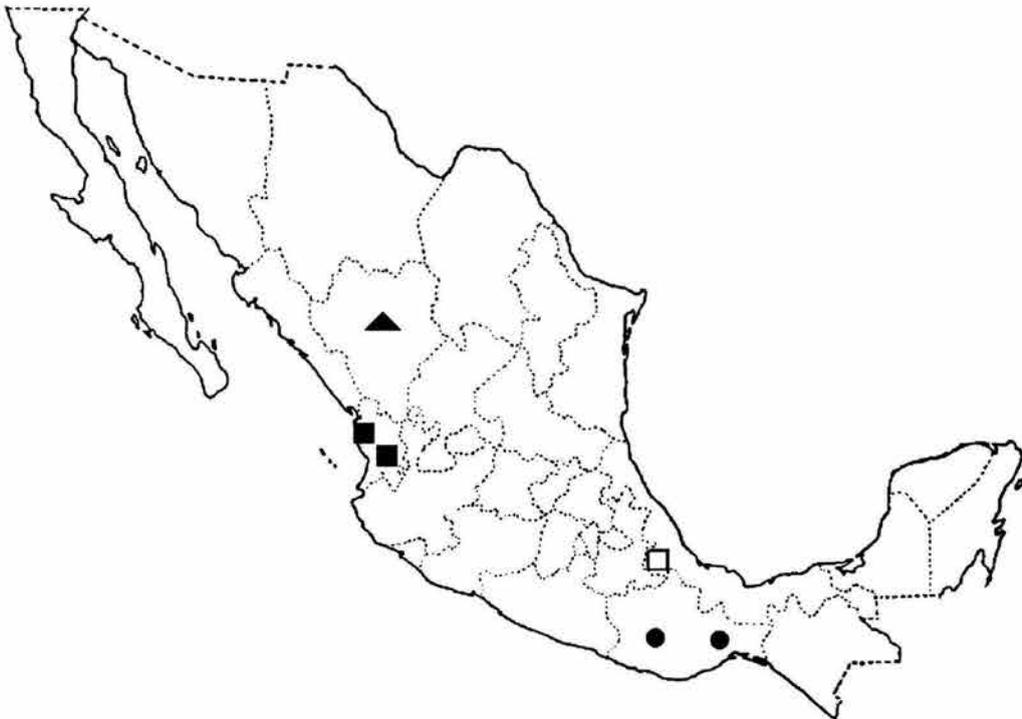


Figura 3.- Sitios de colecta para *Tithonia pedunculata* (●), *T. calva calva* (▲), *T. calva lancifolia* (■) y *T. longiradiata* (□).

de la cual se obtuvo la matriz de correlaciones entre las variables

Con la información de herbario se construyó la matriz de datos a partir

observadas. Posteriormente con esta misma matriz se obtuvieron los porcentajes de varianza, de varianza acumulada y las contribuciones de los diferentes componentes. Se procedió a representar las variables estudiadas a lo largo de los dos primeros ejes principales y también a las especies para observar la presencia o ausencia de patrones.

3) Con los métodos comparativos propuestos por Gittleman y Kott (1990) y Miles y Dunham (1992), se efectuó el análisis de autocorrelación que nos permitiría evaluar el peso filogenético en la varianza asociada a los valores promedio de las características morfológicas. Este análisis es relevante puesto que nos permite evaluar cuantitativamente qué tanto de la variación observada es independiente de la historia común del género y puede interpretarse como respuesta a las variables ambientales o adaptaciones inmediatas al ambiente. La lógica de este procedimiento consiste en discriminar para una respuesta determinada, la fracción que se ha heredado de los ancestros y el valor específico que es el resultado de evolución independiente.

Estos tres criterios de análisis son independientes y son vías alternativas para tratar de entender a qué nivel podemos encontrar patrones, que estn

generando diferenciación para las diferentes especies del género.

III.- RESULTADOS.

1.- Variación intraespecífica.

En la Tabla (1) se muestran, los valores promedio (+/- error estandar) de 10 caracteres morfológicos para cada especie estudiada (**TSEM**, **TFLO**, **CAB**, **LARH**, **ANCH**, **AREA**, **NFC**, **NSC**, **TALLO** y **ALT**). Se incluyen también los diferentes tipos de vegetación en los que se encuentran distribuidos y su hábito. En la Tabla (2), se presenta para que especies existe (y para cuales no) variación intraespecífica, estadísticamente significativa, en siete caracteres morfológicos de las mismas 11 especies. **TSEM** y **TFLO** son los dos caracteres que presentan mayor variación dentro de cada especie, esto es, de un total de once especies estudiadas, en ocho encontramos variación intraespecífica para los dos caracteres señalados; aunque no son siempre las mismas especies. Para el carácter **CAB**, encontramos variación entre poblaciones de tres especies; el valor de **AREA**, presenta diferencias en cuatro especies y **NFC** y **NSC** no muestran variación dentro de las especies, estadísticamente significativa.

T. diversifolia, es la especie que presenta mayor variación en los seis

caracteres analizados, mostrando diferencias (estadísticamente significativas $p < 0.05$) en cuatro de ellos. En el otro extremo, *T. koelzii*, no presenta variación entre poblaciones en ninguno de los caracteres, debido a que

es una especie con solamente una población, lo cual se traduce en que la varianza entre localidades es igual a cero y no nos permite hacer comparaciones.

Tabla 1.- Valores promedio (\pm desviación estandar) para diez características morfológicas de once especies del género *Tithonia* (Asteraceae) en México*.

ESP	FV	Tsem	Tflo	Larh	Anch	Area	Cab	Tallo	Nsc	Nfc	Alt	TV	N
<i>Tub</i>	A	7.35 (1.6)	6.34 (0.9)	6.52 (2.6)	2.38 (1.2)	15.4 (18.3)	2.02 (0.6)	2.65 (0.8)	120	140	3	1,3,8	14
<i>Bra</i>	A	5.22 (0.2)	8.57 (1.1)	2.01 (1.1)	0.76 (0.3)	1.40 (0.7)	2.65 (0.4)	3.17 (0.6)	100	110	2.5	8	2
<i>Div</i>	P	7.01 (1.5)	6.11 (1.5)	8.94 (4.3)	5.44 (3.2)	48.06 (30.7)	2.42 (0.6)	2.83 (0.9)	150	130	5	1,2,3,4,5,7	11
<i>Fru</i>	P	4.52 (0.6)	12.5 (1.0)	3.73 (0.5)	1.45 (0.1)	5.48 (2.06)	2.24 (0.1)	5.13 (0.4)	85	95	7	3,8	4
<i>Lan</i>	P	4.06 (0.4)	5.10 (0.6)	9.09 (3.6)	2.07 (0.9)	18.81 (13.1)	2.25 (0.2)	2.73 (0.8)	70	100	4	10,3	6
<i>Lon</i>	P	3.92 (0.2)	5.73 (0.6)	10.33 (3.9)	3.26 (1.4)	33.26 (39.4)	2.28 (0.4)	3.48 (1.1)	120	150	4.5	2,4,6,7	4
<i>Cal</i>	P	2.76 (0.3)	4.86 (0.5)	8.86 (1.2)	3.23 (0.7)	28.45 (7.3)	3.21 (0.4)	4.52 (0.7)	85	125	4.4	10,3,2	2
<i>Rot</i>	A	6.89 (1.1)	7.92 (0.9)	10.54 (2.5)	6.06 (1.3)	62.9 (31.2)	2.78 (0.4)	3.38 (0.9)	85	120	3.5	1,2,4,5,7,9	9
<i>Thu</i>	A	7.40 (1.2)	7.72 (0.4)	13.72 (6.3)	6.93 (4.5)	94.91 (75.1)	2.13 (0.3)	2.47 (0.9)	70	130	3.5	1,2,9	2
<i>Ped</i>	P	5.84 (0.7)	6.61 (0.8)	13.51 (5.1)	3.62 (1.4)	50.85 (33.9)	2.79 (0.6)	3.84 (0.9)	80	120	2.7	2,5,8,3	2
<i>Koe</i>	P	5.37 (0.3)	4.65 (1.7)	7.60 (2.23)	4.16 (3.1)	31.61 (7.23)	2.23 (0.4)	3.17 (1.1)	90	115	3.5	5	1

* Donde: ESP= Especie; *Tub* = *Tithonia tubaeformis*, *Bra* = *T. brachyppapa*, *Div* = *T. diversifolia*, *Fru* = *T. fruticosa*, *Lan* = *T. calva lancifolia*, *Lon* = *T. longiradiata*, *Cal* = *T. c. calva*, *Rot* = *T. rotundifolia*, *Thu* = *T. thurberii*, *Ped* = *T. pedunculata*, *Koe* = *T. koelzii* ; F.V.= Forma de vida (A=anual y P=perenne); Tsem= tamaño semilla; Tflo= tamaño flor; Larh= longitud hoja; Anch= Ancho hoja; Area= Area hoja; Cab= tamaño cabezuela; Tallo=diámetro tallo; Nsc= número de semillas por cabezuela; Nfc= número de flores por cabezuela; Alt=altura; T.V.= tipos de vegetación en que está presente la especie (1= Cultivo, 2=Ruderal, 3=Bosque Pino-Encino, 4=Selva Alta perennifolia, 5= Selva Baja Caducifolia, 6=Pastizal, 7=Introducida, 8= Matorral , 9= Bosque mesófilo, 10= Matorral Xérofilo) y N= No. de poblaciones estudiadas.

En *T. tubaeformis*, observamos que **TSEM** muestra variación intraespecífica debido al tipo de vegetación en el cual está presente ($F(2,40) = 20.96, p < 0.0001$). Encontramos que las semillas de mayor tamaño son las que se encuentran asociadas a los matorrales. También encontramos que asociado a ese mismo tipo de vegetación, es donde encontramos las flores (**TFLO**) de mayor longitud, respecto a las que encontramos en cultivos y bosques de pino ($F(4,112) = 5.212, p < 0.0005$). Otro carácter con variación intraespecífica estadísticamente

significativa es el tamaño de la cabezuela **CAB**, para ésta medida, también los valores más altos obtenidos corresponden a la vegetación de matorral ($F(4,70) = 5.139, p < 0.001$). En lo que respecta al tamaño de la hoja (**AREA**), no encontramos variación intraespecífica significativa para ninguno de los tipos de vegetación en los que se reporta la especie. Asimismo, el diámetro del tallo (**TALLO**), el número de flores por cabezuela (**NFC**) y el número de semillas por cabezuela (**NSC**), no mostraron variación intraespecífica estadísticamente significativa.

Tabla 2.- Variación intraespecífica en siete caracteres morfológicos para 11 especies del género *Tithonia* (Asteraceae) *.

ESPECIE	N	Tsem	Tflo	Cab	Area	Nfc	Nsc	Tallo
<i>Tub</i>	14	X(3/14)	X(4/14)	-----	-----	-----	-----	X(2/14)
<i>Bra</i>	2	X(2/2)	-----	-----	-----	-----	-----	-----
<i>Div</i>	11	X(7/11)	X(5/11)	X(7/11)	X(4/11)	-----	-----	-----
<i>Fru</i>	4	X(2/4)	X(1/4)	-----	X(1/4)	-----	-----	-----
<i>Lan</i>	6	X(2/6)	-----	-----	-----	-----	-----	-----
<i>Lon</i>	4	X(2/4)	X(3/4)	X(1/4)	-----	-----	-----	-----
<i>Cal</i>	2	-----	X(2/2)	-----	X(2/2)	-----	-----	-----
<i>Rot</i>	9	X(4/9)	X(2/9)	-----	-----	-----	-----	X(2/9)
<i>Thu</i>	2	X(2/2)	X(2/2)	-----	-----	-----	-----	X(2/2)
<i>Ped</i>	2	X(2/2)	X(2/2)	X(2/2)	X(2/2)	-----	-----	-----
<i>Koe</i>	1	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----

* Donde: la nomenclatura para las especies estudiadas y los caracteres evaluados son los anotados en la Tabla 1; X = representa que existen diferencias estadísticamente significativas $p < 0.05$, entre localidades, para un análisis de varianza de una vía y entre paréntesis se señala en cuántas poblaciones respecto al total, existen diferencias estadísticamente significativas ; --- = no existen diferencias estadísticamente significativas entre localidades.

En *T. thurberii* para **TSEM**, **CAB**, **AREA**, **NFC**, **NSC** y **TALLO**, no se observa que la variación sea estadísticamente significativa, aunque la tendencia es encontrar tamaños mayores para éstos caracteres en vegetación de zonas perturbadas. Solamente para **TFLO** se observa que la variación es estadísticamente significativa y es en la vegetación riparia donde se encuentran las flores de mayor longitud ($F(3,20) = 3.721$, $p = 0.02$)

T. rotundifolia sólo muestra variación en el tamaño de la semilla, (**TSEM**), ($F(4,44) = 4.853$, $p = 0.0025$) y para el parámetro **AREA**, ($F(8,133) = 2.010$, $p = 0.0498$). En lo que respecta a **TFLO**, **CAB**, **NFC**, **NSC** y **TALLO** no se detectó variación estadísticamente significativa.

T. brachypappa, la cuarta de las especies anuales del género, sólo mostró variación en lo que respecta al tamaño de la semilla ($F(1,17) = 4.875$, $p < 0.05$). En los otros seis caracteres evaluados no se observaron diferencias. En *T. pedunculata*, una de las especies endémicas del país restringida a la zona del Istmo de Tehuantepec, sólo muestra variación estadísticamente significativa en el carácter, **AREA**, ($F(4,50) = 8.634$, $p < 0.00001$). En los restantes seis caracteres no se observaron diferencias, aunque es relevante mencionar que persiste la

tendencia a encontrar tamaños mayores en la vegetación del tipo matorral.

T. longiradiata, presenta variación estadísticamente significativa en el tamaño de la semilla (**TSEM**), ($F(2,22) = 4.546$, $p = 0.0223$) y en la longitud de la flor (**TFLO**), ($F(5,68) = 2.337$, $p = 0.05$); en ambos casos se presentan los tamaños mayores en zonas de perturbación, clasificadas como vegetación ruderal. Para los demás caracteres no tenemos variación significativa.

En *T. calva lancifolia*, observamos que sólo el tamaño de la semilla (**TSEM**), presenta variación estadísticamente significativa asociada a los tipos de vegetación, ($F(1,23) = 24.926$, $p < 0.00001$) y la población con tallas mayores se encuentra en sitios cercanos a cultivos, en particular cultivos de caña. No se detectó variación en algún otro de los caracteres estudiados.

T. fruticosa, no presenta variación asociada al tamaño de la semilla (**TSEM**), sin embargo para los caracteres **TFLO** ($F(3,45) = 18.542$, $p < 0.00001$) y **AREA** ($F(3,36) = 10.99$, $p < 0.00001$), si se presentan diferencias asociadas a los diferentes tipos de vegetación en los que se encuentra presente. Para ambos caracteres, los valores mayores se observan en bosques de pino encino. Para el resto de las evaluaciones no se encontraron diferencias en los diferentes ambientes.

T. diversifolia, presenta variación en cuatro de los siete caracteres analizados, probablemente por ser una especie que ha sido ampliamente dispersada por su importancia ornamental. El tamaño de la semilla (TSEM) es diferente entre localidades ($F_{(4,42)}=3.491$, $p=0.015$) y los valores más altos corresponden a vegetación del tipo matorral. El carácter AREA, ($F_{(11,229)}=3.98$, $p<0.00001$), presenta los valores más altos en la vegetación del tipo de matorral. El diámetro de la cabezuela (CAB), también es diferente entre poblaciones ($F_{(11,148)}=3.015$, $p = 0.0012$), correspondiendo los tamaños mayores a las vegetaciones de zona perturbadas. Finalmente el diámetro del tallo también difiere entre poblaciones, ($F_{(11,195)}=6.067$, $p < 0.00001$) y los valores mayores corresponden a las poblaciones asociadas a zonas de cultivo. Para los demás caracteres no se observó ninguna diferencia estadísticamente significativa.

En *T. calva calva*, se obtuvieron diferencias en el tamaño de la flor (TFLO), ($F_{(2,16)} = 9.672$, $p=0.0018$), las poblaciones asociadas a selva baja caducifolia, presentaron los tamaños mayores. El parámetro AREA, también difiere entre poblaciones ($F_{(3,25)}=3.967$, $p=0.193$), correspondiendo los valores mayores a las vegetaciones perturbadas. El resto de los parámetros estudiados no

presenta variación estadísticamente significativa.

Por último, *T. koelzii* no fué analizada siguiendo este criterio puesto que se encuentra restringida a una sólo localidad y por lo tanto un sólo tipo de vegetación lo cual no permite establecer comparación alguna.

2.- Variación interespecífica.

En la tabla (3), se presentan los resultados de un análisis de varianza para comparar ,entre especies, los diez caracteres morfológicos analizados en este trabajo.

Es importante considerar que en todos los caracteres evaluados, encontramos diferencias ($p<0.000001$).

3.- Variación por forma de vida.

El tamaño de la semilla (TSEM), difiere entre especies anuales y perennes de manera importante ($F_{(1,203)}=44.3267$, $p<0.00001$). El promedio para las especies anuales (+/- desviación estandar) fué de 6.25 +/- 0.35 cm y para las especies perennes fué de 4.85 +/- 0.30 cm. Es interesante anotar que existe poco solapamiento entre las especies y sólo una especie anual *T. tubaeformis*, presenta tamaños menores que un par de especies perennes *T. diversifolia* y *T. pedunculata*. Con excepción de esta relación, son claros los patrones de

diferenciación entre especies anuales y

perennes.

Tabla 3.- Análisis de varianza de una vía para siete caracteres morfológicos entre once especies del género *Tihonia* (Asteraceae).

CARACTER	VALOR DE F (g.l)	probabilidad
TSEM	$F_{(10,195)} = 26.1878$	$p < 0.000001$
TFLOR	$F_{(10,790)} = 34.4981$	$p < 0.000001$
AREA	$F_{(10,908)} = 13.0630$	$p < 0.000001$
NSC	$F_{(10,769)} = 13.9155$	$p < 0.000001$
NFC	$F_{(9,195)} = 26.1878$	$p < 0.000001$
TALLO	$F_{(10,569)} = 30.6828$	$p < 0.000001$
CAB	$F_{(10,464)} = 7.4927$	$p < 0.000001$

En lo que respecta al tamaño de la flor (TFLO), se presenta la misma tendencia que en el caso anterior ($F_{(1,798)}=5.4870$, $p=0.0194$). El valor para las especies anuales es 8.9 +/- 0.8 cm y para las especies perennes es de 7.4 +/- 0.6 cm. Para éste parámetro no se observa claramente la diferenciación asociada a formas de vida y no se pueden formar grupos como en el caso anterior. La especie con el valor promedio mayor es una perenne *T.fruticosa* y una de ciclo de vida anual *T. brachypappa* presenta en promedio las flores de menor tamaño.

En lo que respecta al diámetro de la cabezuela (CAB), también encontramos diferencias asociadas al hábito, ($F_{(1,472)} = 6.8603$, $p=0.0090$). Para éste carácter tampoco vemos claramente una separación entre

especies anuales y perennes, de hecho los valores promedio mayor y menor corresponden a dos especies anuales: *T. rotundifolia* y *T. brachypappa* respectivamente. El diámetro promedio para las especies anuales es 2.55 +/- 0.11 cm y para las perennes es de 2.36 +/- 0.14 cm.

El parámetro AREA, no presenta ninguna diferencia entre los hábitos anual y perenne, ($F_{(1,916)}=0.9086$, $p=0.7619$). Tampoco se observa que las especies con ciclo de vida similar tiendan a agruparse y la especie que presentan mayor área es una de ciclo de vida anual *T. thurberii* y la de menor área es *T. calva lancifolia* una especie perenne. El promedio para las especies anuales es de 60.5 +/- 8.05 cm² y el de las perennes es de 62.7 +/- 6.00 cm².

Tabla 4.- Análisis de varianza de una vía para siete caracteres morfológicos entre especies del género *Tithonia* (Asteraceae) de hábitos anual y perenne.

CARACTER	VALOR DE F (g,l)	probabilidad
TSEM	F _(1,203) = 44.3257	p <0.000001
TFLOR	F _(1,798) = 5.4870	p = 0.0194
AREA	F _(1,916) = 0.9086	p = 0.3407
NSC	F _(1,770) = 23.6062	p <0.000001
NFC	F _(1,694) = 0.2836	p = 0.5945
TALLO	F _(1,577) = 54.1860	p <0.000001
CAB	F _(1,472) = 6.8603	p = 0.0090

El diámetro del tallo (**TALLO**), si muestra diferencias entre ambos tipos de ciclo de vida ($F_{(1,577)}=54.1860$, $p<0.000001$). Las especies anuales presentan un diámetro promedio de 4.00 +/-1.95 cm y el de las perennes es de 12.02 +/-1.50. Para este caracter si se presenta una tendencia a agruparse para las especies anuales y perennes. Tres de las cuatro especies anuales

T.tubaeformis, que presenta el menor valor promedio para éste caracter, *T. thurberii* y *T. rotundifolia* son las que presentan tallos de menor talla. La especie anual restante *T. brachypappa* es una de las de mayor talla. Todas las especies perennes para éste caso particular si se encuentran formando un grupo común y *T. fruticosa* es la especie con valores promedio mayores.

Tabla (5).- Valores de la varianza y varianza acumulada para los primeros cinco componenetes, de un análisis de componentes principales de la variación morfológica en el género *Tithonia* (Asteraceae). *

Componente	Porcentaje de la varianza	Varianza acumulada
1	24.501	24.501
2	19.208	43.709
3	18.705	62.414
4	11.408	73.823
5	9.321	83.144

*Se consideraron para el análisis los caracteres morfológicos, las variables del ambiente (ver material y método) y los tipos de vegetación donde se presentaron las especies.

3.- Diferenciación entre especies.

Para obtener información sobre la diferenciación entre poblaciones y la importancia de los componentes del ambiente abiótico, es que se procedió a realizar un análisis de componentes principales (ACP). El porcentaje de la

varianza acumulada para los primeros cuatro componentes es del 73.83% (Tabla 5). Con ésta información se elaboró la proyección de la distribución de las especies con base en los dos primeros componentes, lo que representa el 43.71% de la varianza total acumulada (Fig.4).

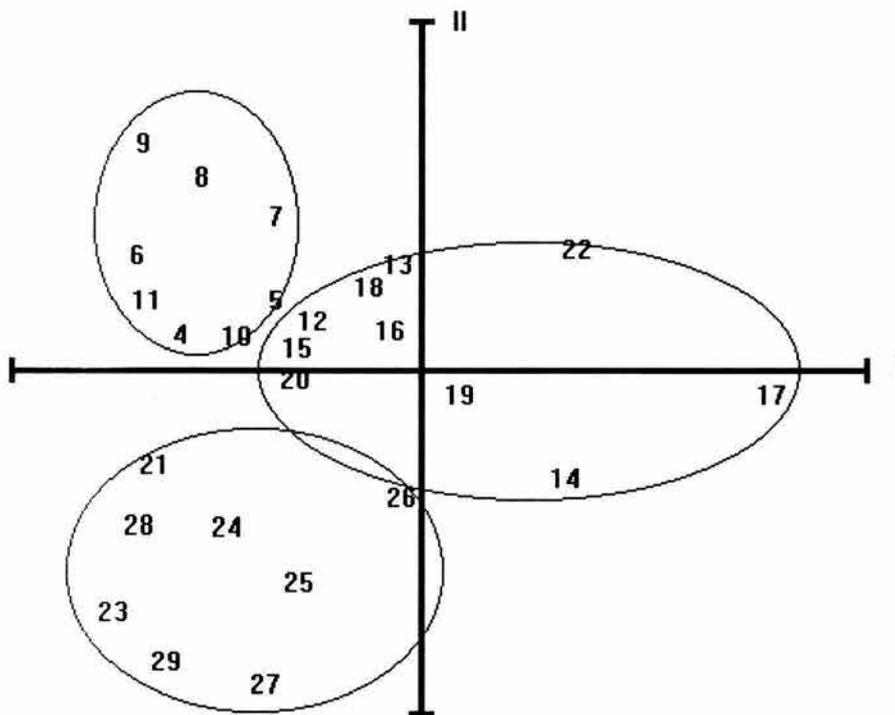


Figura 4.- Proyección de los dos primeros componentes, para un análisis de componentes principales (ACP), para nueve características morfológicas (y sus coeficientes de variación) en once especies del género *Tithonia* y características del ambiente en los sitios de colecta donde: 1=especies, 3=hábito, 4=tipo de vegetación, 5= temperatura (°C), 6=C.V.temperatura, 7=cociente pp/temp., 8=pp.invernal, 9=oscilación temp., 10=precipitación, 11= C.V.precipitación, 12=TSEM, 13=TFLO, 14=LARH, 15=ANCH, 16=Area, 17=CAB, 18=Tallo, 19=Borde, 20=Pubescencia, 21 a 29=C.V. para las variables 12 a 20.

Podemos observar claramente tres grupos: el primero está compuesto por los elementos del ambiente y las características de las flores. En el segundo grupo están las medidas de varianza de los caracteres morfológicos y el tercer grupo está compuesto por los caracteres morfológicos y las varianzas de los caracteres florales. Cuando hacemos la proyección para los

primeros dos componentes, pero ahora considerando la posición de la especie, encontramos también tres grupos (Fig.5). El primer grupo está compuesto por las especies perennes y el segundo y el tercero están formados por las especies anuales y en cada uno de esos grupos encontramos a dos especies.

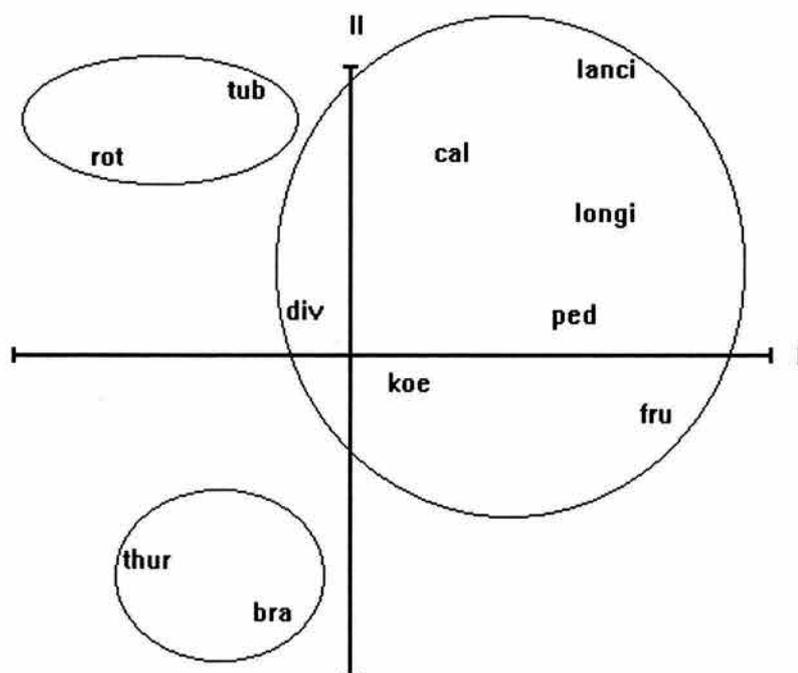


Figura 5.- Proyección de los dos primeros componentes para un análisis de componentes principales (43.70% de la varianza acumulada) para once especies del género *Tithonia* (Asteraceae), considerando once características morfológicas. (la nomenclatura de las especies y las variables empleadas se muestran en la Tabla 1 de este capítulo).

4.- Análisis comparativo.

En la Tabla (6) se muestran los análisis de autocorrelación de Gittleman y Kott (1990) y Miles y Dunham (1992), para

los siete caracteres morfológicos analizados. Los resultados son consistentes entre ambas metodologías, observamos claramente que los patrones son similares y también

significancia estadística para los mismos caracteres. Con el análisis de Gittleman y Kott (1990), para los siguientes parámetros tenemos coeficientes de autocorrelación significativos: **TSEM**, **TFLO**, **CAB**, **NSC** y **NFC**. Los valores de varianza explicada por los mismos oscilan entre el 5% para **CAB** y el 31% de **TSEM**.

Con la metodología de Miles y Dunham (1992), tenemos valores del coeficiente de autocorrelación estadísticamente significativos para **TSEM**, **CAB**, **NFC**, **NSC** y **TFLO**. Para este caso tenemos que las fracciones asociadas a las varianzas explicadas por la filogenia, fluctúan entre el 10% para **TFLO** y el 67% para **NSC**.

Resulta interesante que ambas metodologías proporcionen el mismo resultado, en términos de que caracteres son estadísticamente significativos, aunque el procedimiento particular de cada método difiera. Probablemente esos cinco caracteres están tan fuertemente influenciados por la historia evolutiva del grupo, que el resultado no se modifica independientemente del método empleado.

IV.- DISCUSION.

Se detectó como primer aspecto relevante la presencia de variación morfológica tanto a nivel

intraespecífico como a nivel interespecífico y asociada a los tipos de vegetación donde se encuentran las diferentes especies del género *Tithonia* estudiadas. También existe diferenciación asociada a los ciclos de vida anual y perenne. Para Wyatt y Antonovics (1981), este punto es relevante para entender la evolución de las especies aunque no necesariamente el único, a esto debemos añadir información de la variación genotípica y ecológica (ver capítulos III y IV). Sin embargo es una evidencia para tratar de comprender la naturaleza adaptativa de la variación morfológica. Para Bock (1977), determinar la adaptación directamente con este tipo de enfoque es realmente complicado si no es que imposible, dado que al analizar la variación y diferenciación en el presente, nos olvidamos del proceso histórico que es muy importante. Es importante anotar que para este estudio en *Tithonia*, se ha considerado la perspectiva histórica vía la propuesta cladista de La Duke (1982), con lo cual se robustece la interpretación evolutiva de la variación fenotípica. También es importante anotar que aunque los patrones de variación morfológica observados en *Tithonia* son continuos, es posible apreciar grupos asociados a los hábitos anual y perenne y muy importante a la variación del ambiente (ver Fig.4). La importancia del hábito en la familia ha sido reportada también

en el género *Coreopsis*, donde se ha detectado que las especies anuales forman un grupo monofilético (Smith 1982).

El carácter morfológico que presentó una de las mayores diferencias tanto a nivel inter como intraespecífico fué el tamaño de la semilla (TSEM). Harper *et al.* (1970) han mencionado que el tamaño de la semilla y el número de semillas en una especie o población ha sido el resultado de selección natural sobre tamaños de semilla grandes o gran número de semillas, cuando los recursos son escasos, resultando en correlaciones negativas entre el número de semillas y el tamaño. En el ejemplo particular del género *Tithonia* para el

número de semillas (NSC), encontramos variación aunque no se puede afirmar que exista la correlación negativa y por lo tanto podríamos pensar que aquí el compromiso entre tamaño y número no existe. Probablemente las consecuencias en las diferencias entre tamaño y número sólo tienen sentido "ecológico" y no geográfico y de alguna forma intraespecífico y no interespecífico. Lo que resulta importante de lo anterior es entender que los patrones de variación morfológica han evolucionado de manera particular en cada una de las especies y como resultado de las condiciones particulares de cada localidad donde aparecen las especies.

Tabla (6).- Análisis de autocorrelación según: (1) Gittleman y Kott (1990) y (2) Miles y Dunham (1992), para siete caracteres morfológicos en 11 especies del género *Tithonia* (Asteraceae).

CARÁCTER	COEFICIENTE DE AUTOCORRELACION (1)	R ²	COEFICIENTE DE AUTOCORRELACION (2)	R ²
TSEM	0.54 *	0.31	0.75 *	0.62
TFLOR	0.29 *	0.08	0.33 *	0.10
AREA	0.18	0.15	0.05	0.01
NSC	0.31 *	0.05	0.83 *	0.67
NFC	0.37 *	0.14	0.71 *	0.58
TALLO	0.12	0.04	0.18	0.13
CAB	0.22 *	0.05	0.40 *	0.15

* = p < 0.05. la nomenclatura de los caracteres es la misma que la de la tabla (1).

La diferenciación geográfica entre poblaciones ha sido ampliamente reportada en muchas especies tanto

animales como vegetales (ver Gould y Johnston 1972). Pero, asociada a ésta variación, también está presente la

variación genotípica la cual, se verá reflejada en el desempeño ecológico de las especies y como punto importante está el hecho de que la distribución actual de las especies, también refleja eventos históricos. Sin embargo, la mayoría de los estudios no consideran este último punto y la importancia de la historia no queda lo suficientemente enfatizada. Por lo anterior es que hemos añadido a este estudio un enfoque histórico al implementar las técnicas de los análisis que actualmente están incluidos en lo que se ha llamado el Método Comparativo (*sensu* Harvey y Pagel 1992). Lo relevante de ésta metodología es que incorpora la información filogenética de las especies a estudiar y permite discernir que tanto de la varianza de la respuesta fenotípica observada está asociada a la hipótesis evolutiva (ver Introducción General). Se emplearon los métodos de Gittleman y Kott (1990) y el de Miles y Dunham (1992). Ambos métodos han sido postulados con la misma filosofía, sin embargo, difieren en la forma en que emplean la información taxonómica. El método de Gittleman y Kott (1990), funciona más bien como un análisis anidado y el de Miles y Dunham (1992) es estrictamente un análisis de autocorrelación. Algo interesante es que los resultados no son necesariamente iguales numéricamente, pero sí tienen el mismo patrón. Ambos modelos generan el estimador R^2 , el

cual nos indica la fracción de la varianza en el carácter debida a compartir una historia común. Si el estimador de Miles y Dunham (1992), es mayor, indica una gran restricción filogenética, esto es, que una fracción muy importante de las características que observamos actualmente están determinadas por procesos históricos. Las fracciones explicadas por la filogenia van del 10% al 67%. El modelo de Gittleman y Kott (1990), es más conservador en este sentido, aunque también menciona que la historia es muy importante en la respuesta actual, los porcentajes de la varianza asociados a la historia son para cinco de siete caracteres menores al 10%. Estas diferencias tan grandes pueden estar asociadas a los supuestos de cada modelo y la forma en la que se utilice la filogenia.

Lo realmente importante radica en el hecho de que estamos demostrando que una fracción importante de la variación morfológica y geográfica tiene un componente histórico nada despreciable.

Pero también conviene señalar que para el modelo de Gittleman y Kott (1990), las fracciones de la varianza que no están explicadas por la historia, están asociadas a la evolución ulterior del taxón y según Cheverud *et al.* (1985), pueden entenderse como **adaptaciones**. Es claro que debemos tener mucho cuidado para hacer una

afirmación de ese estilo, dado que no tenemos una hipótesis adaptativa que falsificar; esto es un estimador objetivo de como llegar a entender el peso de la adaptación. En este estudio se está presentando que tanto de la variación morfológica de diferentes especies en diferentes ambientes, puede llegar a entenderse como adaptación.

Para entender el peso adaptativo de los caracteres estudiados, además del enfoque comparativo, debemos entender el papel que cada uno tiene respecto a la adecuación del organismo y como es que la selección natural ha actuado sobre los mismos.

Asimismo, con la información filogenética podemos hacer hipótesis sobre la adaptación, aunque independientemente de las dificultades para llegar a conocer o inferir los

mecanismos evolutivos. La importancia de este estudio radica en combinar los análisis de variación geográfica y los comparativos, para entender que tanto podemos considerar como una adaptación las respuestas fenotípicas que observamos actualmente en los organismos.

Para concluir, es importante recalcar que este enfoque es parcial y enfocado a tratar de entender la variación morfológica en el género *Tithonia*. Debemos considerar que la complejidad de las correlaciones genéticas entre caracteres fenotípicos y la importancia de las variables que afectan el desarrollo y la adecuación, provocan que sea difícil inferir sobre los eventos de selección del pasado, únicamente empleando el método comparativo.



BIBLIOTECA
INSTITUTO DE ECOLOGIA
UNAM

BIBLIOGRAFIA

- Antonovics, J. (1976). The nature of limits to natural selection. **Annals of the Missouri Botanical Garden**. 63:224-227.
- Cuadras (1981).
- Cheverud, J.M., M.M. Dow y W. Leutenegger, W. (1985). The quantitative assessment of phylogenetic constraints in comparative analyses: sexual dimorphism in body weight among primates. **Evolution**. 39:1335-1351.
- García, E. (1988). Modificaciones al Sistema de Clasificación Climática de Köppen. Instituto de Geografía, UNAM.
- Gittleman J.L. y M. Kot (1990). Adaptation: Statistics and a null model for estimating phylogenetic effects. **Systematic Zoology**. 39(3):227-241.
- Gould, S.J. y R.F. Johnston (1972). Geographic variation. **Annual Review of Ecology and Systematics**. 3:457-498.
- LaDuke, J.C. (1982). Revision of *Tithonia*. **Rhodora**. 84(840):453-522.
- Miles, D.B. y A.E. Dunham (1992). Comparative analyses of phylogenetic effects in the life history patterns of iguanid reptiles. **American Naturalist** 139:848-867.
- Parsons, P.A. (1988). Adaptation. En: **Analytical Biogeography. An integrated approach to the study of animal and plant distributions**. (eds. A.A. Myers y P.S. Giller). Chapman and Hall. 578 pp + xiii
- Piñero, D. (1982). **Correlation between enzyme phenotypes and physical environment in California populations of *Avena barbata* and *Avena fatua***. Ph.D Thesis. University of California Davis. EUA.
- Rensch, B. (1960). **Evolution above the species level**. Willey and Sons, Inc. New York. EUA.
- Smith, E.B. Phyletic trends in section *Coreopsis* of the genus *Coeropsis* (Compositae). **Botanical Gazette** (143): 121-124.

Wyatt, R. y J. Antonovics (1981). Butterflyweed revisited: spatial and temporal patterns of leaf shape variation in *Aclepias tuberosa*. **Evolution**, 35:529-542.

Zar, J.H. (1984). **Biostatistical Analysis**. 2^a Ed. Prentice-Hall Inc. New Jersey. EUA.

CAPITULO III.- VARIACION GENÉTICA EN EL GÉNERO *Tithonia* (ASTERACEAE).

RESUMEN.

Se estudió la variación genética en once especies del género *Tithonia* para obtener los indicadores de polimorfismo y heterocigosis y se calcularon los estadísticos F de Wright, para conocer como actúan los agentes de evolución en este género. Finalmente con una matriz de presencia y ausencia de alelos se construyó un dendrograma para compararlo con la topología de las relaciones filogenéticas propuesta a partir de la información morfológica. El análisis de la estructura genética se obtuvo con siete enzimas: ADH, 6-PGD, PGI, EST, MDH, PGM y MNR. El número promedio de alelos varía entre 1.4 y 2.1. Los índices de heterocigosis fluctúan entre 0.103 y 0.178, no se muestra diferencia alguna entre especies de hábito anual y perenne y tampoco respecto a lo esperado, según el equilibrio Hardy-Weinberg. Los estadísticos F_{st} son estadísticamente diferentes de 0 lo que sugiere poca migración y se propone que la diferenciación observada es debido a selección. En lo que respecta al análisis de la afinidad genética entre especies y la topología propuesta, se obtuvo que esta no es concordante con la hipótesis evolutiva morfológica, sobre todo en lo que se refiere a la posición de las especies de hábito anual, que en la topología morfológica conforman un grupo. La disposición de las especies perennes tampoco es concordante.

I.-INTRODUCCION.

Para delimitar analíticamente los procesos evolutivos que determinan la distribución de una especie, un enfoque adecuado sería un estudio comparativo de la estructura genética de diferentes poblaciones de una especie que ha explotado exitosamente diferentes ambientes (Silander y Antonovics 1979). Asimismo, los niveles y patrones de variación genética tienen un papel importante en determinar el potencial

evolutivo de una especie. Los patrones de variación genética están fuertemente determinados por los efectos de cinco procesos evolutivos fundamentales: i) deriva génica, ii) migración, iii) sistemas de apareamiento, iv) mutación y v) selección. Con base en lo anterior, se ha determinado que para entender la biología evolutiva de una especie, se debe tener conocimiento de la variación genética de ésta (Lewontin 1974, Endler 1977).

Aún cuando la variación fenotípica y ecológica ha sido documentada extensivamente, la base genética de dicha diferenciación no lo ha sido en todos los casos. Los estudios de variación genética involucran principalmente dos aspectos, el primero se refiere a la descripción de los niveles de variación y el segundo se relaciona con la manera en la cual está repartida ésta variación (Clegg y Brown 1983). El conocimiento de la distribución de la variación genética ofrece información complementaria para el entendimiento de las interacciones entre características ecológicas y de historia de vida, tales como mecanismos de polinización, dispersión de semillas y fecundidad y de como éstas interacciones moldean la estructura genética de las poblaciones (Hamrick 1983).

Una metodología empleada para la evaluación de la variabilidad genética en las poblaciones naturales lo constituye el análisis de la variación enzimática. Con esta técnica se pueden estimar la proporción de loci polimórficos, así como la frecuencia de individuos heterocigos para un locus dado (Lewontin 1974, Hedrick 1983). Asimismo, la variación genética para una especie puede ser dividida en diferentes niveles de análisis, por ejemplo entre poblaciones y subpoblaciones (Levin 1977).

Aunque ha sido posible obtener correlaciones entre la variabilidad genética de enzimas que intervienen en el metabolismo y condiciones ambientales particulares, se desconocen las causas de tales correlaciones (Clegg y Allard 1972 y Nevo et al. 1986). Se ha propuesto que la selección natural podría mantener combinaciones de genes en ciertos ambientes y que dichas combinaciones son en parte adaptativas (Allard et al. 1972). También se desconoce si los caracteres involucrados en la adaptación para un determinado hábitat están asociados con la variación a nivel enzimático; o explícitamente si esta variación se asocia con variación en caracteres morfológicos o de historia de vida de las plantas (Primack y Kang 1989).

La cantidad de variación genética de una especie depende en gran medida de su ecología, por lo tanto es necesario considerar los hábitats que ocupa. En el caso de especies de sitios perturbados, se ha supuesto que sus genomas son pobres en diversidad genética debido a que fundan poblaciones con pocos individuos (Slatkin 1987). Así, el conocimiento de la distribución de la variación en las poblaciones de este tipo, puede dar gran cantidad de información acerca de los procesos evolutivos que la producen.

La mayoría de las especies de plantas presentan niveles de variación

moderados o altos y se han detectado algunos patrones en esta variación. Así, por ejemplo las plantas de ciclo de vida largo, de amplia distribución y con polinización cruzada presentan más variación que las de ciclo corto, distribuciones restringidas y alutopolinización (Hamrick 1983).

Marcadores isoenzimáticos en la reconstrucción de inferencias filogenéticas.

El establecer las relaciones filogenéticas para un grupo de especies, implica elaborar una hipótesis evolutiva con base en los caracteres que comportan los diferentes taxa. Para elaborar una filogenia, la información con la que se debe contar puede ser morfológica, ADN (secuenciación por ejemplo) o de proteínas. En general las técnicas de electroforesis de aloenzimas han sido una herramienta útil en la sistemática (Wendel y Weeden 1989).

Si contamos con información de proteínas, podemos seguir dos procedimientos: i)Elaborar una matriz de distancias genéticas ya sea como medida de similitud (Rogers 1972) o de identidad genética (Nei 1978) y ii) Construir una matriz de presencia ausencia de alelos (Swofford y Olsen 1990).

El método de distancias genéticas más comúnmente utilizado es el de Nei (1978) y consiste en

transformar las frecuencias alélicas en unidades de distancia genética, posteriormente se estima el número de sustituciones que han ocurrido desde que dos taxa divergieron. El estimador de distancia se obtiene como:

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

Las identidades y distancias genéticas se obtienen para pares de poblaciones. La identidad I toma valores entre 0 (si las dos poblaciones no comparten alelos) y 1 (si presentan frecuencias alélicas idénticas). La distancia D toma valores desde 0 si las frecuencias alélicas entre las dos poblaciones son idénticas y vale ∞ si las poblaciones no comparten alelos (Hedrick 1983). Las técnicas de “**Neighbor-Joining**” y **UPGMA** (Unweighted Pair Group Method with arithmetic Average”) son las más comúnmente empleadas para la reconstrucción filogenética cuando se cuenta con una matriz de distancias genéticas. Swofford y Olsen (1990), detallan la rutina que sigue cada método.

El segundo método, que emplea matrices de presencia-ausencia de alelos, permite construir hipótesis evolutivas conforme la metodología cladista. En particular, Swofford (1985) ha propuesto el análisis filogenético empleando la técnica de parsimonia (**Phylogenetic Analysis Using Parsimony**). El método permite el uso de caracteres con más de dos

estados (estados múltiples), no impone restricción alguna a las reversiones, no presupone la dirección del cambio de los estados de caracteres considerando todas las posibles series de transformación como igualmente posibles. Este programa implementa el criterio de parsimonia de Wagner, no da prioridad a unos caracteres sobre otros, para los estados desconocidos de un carácter los define con base en la condición que produzca el árbol más parsimonioso.

¿Porqué es importante estudiar la variación genética en el género *Tithonia* ?

El estudio del género *Tithonia*, es importante puesto que tenemos especies contrastantes en sus hábitos, en su distribución geográfica (existen cinco especies endémicas) y en sus tamaños poblacionales. Por lo tanto, analizar la diversidad genética para especies dentro del mismo género, nos permitirá hacer inferencias sobre los procesos evolutivos que han influido en la diferenciación del género. Asimismo, con la evidencia de variación genética, pueden establecerse hipótesis de la historia evolutiva del grupo.

Con base en lo anterior, es que los objetivos del presente estudio son los siguientes:

i) Conocer y describir la diversidad genética en 11 especies del género

Tithonia (Asteraceae) con base en los análisis electroforéticos de isoenzimas y los indicadores más comunes como son los índices de polimorfismo y los de heterocigosis. ii) Obtener los estadísticos **F** de Wright para conocer y entender como actúan los agentes de evolución en este género. iii) Construir un dendrograma de similitudes genética, con base en la información enzimática, para compararlo con la hipótesis de evolución morfológica de La Duke (1982).

II.- MATERIALES Y METODOS.

El material colectado para este estudio, proviene básicamente de los sitios reportados por LaDuke (1982). Las especies utilizadas en este apartado, así como las localidades y los registros de referencia, se reportan en el APÉNDICE 1.

De cada población colectada se obtuvieron semillas provenientes de cabezuelas individuales para realizar análisis electroforéticos y obtener las medidas de variación genética así postular una topología de distancias genéticas entre las especies. Los análisis electroforéticos se realizaron siguiendo la técnica estandar de geles en almidón (Cheliak y Pitel 1984). En particular se emplearon los sistemas "C" y "D" de maíz (*Zea mays* L.)

(Stubber *et al.* 1988 ver APÉNDICE 2).

Para hacer los corrimientos electroforéticos, del material colectado se seleccionó una semilla por cabezuela por individuo. Los diferentes individuos se colocaron en cajas Petri y se hidrataron, para posteriormente remover la testa. Habiendo removido el embrión se aplicaron tres gotas del Buffer de Extracción para semillas de coníferas (Cheliak y Pitel 1984, ver receta en APÉNDICE 2) y, se maceró el tejido. Posteriormente se embebió el tejido papel filtro para cromatografía ("wicks") Whatman No. 17, de 0.5 cm de ancho y 1 cm de largo. Generalmente de cada macerado se obtuvieron 4 y hasta 5 "wicks", los cuales se conservaron en un ultracongelador REVCO a menos 70 °C.

El tejido utilizado se "montó" en geles de almidón de papa hidrolizado para electroforesis. Cuando el "wick" que se utiliza como indicador había avanzado entre 8 y 8.5 cm se detuvo el corrimiento y se procedió a la tinción del tejido. Posteriormente se procede a interpretar las enzimas teñidas con un criterio general.

Los geles se interpretan siguiendo el siguiente criterio: cada banda producida por un individuo en un gel teñido para una enzima dada, representa una **isoenzima**, los fenotipos de una isoenzima pueden ser

considerados alternativos para un loci (**aloenzima**).

Para un locus dado, el número de bandas varía entre individuos homocigos y heteocigos y dependiendo de la estructura cuaternaria de la enzima. Cuando la enzima es monomérica, los homocigos presentan una banda y los heterocigos dos, si es dimérica los heteocigos presentan tres y cuando es tetramérica presentan cinco.

Análisis de Resultados

La variación genética se estimó con las medidas generalmente empleadas en estos estudios, que son:

- i).- **(P)**: proporción de loci polimórficos.
- ii).- **(H)**: heterosis promedio esperada por locus individual.
- iii).- **(Ht)**: heterosis promedio total por locus (Hedrick 1983).

La forma en la cual se obtiene estos estimadores, es la siguiente:

i).- Se considera polimórfico un locus cuando el alelo más común presenta una frecuencia menor a 0.95 ó 0.99. Toma valores entre **0** (ningún loci es polimórfico) y **1** (todos los loci son polimórficos). El estimador se obtiene con la siguiente razón:

$$P = x/m$$

donde: **x**=No. de loci polimórficos y **m**=total de loci muestreados. (Nei 1987).

ii) y iii).- La heterosis promedio esperada en el equilibrio Hardy-Weinberg, se calcula con la relación:

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

donde: P_i es el promedio de las frecuencias alélicas y toma valores entre 0 (no existe variación) y 1 (cuando se tiene un número infinito de alelos por loci).

La heterosis promedio multilocus (H_t) para n locus, es el promedio de la heterosis por locus sencillo y se calcula:

$$H = (\sum h_j)/r$$

donde: h_j es la heterosis para el j -ésimo locus y r es el número de loci (Nei 1987).

Se obtuvieron los tres estimadores mencionados con el programa BIOSYS-1 (Swofford 1989).

También es posible describir la estructura genética de las poblaciones, con los índices de fijación de Wright (1965).

Estos coeficientes (F_{IS} , F_{IT} y F_{ST}), describen la diferenciación genética a nivel local y total. Lo que es relevante en éstos índices es que permiten separar las posibles causas de diferenciación. ¿Qué indica cada uno de estos estimadores?

- F_{ST} es una medida de la diferenciación genética entre subpoblaciones su valor siempre es positivo y se calcula como:

$$F_{ST} = H_t - H_s / H_t \text{ (Nei 1987).}$$

Donde: H_s es la heterosis promedio esperada sobre todos los loci a nivel subpoblación y H_t es la heterosis promedio esperada sobre todos los loci a nivel de la población total. Cuando F_{ST} toma valores cercanos a **cero**, indica que no existe diferenciación y si es igual con **uno** todas las subpoblaciones son distintas. Si los valores son muy altos, nos indican que está actuando la selección natural y la deriva génica (Hedrick 1983).

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

$$F_{IS} = H_s - H_o / H_s \text{ y}$$

$$F_{IT} = H_t - H_o / H_s$$

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

El coeficiente F_{IS} mide la desviación en un individuo en una población. Toma valores entre -1 (exceso de heterócigos) y + 1 (todos los individuos son homócigos). Cuando el valor es igual con 0, la población

está en equilibrio Hardy-Weinberg (Hedrick 1983).

F_{IT} , mide el total de la diferenciación que se tiene en una población respecto al equilibrio Hardy-Weinberg. Cuando el índice es igual con 1 indica exceso de homócigos, cuando toma valores **negativos** indica exceso de heterócigos y si vale 0 indica un tamaño efectivo de la población grande, lo cual depende principalmente del tamaño de la muestra (Hedrick 1983).

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

En particular es importante valorar para este estudio el valor que tome el estadístico F_{ST} , el cual nos estaría señalando la importancia de la selección natural y la deriva génica en éste género.

Finalmente, con las diferentes enzimas que presentaron actividad y los diferentes alelos de cada una, se elaboró una matriz de presencia-ausencia de alelos. Con esta matriz se procedió a elaborar un cladograma, siguiendo el algoritmo del programa PAUP V.3.0 (Swofford 1985), para establecer la hipótesis de las relaciones evolutivas entre las diferentes especies del género *Tithonia* y comparar la ubicación de las mismas con la hipótesis evolutiva de La Duke

(1982), la cuál se construyó con base en caracteres morfológicos.

III.-RESULTADOS.

Descripción de los sistemas y Patrones de Bando

Se ensayaron un total de 30 enzimas, de las cuales 12 mostraron actividad, sin embargo algunas que mostraron actividad no lo hicieron consistentemente para todas las especies estudiadas. Finalmente se emplearon **siete** enzimas que mostraron actividad en todas las especies. En la Tabla (1), se muestran las enzimas ensayadas, con su respectiva estructura cuaternaria.

Los patrones de bando más comúnmente observados, se muestran en las figuras 1 a 4 [que se encuentran al final de la sección de discusión]. Para Malato deshidrogenasa (**MDH**) en *Tithonia rotundifolia* (población Tecmán, Colima), encontramos los patrones más comunes para enzimas con estructura dimérica y podemos observar tres posibles genotipos (Fig.1A). En La Figura 1B, se observa que no existe variación para la enzima Menadiono reductasa (**MNR**) en *Tithonia calva lancifolia* (población Tepic, Nayarit): para las diferentes especies el patrón más común es el homócigo. Otra enzima que mostró actividad consistentemente en todas las especies es la Fosfoglucoasa mutasa (**PGM**), la cual presenta el

comportamiento típico de un monómero homócigo; en la Fig.2A se muestran los patrones de bandeo para

Tithonia diversifolia (población Córdoba, Veracruz).

Tabla 1.- Sistemas enzimáticos ensayados para las diferentes especies del género *Tithonia* (Asteraceae) en el presente estudio.

ENZIMA	CÓDIGO	SISTEMA ELECTROFORÉTICO	ACTIVIDAD	ESTRUCTURA TERCIARIA
Alcohol deshidrogenasa	ADH **	D	POSITIVA	DÍMERO
Hexoquinasa	HEX	D	POSITIVA	MONÓMERO
Fosfogluconato deshidrogenasa	6-Pgd **	C	POSITIVA	DÍMERO
Adenilato kinasa	Ak	D	POSITIVA	MONÓMERO
Glutamato oxaloacetato transaminasa	GOT	C	NEGATIVA	DÍMERO
Fosfoglucona isomerasa	PGI **	C	POSITIVA	DÍMERO
Leucino aminopeptidasa	LAP	C	NEGATIVA	MONÓMERO
Glutamato deshidrogenasa	GDH	C	NEGATIVA	DÍMERO
Shikimato deshidrogenasa	SDH	D	NEGATIVA	MONÓMERO
Isocitrato deshidrogenasa	IDH	D	POSITIVA	DÍMERO
Aldolasa	ALD	SOLTIS	NEGATIVA	TETRAMERO
Hexoquinasa	HEX	SOLTIS	NEGATIVA	MONÓMERO
Triosa fosfato isomerasa	TPI	SOLTIS	NEGATIVA	DÍMERO
Glucosa-6 fosfato deshidrogenasa	G6PDH	SOLTIS C	NEGATIVA NEGATIVA	DÍMERO
Leucino aminopeptidasa	LAP	D	POSITIVA	MONÓMERO
Esterasa	EST **	D	POSITIVA	DÍMERO
Malato deshidrogenasa	MDH **	D	POSITIVA	DÍMERO
Fosfatasa ácida	AcPH	D	NEGATIVA	MONÓMERO
Peroxidasa catódica	AcPX	LITIO	NEGATIVA	MONÓMERO
Glutamato oxaloacetato transaminasa	GOT	LITIO D	NEGATIVA NEGATIVA	DÍMERO
Diaforasa	DIA	LITIO	NEGATIVA	DÍMERO
Shikimato deshidrogenasa	SDH	LITIO	NEGATIVA	MONÓMERO
Fosfoglucona isomerasa	PGI	LITIO	NEGATIVA	DÍMERO
Fosfoglucona mutasa	PGM **	D	POSITIVA	DÍMERO
Malato deshidrogenasa	MDH	C	NEGATIVA	DÍMERO
Fosfatasa ácida	AcPH	C	NEGATIVA	MONÓMERO
Esterasa	EST	C	NEGATIVA	DÍMERO
Menadiono reductasa	MNR **	C	POSITIVA	TETRAMERO

Donde ** indica los sistemas enzimáticos que dieron resultados positivos en todas las especies y que fueron empleados en los análisis aquí reportados.

La Figura 2B ejemplifica con *Tithonia thurberii* (población Sonora), el caso de Esterasa (EST), esta enzima puede mostrar estructura cuaternaria tanto de un monómero como un dímero y en este caso particular se muestran los tres genotipos posibles de un dímero. En la Figura 3A, se muestran los resultados para Fosfoglucoasa isomerasa (PGI) en *Tithonia rotundifolia* (población Ahuacapán, Jalisco) donde observamos dos patrones de migración. Las bandas más cercanas al origen (PGI-1), muestran variación y dos posibles genotipos; en lo que respecta a las bandas de la zona superior (PGI-2), no se observa variación. Para Alcohol deshidrogenasa (ADH) en *Tithonia thurberii* (población Sonora), el patrón más consistente fué el presentar una banda fija con ausencia de variación (Fig. 3b). Finalmente, en lo que a los patrones de bandeo se refiere, el zimograma de la Figura 4 muestra para Fosfogluconato deshidrogenasa (6-PGD) en *Tithonia thurberii* (población Sonora), las características de un locus monomórfico, el cual fué el resultado más común en las once especies analizadas.

Análisis de la variación genética

Por lo que respecta a las medidas de variación genética, se obtuvieron los siguientes resultados: Se detectaron para todas las especies un total de 19 loci, de los cuales 7 fueron polimórficos. El índice de polimorfismo

(P) fué 0.268 (al 95%). La heterosis promedio observada (H) varió entre 0.110 para *Tithonia calva lancifolia* y 0.172 para *Tithonia rotundifolia*. Asimismo, las heterocigosis esperadas, presentan el mismo patrón. (Ver Tabla 2). Un aspecto que es interesante, se refiere al hecho de que no se agrupan valores similares debido al hábito de las especies, esto es no se presentan valores altos o bajos de heterocigosis por ser especies anuales o perennes. De hecho los valores más altos corresponden a una especie anual y los menores a una perenne (ver Tabla 2).

RELACIONES FILOGENÉTICAS

Respecto a los análisis de similitud, en la Tabla 3 se muestran los valores de presencia-ausencia de alelos para las siete enzimas estudiadas y con esa información se obtuvo el dendrograma de la Figura 5. En el mismo podemos observar que se forman dos grandes grupos, el primero conformado por siete especies y el segundo por las restantes tres. No se detectó claramente un patrón asociado a los diferentes hábitos o a distancias geográficas. Dentro de las características más consistentes está la cercanía de dos especies anuales *Tithonia thurberii* y *Tithonia tubaeformis* y de dos especies perennes *Tithonia calva calva* y *Tithonia calva lancifolia*; ambas dicotomías son las únicas consistencias con la propuesta morfológica de La Duke (1982).

Respecto a los índices de fijación de Wright, en la Tabla 4, se muestra el resumen para todas las enzimas. Los estimados de F_{IT} fueron positivos para todas las enzimas, únicamente en el caso de la enzima PGI-2, los valores son estadísticamente diferentes de 0, sin embargo, el valor promedio no fué diferente de cero. Para

este estadístico, los valores van de 0.160 a 0.849 (el valor para PGI-2), el valor promedio fué 0.444.

Los valores de F_{ST} , fueron todos mayores a 0 incluido el valor promedio y todos fueron estadísticamente diferentes de 0. Los resultados variaron entre 0.292 y 0.816 y el valor promedio fué 0.520.

Tabla 2.- Tamaño de muestra (N), número promedio de alelos, heterocigosis observada y esperada y hábito para 11 especies del género *Tithonia* (Asteraceae).

ESPECIE	N	No. PROMEDIO DE ALELOS *	HETEROCIGOSIS		HÁBITO
			(OBS)	(ESP)	
<i>T. tubaeformis</i>	45	1.5 (0.3)	0.129 (0.150)	0.105 (0.149)	ANUAL
<i>T. brachyppapa</i>	30	1.4 (0.4)	0.128 (0.250)	0.134 (0.167)	ANUAL
<i>T. diversifolia</i>	45	2.0 (0.3)	0.115 (0.119)	0.121 (0.069)	PERENNE
<i>T. fruticosa</i>	30	2.3 (0.5)	0.126 (0.118)	0.131 (0.149)	PERENNE
<i>T. calva lancifolia</i>	30	1.5 (0.3)	0.110 (0.071)	0.092 (0.063)	PERENNE
<i>T. longiradiata</i>	25	1.7 (0.3)	0.117 (0.025)	0.126 (0.079)	PERENNE
<i>T. c. calva</i>	15	1.8 (0.3)	0.105 (0.202)	0.111 (0.124)	PERENNE
<i>T. rotundifolia</i>	45	2.1 (0.3)	0.172 (0.154)	0.139 (0.105)	ANUAL
<i>T. thurberii</i>	35	1.4 (0.3)	0.103 (0.075)	0.113 (0.124)	ANUAL
<i>T. pedunculata</i>	30	1.5 (0.5)	0.117 (0.058)	0.095 (0.055)	PERENNE
<i>T. koelzii</i>	13	1.3 (0.8)	0.109 (0.160)	0.119 (0.114)	PERENNE

* indica el error estándar del estimado.

Finalmente, en lo que respecta a los valores de FIS todos con excepción del valor de PGI-2, fueron negativos, lo cual podría indicar que tenemos exceso de heterocigos, sin embargo ninguno de los resultados es estadísticamente

diferente de cero. Los valores fluctuaron entre -0.089 y 0.180, el valor promedio fué -0.157. Lo que nos indica que estamos en el equilibrio de Hardy-Weinberg.

Tabla 3.- Matriz de prescencia (1) ausencia (0) de alelos para las siete enzimas estudiadas en once especies del género *Tithonia* (Asteraceae) en México.

ESP	ENZIMAS																	
	MDH			MNR			PGI		PGM		EST		ADH		6-PGD			
	1	2	3	1	2	3	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	3	
TUB	1	0	0	1	0	0	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	
BRA	0	0	1	1	1	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	
DIV	1	1	0	1	1	1	0	1	1	1	1	1	0	1	1	0	0	
FRU	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	1	
LAN	1	0	0	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	
LON	1	1	0	0	1	0	0	0	1	0	0	1	1	0	1	1	1	
CAL	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	1	1	
ROT	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	
THU	1	0	0	1	1	1	1	1	0	1	1	0	1	0	1	1	1	
PED	1	0	0	1	0	0	1	0	0	1	1	1	0	0	0	1	0	
KOE	1	1	1	0	1	1	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0	1	

* los nombres de las enzimas, su actividad y estructura se mencionan en la Tabla 1 y los nombres de las especies corresponden a los de la Tabla 2 (el orden es el mismo).

IV.- DISCUSION.

Variación genética.

Los valores para el índice de polimorfismo, fueron menores que para las especies de coníferas estudiadas que oscilan alrededor del 50% (Ledig 1986) y resultaron ser muy similares para los reportados para especies de árboles y arbustos tropicales que presentan valores promedio de P del 25% (Hamrick y Loveless 1986 en Eguiarte

1990) y menores que los de hierbas que oscilan alrededor del 35% (Hamrick et al. 1979). Debemos considerar que este índice es muy sensible al número y tipo de enzimas analizadas, por lo tanto puede caerse en confusiones si se emplean marcadores que tiendan a presentar un comportamiento muy polimórfico. También es importante recalcar que los análisis mostrados son para el género *Tithonia* en su conjunto y al contar con especies perennes

arbóreas y hierbas anuales, los resultados pueden estar sesgados a un hábito particular. Probablemente en este caso tenemos una influencia

importante de los arbusto y árboles perennes, los cuales probablemente tiendan a presentar un sistema reproductivo como el de las hierbas.

Tabla 4.- Valores de los estadísticos F para todos los loci, en once especies del género *Tithonia* (Asteraceae) en México.

Locus	F _{IS}	F _{IT}	F _{ST}
PGI-2	0.180	0.849*	0.816**
PGM-1	-0.278	0.232	0.399**
6PGD	-0.165	0.351	0.443**
PGI-1	-0.089	0.403	0.452**
MDH	-0.016	0.429	0.438**
MNR	-0.142	0.419	0.491**
EST	-0.186	0.160	0.292**
ADH	-0.282	0.293	0.449**
PROMEDIO	-0.157	0.444	0.520**

$$X^2 = F^2N \quad H_0: F = 0 \quad * = p < 0.05$$

$$X^2 = 2NF_{ST} \quad ** = p < 0.01$$

Por lo que respecta a los valores de heterocigosis esperada (**H**), observamos que es muy alta para algunas especies anuales como *Tithonia rotundifolia*, que es una especie anual con un valor de 0.172, el cual es un poco mayor que el valor promedio para las hierbas (**H**=0.14), reportado por Hamrick *et al.* (1979); incluso es muy similar al de coníferas (**H**=0.17) y también mayor al de árboles y arbustos tropicales (**H**=0.13) según los datos de Hamrick y Loveless (1986). Como contraparte, para el

resto de las especies incluyendo tanto anuales como perennes, los valores oscilan dentro de los valores propuestos para las hierbas. Asociado a este comportamiento de la heterocigosis, se encuentra el hecho de que gran número de las especies independientemente de su hábito se encuentran en lugares perturbados y eso determine la similitud entre los valores. Es interesante considerar que la variación genética, está influenciada por la historia particular de cada sitio. Por ejemplo, el decremento en la

variación genética se ha postulado que es resultado de dos posibles causas: i) deriva génica en pequeñas poblaciones aisladas, aunque la variación total no disminuye si disminuye la heterocigosis en cada subpoblación y ii) selección de diferentes condiciones ecológicas en habitats marginales (Oyama *et al.* 1993). Esta podría ser una explicación para los valores de heterocigosis encontrados para *Tithonia koelzii* (H)=0.109, la cual es una especie con una sólo localidad y la densidad poblacional es muy baja $N=13$. Asimismo, se ha postulado que las especies con una distribución geográfica amplia poseen, en general mayor variabilidad genética que las especies con distribuciones restringidas (Karron 1987). Esto se aprecia al observar el valor para *Tithonia tubaeformis*, que es una especie anual, (H)=0.129, la cual es la especie con un mayor rango de distribución y lo comparamos con el valor que presenta *Tithonia thurberii*, anual también, (H)=0.103 que es una especie restringida a dos localidades. La

diferencia entre los valores de (H), para *T. koelzii* y *T. thurberii*, están probablemente influenciadas por el hábito de ambas especies y la variación genética aumenta en la primera, que es una especie perenne, aunque sea más restringida en su distribución. Una posible explicación que sería importante considerar, es el sistema reproductivo de especies perennes y anuales.

Respecto a los valores de los estadísticos F de Wright, encontramos que los estimados de F_{IS} y F_{IT} , proporcionaron información que no necesariamente es similar, puesto que por un lado tenemos que los valores promedio de F_{IS} nos indican un exceso de heterócigos, nuevamente el resultado final puede estar influenciado por el agrupamiento de las diferentes especies, aunque el valor promedio de (H), también nos indica que la heterocigosis esperada tiende a ser alta. El valor promedio para F_{IT} , indica que probablemente los tamaños efectivos de la población sean grandes y con alto flujo génico.

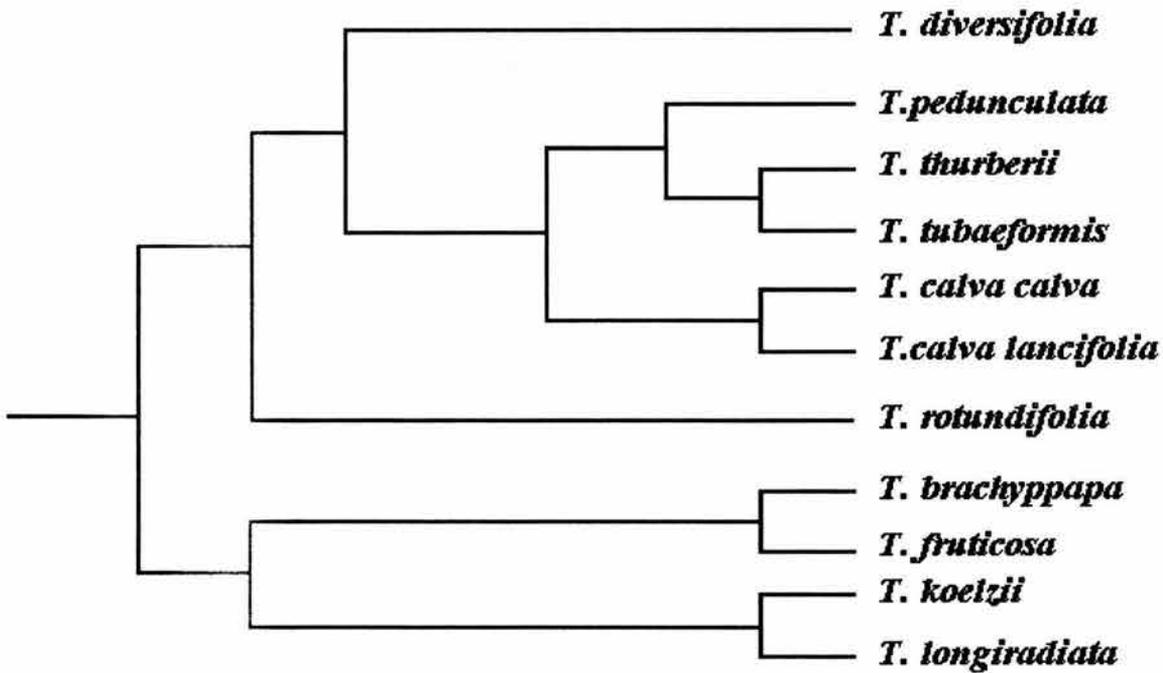


Figura 5.- Cladograma para once especies del género *Tithonia* (Asteraceae), construido con una matriz de presencia-ausencia de alelos, empleando el programa PAUP v.3.0 (Phylogenetic Analysis Using Parsimony, Swofford 1989).

Esto podría indicar que existe gran variabilidad genética pero podría ser que tenemos el resumen de una especie con diferentes subpoblaciones y nuestra muestra no sea representativa. El análisis por especie con una mayor cantidad de subpoblaciones (en los casos que sea posible) podría darnos información o la respuesta correcta a este dilema. Sin embargo, el hecho de que dentro de las especies existen

niveles de variación genotípica muy diferentes nos puede permitir hacer análisis más precisos sobre la especiación, si profundizamos en el conocimiento de un mayor número de poblaciones por especie.

Finalmente, el análisis de los valores de F_{ST} , todos estadísticamente diferentes de 0, nos sugieren poca migración. Bajo esta premisa, estamos constatando una fuerte diferenciación

entre poblaciones y una de las causas posibles de la especiación es la selección. Debemos tener mucha cautela con estas aseveraciones, puesto que gran parte de los estudios del análisis de la variación genética y sus causas están enfocados a detectarla en subpoblaciones para una especie (ver Hamrick *et al.* 1979 y Hamrick y Loveless 1986 para una revisión). Un enfoque genérico, como el de este estudio, también puede ser muy relevante. Como una conclusión importante está el hecho de que podemos demostrar que la selección natural es un agente importante para entender la variación genotípica a este nivel. Con los resultados de este estudio, encontramos que el aislamiento afecta igual a todos los loci, por lo tanto la evidencia de selección no es tan fuerte. Asimismo, esta información es importante puesto que la adaptación de las especies como un todo puede ocurrir si un conjunto de fuerzas opera sobre la variabilidad genética de las especies; este proceso ocurre tanto por la acción de procesos estocásticos como la deriva genética, o deterministas como la selección natural (Slatkin 1987, Wright 1988).

RELACIONES FILOGENÉTICAS

Como último punto, se ha propuesto un dendrograma de las relaciones de afinidad genética entre las especies (ver

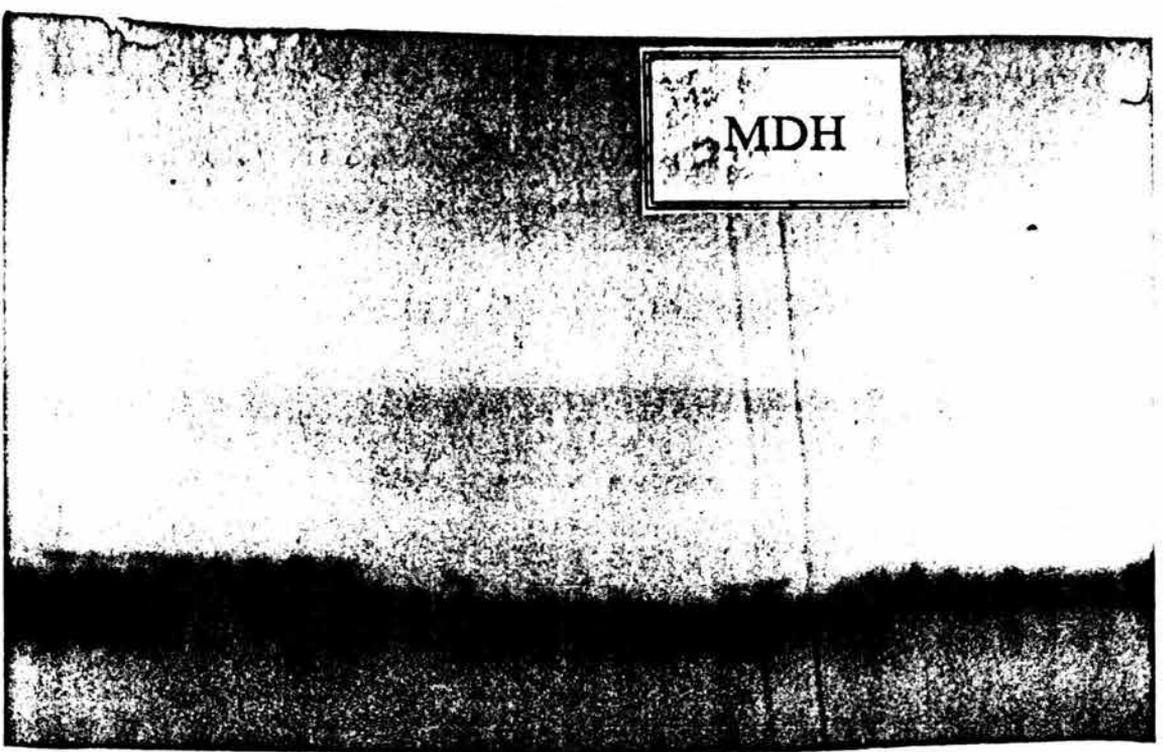
Fig. 5). Es importante resaltar que la propuesta no es similar a la hipótesis evolutiva, planteada por La Duke (1982). Aunque, debemos de considerar dos puntos relevantes: i) la información con la que se ha propuesto el cladograma es diferente a la morfológica y se ha propuesto que diferente información puede proporcionar topologías diferentes y ii) no es el objetivo del mismo falsificar dicha hipótesis. Debemos por lo tanto, establecer o tratar de conocer cuales son los posibles mecanismos evolutivos que generan dichas diferencias ya que los ecológicos se discuten en el capítulo 3.

Podemos observar que en el dendrograma tenemos dos grupos claramente diferenciados. En el primero tenemos siete especies de las cuales tres son anuales y cuatro perennes y en el segundo a tres especies, de las que dos son de hábito perenne y una anual. En el primer grupo, respecto a la hipótesis morfológica sólo observamos dos similitudes, una de ellas está dada por la ubicación de dos especies anuales, *T. tubaeformis* y *T. thurberii* que forman una dicotomía. La segunda coincidencia está dada por la cercanía entre *T. calva calva* y *T. c. lancifolia*, ambas perennes, sin embargo el primer grupo está más cerca de *T. pedunculata* que es una especie perenne que en el cladograma aparece más cercana a las dos especies de

calva. En el segundo grupo no se detecta ninguna similitud respecto a la propuesta de La Duke (1982). Algo relevante de la hipótesis cladista es que las cuatro especies anuales del género forman un sólo grupo y aquí esa consistencia no existe, asimismo la disposición de las especies perennes difiere mucho. Lo relevante de ésta propuesta es que estamos generando nueva información que debe intentar acoplarse a la morfológica para presentar una propuesta más sólida de la evolución del género. Es relevante

definir que se ha detectado variación genética entre las especies, pero seguramente un depurado análisis de la variación genética dentro de las especies haría que el dendrograma fuese primero más confiable y segundo una hipótesis alternativa o que confirmara la primera. Las implicaciones de los resultados de estudios de este tipo, son relevantes porque esta información nos puede proporcionar una visión importante en las rutas de evolución de las plantas.

A.-)



B.-)

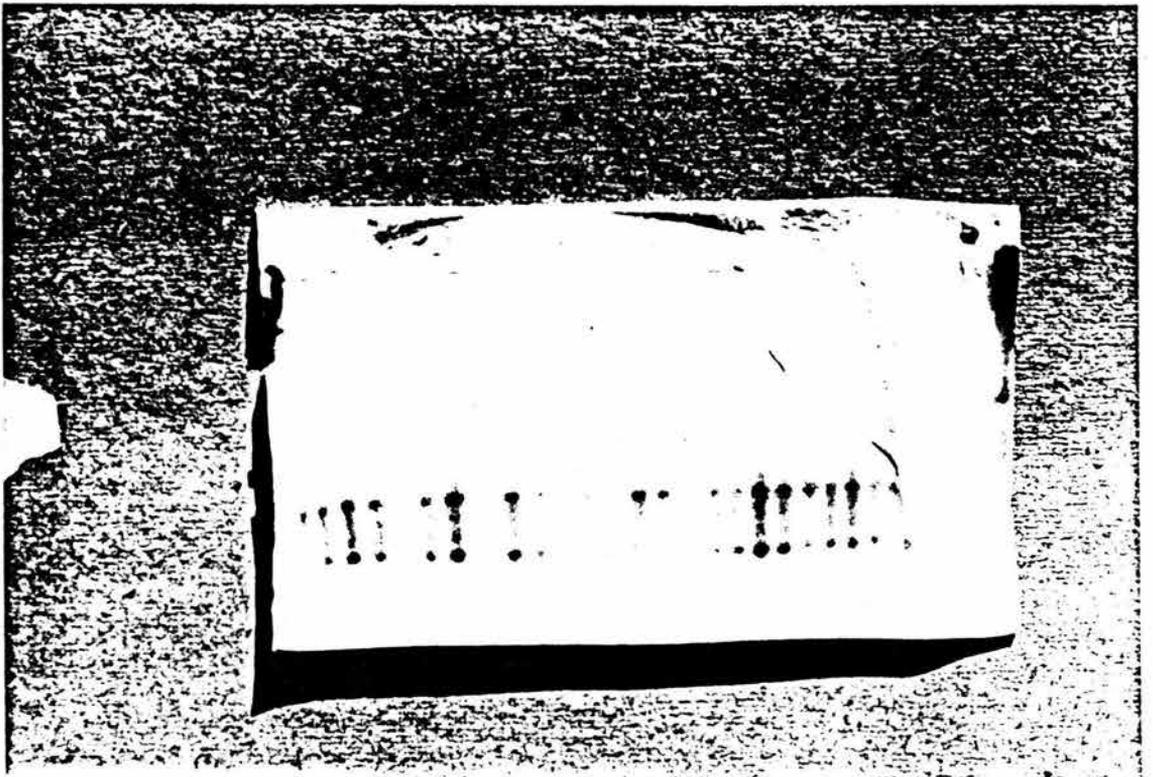
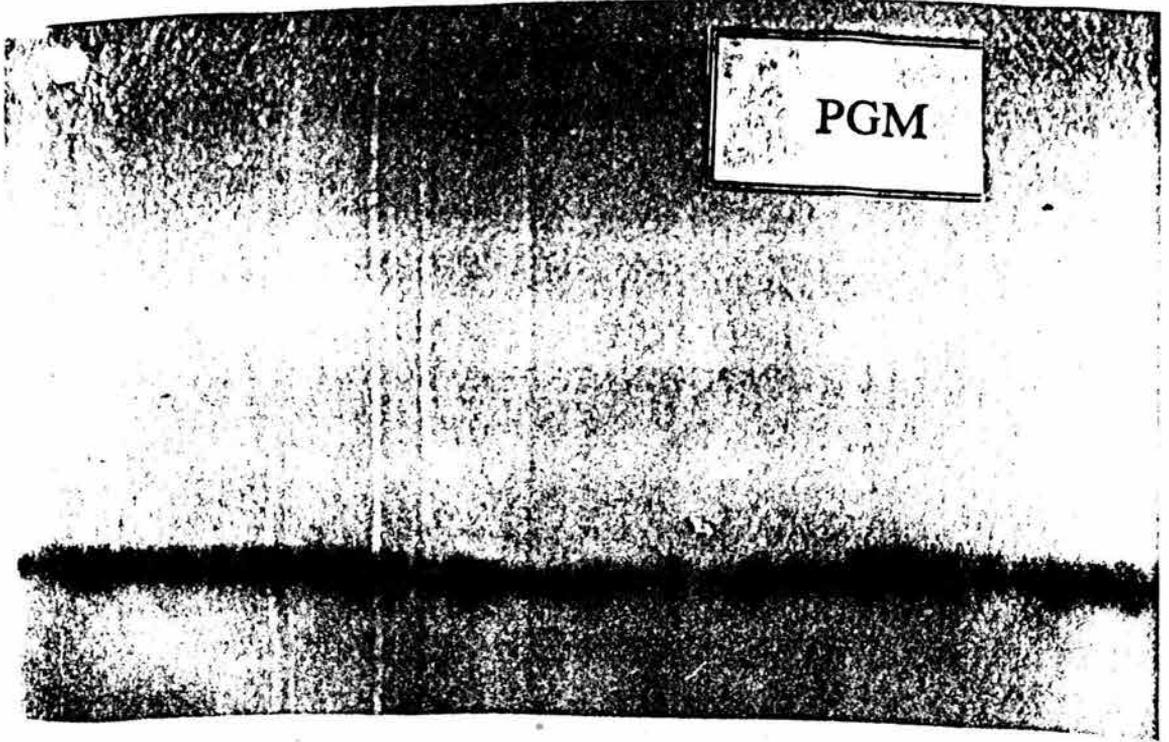


Figura 1.- Patrones de bandeo (Zimogramas) para: A.-) la enzima Malato deshidrogenasa (MDH) en *Tithonia rotundifolia* y B.-) Menadiono reductasa (MNR) en *Tithonia calva lancifolia*.

A.-)



B.-)

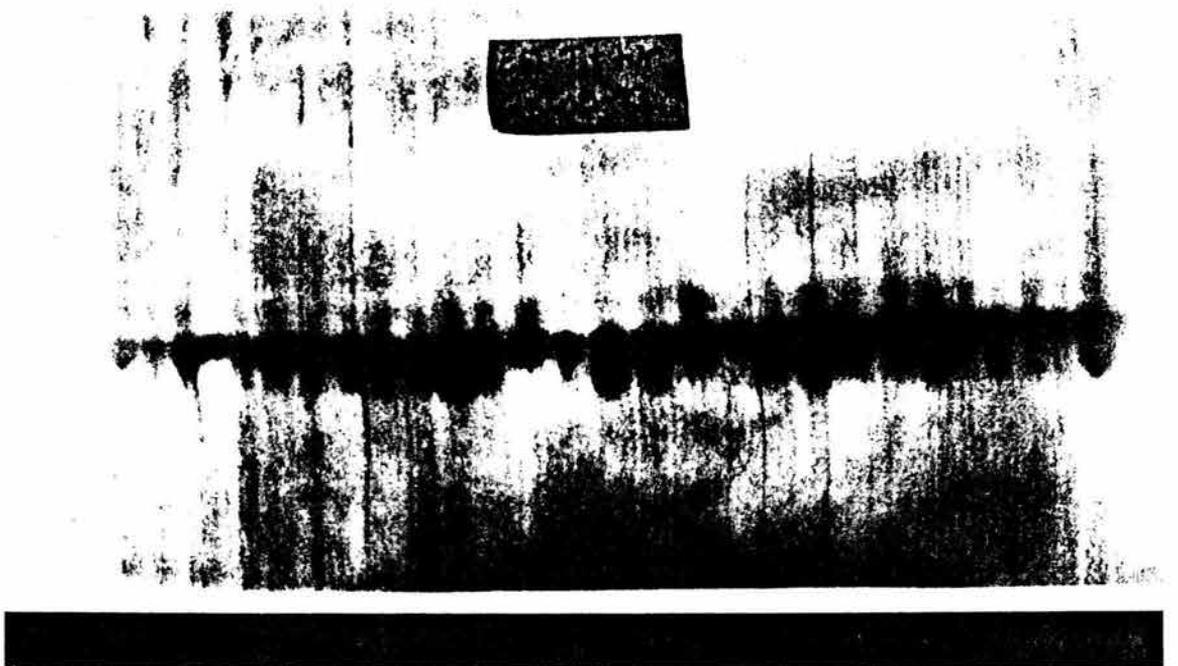
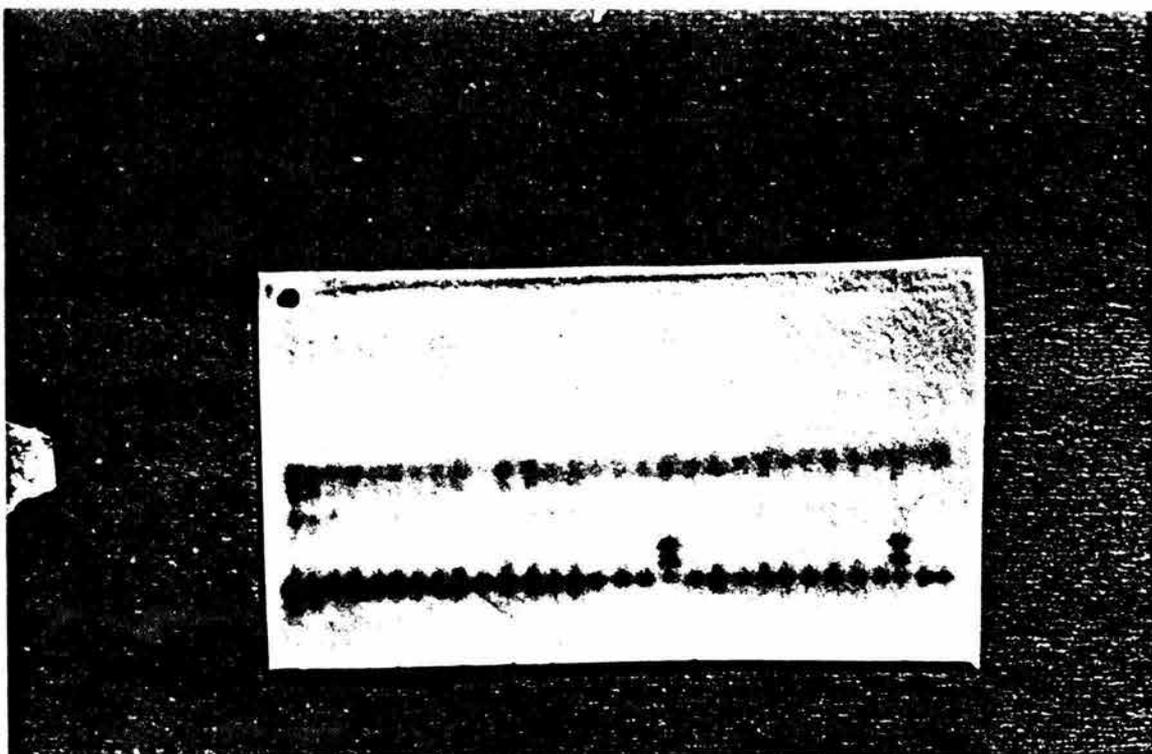


Figura 2.- Patrones de bandeo (Zimogramas) para: A.-) la enzima Fosfoglucomutasa (PGM) en *Tithonia diversifolia* y B.-) Esterasa (EST) en *Tithonia thurberii*.

A.-)



B.-)

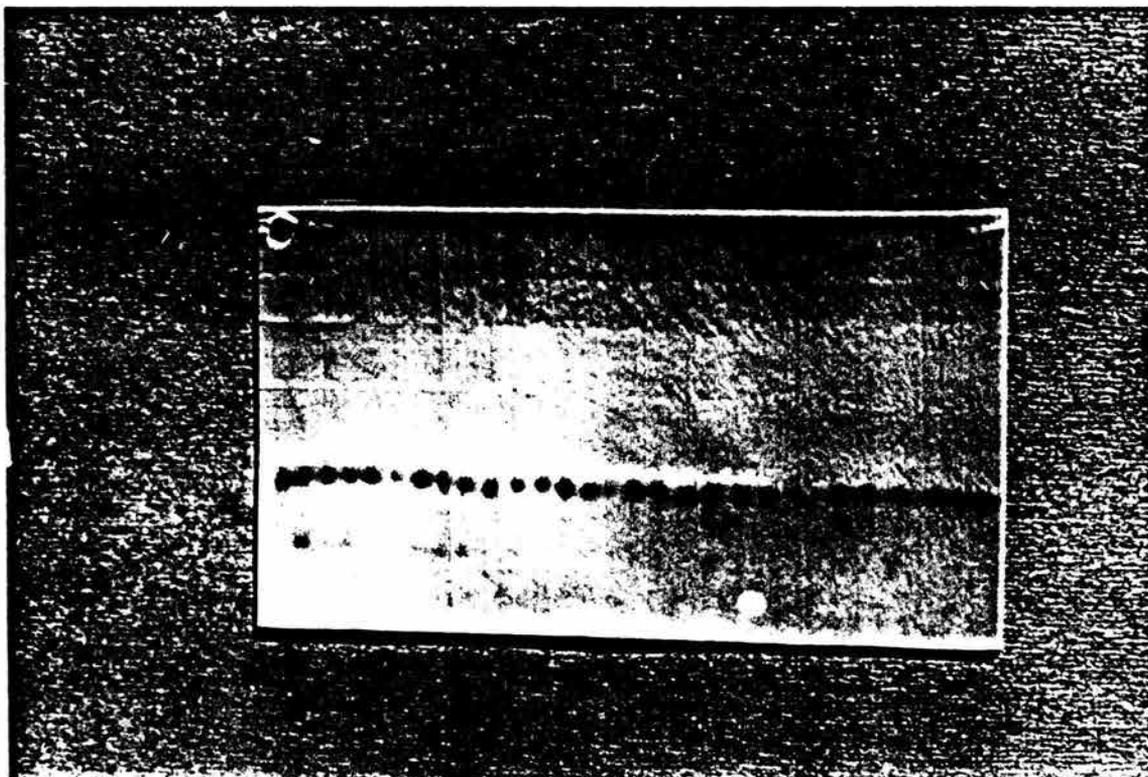


Figura 3.- Patrones de bandeo para: A.-) la enzima Fosfoglucoasa isomerasa (PGI) en *Tithonia rotundifolia* y B.-) Alcohol deshidrogenasa (ADH) en *Tithonia thurberii*.

A.-)

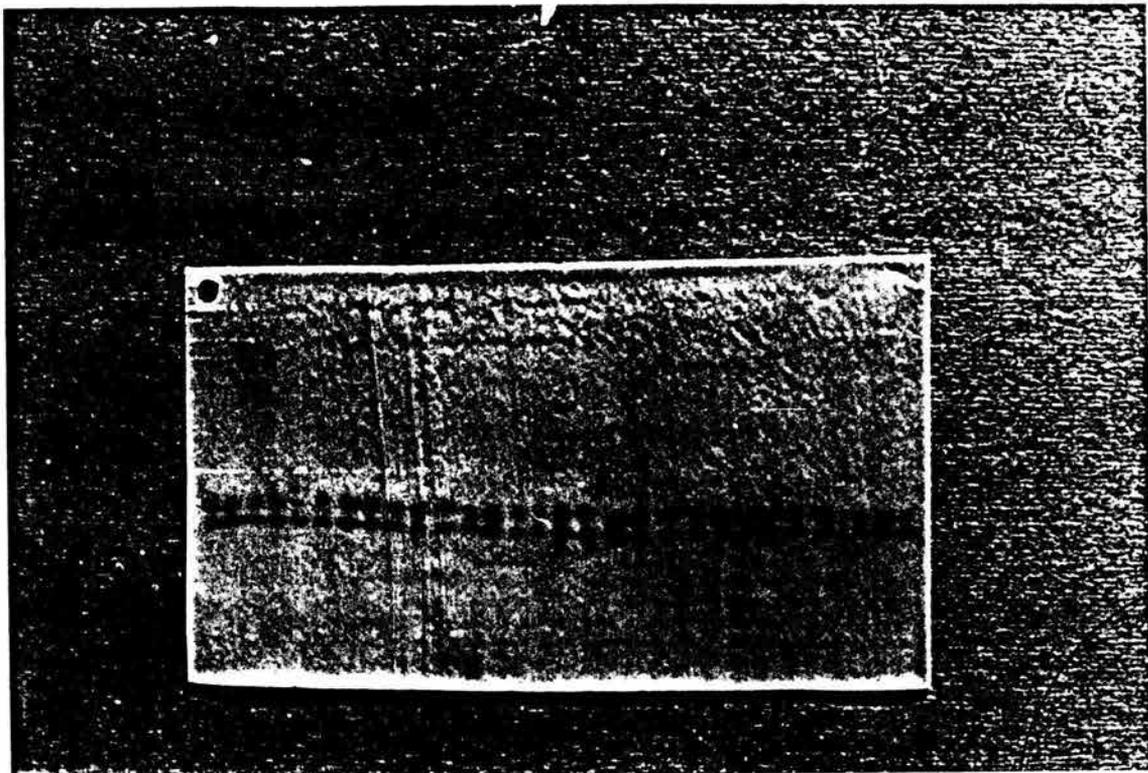


Figura 4.- Patrones de bandeo (Zimograma) para la enzima Fosfogluconato deshidrogenasa (6-PGD) en *Tithonia turberii*.

BIBLIOGRAFIA

- Allard, R. W., G. R. Babbel, M. T. Clegg y A. L. Kahler (1972). Evidence for coadaptation in *Avena barbata*. **Proceedings of the National Academy of Sciences**. USA. 69:3043-3048.
- 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.
- Clegg, M. T. y R. W. Allard (1972). Patterns of genetic differentiation in the slender wild oat species *Avena barbata*. **Proceedings of the National Academy of Sciences**. 69:1820-1824.
- y A. H. D. Brown (1983). The founding of plant populations. En: **Genetics and Conservation: a reference for managing wild animal and plant populations**. (eds. C. M. Schonewald-Cox, S. M. Chambers, B. Macbryde y L. Thomas). pp:216-228. Benjamin/Cummings Pub. Co. Inc. EUA.
- Eguiarte, L. E. (1990). **Genética de poblaciones de *Astrocaryum mexicanum* Liebm. en Los Tuxtlas, Veracruz**. Tesis de Doctorado. Centro de Ecología/Unidad Académica de los Ciclos Profesionales y de Posgrado. UNAM. México. 190 pp.
- Endler, J. A. (1977). **Geographic Variation, Speciation and Clines**. Princeton University Press. Princeton, N. J. EUA.
- Hamrick, J. L. (1983). The distribution of genetic variation within and among natural populations. En: **Genetics and conservation: a reference for managing wild animal and plant population**. (eds. C. M. Schonewald-Cox, S. M. Chambers, B. MacBryde y L. Thomas). Benjamin/Cummings Pub. Co. Inc. EUA.
- , Y. B. Linhart y J. B. Mitton (1979). Relationships between life history characteristics and electrophoretically detectable genetic variation in plants. **Annual Review of Ecology Systematics**. 10:173-200.

- y M.D.Loveless (1986). Isosyme variation in tropical trees: procedures and preliminary results. **Biotropica**. 201- 207.
- Hedrick,P.W. (1983). **Genetics and Populations**. Science Books Int.Boston. EUA.
- Karron,J.D. (1987). A comparison of levels of genetic polymorphism and self compatibility in geographical restricted and widespread plant congeners. **Evolutionary Ecology**. 1:47-58.
- LaDuke,J.C. (1982). Revision of *Tithonia*. **Rhodora**. 84(840):453-522.
- Ledig,T.F. (1986). Heterocigosity, heterosis and fitness in outbreeding plants. En: **Conservation Biology**. (ed. M.E.Soulé). Sinauer Associates Publications. EUA.
- Levin,D.A. (1977). The organization of genetic variability in
- Lewontin,R.C. (1974). **The Genetic Bases of Evolutionary Change**. Columbia University Press. New York. USA.
- Nei,M. (1987). **Molecular Evolutionary Genetics**. Columbia University Press. Nueva York. EUA.
- Nevo,E., A.Beiles, D.Kaplan, E.M.Golenberg, L.Olsuig-Whittaker y Z.Naveh (1986). Natural selection of allozyme polimorphisms: a microsite test revealing ecological genetic differentiation in wild barley. **Evolution**. 40:13-20.
- Oyama,K., M.Ito, T.Yahara y M.Ono (1993). Low genetic differentiation among populations of *Arabis serrata* (Brassicaceae) along an altitudinal gradient. **Journal of Plant Research**. 106:143-148.
- Primack,R.B. y H,Kang (1989). Measuring fitness and natural selection in wild plant populations. **Annual Review of Ecology and Systematics**. 20:367-390.
- Rogers,J.S. (1972). Measures of genetic similarity and genetic distance. **Studies in Genetics**. University of Texas Publications. 7213:145-153.

- Silander, J.A. y J. Antonovics (1979). The genetic basis of the ecological amplitude of *Spartina patens*. I. Morphometric and physiological traits. **Evolution**. 33(4):1114-1127.
- Slatkin, M. (1987). Gene flow and the geographic structure of natural populations. **Science**. 236:787-792.
- Stubber, C.W., J.F. Wendel, M.M. Goodman y J.S.C. Smith (1988). Technics and Scoring Procedures for Starch Gel Electrophoresis of Enzyme from Maize (*Zea mays* L.) Technical Bulletin. North Carolina Agricultural Research Service. North Carolina State University.
- Swofford, D.L. (1985). **PAUP (Phylogenetic Analysis Using Parsimony)**. Version 3.0. Illinois Natural History Survey. Champaign, Illinois.
- (1989). **BIOSYS-1. Users Manual. Release 1.7.** The University of Illinois.
- y G.J. Olsen (1990). Phylogenetic Reconstruction. En: **Molecular Systematics**. (eds. D.M. Hillis y C. Moritz). pp:401-501 Sinauer Associates Publications. EUA.
- Wendel, J.F. y N.F. Weeden (1989). Visualization and interpretation of plant isozymes. En: **Isozymes in plant biology**. (eds. D.E. Soltis y P.S. Soltis). pp:5-45. Dioscorides Press. Portland, Oregon. EUA.
- Wright, S. (1978). **Evolution and the genetics of populations. Vol.4. Variability within and among natural populations.** University of Chicago Press. Chicago. EUA.

Anexo 1. Listado de especies, sitios de colecta (entre paréntesis el número de la población) y vouchers de referencia de los ejemplares de *Tithonia*, utilizados en este estudio.

ESPECIE	SITIO DE COLECTA	REFERENCIA **
T.rotundifolia	(1) 5 km al oeste de Tecomán, Col. en el cruce de autopista 110-200.	La Duke et al 392
	(2) Ahuacapán, Jal. 1 km al inicio de la terracería de acceso al Laboratorio Científico "Las Joyas"	Morales (sin registro oficial)
T.brachypappa	(1) 16-32 km. al oeste de Cd. Valles, S.L.P. en la carretera 86	Stuessy y Gardner 4038
	(2) 3.5 km al este de El Salto, S.L.P. sobre carretera 80.	La Duke et al 587
T.tubaeformis	(1) D.F. en la reserva ecológica del Pedregal de San Angel, CU.	Arvizu 87
	(2) Durango, Dgo. periferia de la ciudad.	Palmer 690
T.thurberii	(1) Sonora, 70 km. al oeste de Hermosillo en carretera 16.	Morales y Búrquez (sin registro)
T.koelzii	(1) 12-13 km. al so de Pihuamo, Jal. en la carretera 110.	Mc Vaugh y Koelz 1504
T.diversifolia	(1) 1 km. al oeste de Tecomán, Col. sobre la carretera 110.	Morales (sin registro oficial)
	(2) 1 km. antes de la Cd. de Córdoba, Ver. en carretera 150.	Morales (sin registro oficial)
T.fruticosa	(1) Barranca del Cobre, Chih. junto al arroyo Guacaybo.	Hewitt 21
	(2) Choquincauri, Son. 40 km al ne de Alamos sobre la terracería	Morales (sin registro oficial)
T.pedunculata	(1) 68 km al oeste de Tehuantepec, Oax. sobre la carretera 190.	King 2472
	(2) 99 km al oeste de Tehuantepec, Oax. sobre la carretera 190.	Lathrop 6723
T.calva calva	(1) Milpillas, Dgo. junto a la cañada.	Morales (sin registro oficial)
T.calva lancifolia	(1) 6-12 km. al ne de Miramar, Nay sobre carretera a Jalcocotán.	Mc Vaugh 23555
	(2) 19 km. al sur de Tepic, Nay. en la carretera 200.	Gibson y Gibson 2196
T.longiradiata	(1) Cerro del Borrego en Orizaba, Ver.	Pringle 6087

** las referencias fueron obtenidas de La Duke (1982), excepto las que no tienen registro oficial.

APÉNDICE 2.

RECETAS DE LOS SISTEMAS DE BUFFERS Y ENZIMAS

UTILIZADOS EN ESTE ESTUDIO.

SISTEMAS DE BUFFERS

I. SISTEMA "C" DE MAIZ (STUBER et al. 1988)

BUFFER DE LA CHAROLA:

0.19 M Ácido Bórico.....11.875 gr

0.04 M Hidróxido de Litio..... 1.60 gr

Llevar a 1 litro con agua destilada

Ajustar pH a 8.3 con Hidróxido de litio

Correr a 225 Volts (Hasta que el frente avanza 9-10 cms)

BUFFER DEL GEL:

9 Partes del Buffer Trizma Base pH= 8.3

1 Parte del Buffer de la charola pH= 8.3

Preparación del Buffer Trizma Base pH= 8.3

0.05 M Trizma Base..... 6.20 gr

0.007 M Ácido Cítrico Monohidratado....1.50 gr

Llevar a un litro con agua destilada

II. SISTEMA "D" DE MAIZ (STUBER et al. 1988)

BUFFER DE LA CHAROLA:

0.065M L-Histidina (H-8000).....10.088 gr

0.007M Ácido Cítrico Monohidratado..... 1.500 gr

Llevar a un litro con agua destilada

Ajustar pH a 6.5 con Ácido Cítrico

Correr a 30 mA (Hasta que el frente avanza 9-10 cms)

BUFFER DEL GEL:

1 parte del Buffer del electrodo

3 partes de agua destilada

En ambos sistemas se emplearon geles de almidón al 12% (50 grs) para cuatro rebanadas (400 ml de buffer del gel)

ENZIMAS ANALIZADAS EN EL SISTEMA "C" DE MAÍZ:

MENADIÓN REDUCTASA (MNR)

b-NADH (Forma reducida)	25 mg
Menadione	25 mg
Añadir:	
0.05 M Tris-HCl pH = 7.0	50 ml
NBT	1 ml
Incubar en la obscuridad a temperatura ambiente	

6-FOSFOGLUCONATO DESHIDROGENASA (6-PGD)

Ac. 6-fosfogluconico sal de bario	30 mg
Añadir:	
0.2 M Tris-Hcl pH = 8.0	25 ml
1 M MgCl ₂	1 ml
TPN 1%	1 ml
MTT 1%	1 ml
PMS 1%	0.5 ml
H ₂ O destilada llevar a	50 ml
Incubar en la obscuridad a 37° C.	

FOSFOGLUCOSA ISOMERASA (PGI)

d-Fructuosa-6-fosfato sal disódica	20 mg
Añadir:	
0.1 M Tris-Hcl pH = 7.5.....	50 ml
Glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (10µ/ml).....	3 ml
1 M MgCl ₂ ó al 10 %	1 ml
TPN 1 %	1 ml
MTT 1 %	1 ml
PMS 1 %	0.5 ml
Incubar en la obscuridad a temperatura ambiente	

ENZIMAS ANALIZADAS EN EL SISTEMA "D" DE MAIZ:

ALCOHOL DESHIDROGENASA (ADH)

DPN	10 mg
Añadir:	
0.1 M Tris-Hcl pH = 8.0 ó pH = 7.5	50 ml
Etanol	3 ml
MTT 1% o NBT 1%	1.5 ml
PMS 1%	0.2 ml

Incubar en la obscuridad a 30° C

ESTERASA (EST)

FAST BLUE RR salt	75 mg
-------------------------	-------

Añadir:

α -Naphthil acetate 1 %	3 ml
H ₂ O destilada	40 ml
Buffer de Fosfatos pH = 6.0	3 ml

Incubar en la obscuridad a temperatura ambiente

MALATO DESHIDROGENASA (MDH)

DPN	8 mg
NBT	8 mg
NaCN	25 mg

Añadir :

0.2 M Tris-Hcl pH = 8.0	50 ml
1 M DL-Malato pH = 7.8	5 ml
PMS 1 %	0.1 ml

Incubar en la obscuridad a temperatura ambiente

FOSFOGLUCOMUTASA (PGM)

Glucosa-1-fosfato (Sigma G-7000)	150 mg
--	--------

Añadir:

1 M Tris-Hcl pH = 8.0	10 ml
H ₂ O destilada	80 ml
1 M MgCl ₂	2 ml
Glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (10 μ /ml)	4 ml
TPN 1 %	1.5 ml
MTT 1 %	2 ml
PMS 1 %	0.5 ml

Incubar en la obscuridad a temperatura ambiente

BUFFER DE EXTRACCIÓN PARA SEMILLAS (CHELIAK Y PITEL 1984)

10 ml	Buffer Tris-Citrato pH= 7.0
0.4 mM	NAD
0.2 mM	NADP
0.001 mM	Ácido Ascórbico
0.001 mM	EDTA (disodio)
0.1%	Albumina de Bovino

Ajustar a pH 6.8-7.5 con 0.1 M Tris y añadir cinco gotas de β -mercaptoetanol

CAPITULO IV.- ANALISIS COMPARATIVO DE CARACTERISTICAS DE HISTORIA DE VIDA EN EL GENERO *Tithonia* (ASTERACEAE).

RESUMEN.

Se evaluaron doce características demográficas en once especies del género *Tithonia* (Asteraceae) y se compararon intraespecíficamente. Se detectó que en todos los caracteres existe variación inter e intraespecífica. Se procedió a comparar con un análisis de componentes principales la variación que se generaba entre especies debido a las respuestas demográficas, encontrándose una tendencia general a separar a las especies de hábito perenne de las anuales. Aunque una especie perenne *T. diversifolia*, quedó inserta en el grupo de las anuales. Posteriormente se analizaron los datos con el método comparativo de autocorrelación para conocer que tanto de la varianza asociada a los caracteres estaba influenciada por la historia común y que tanto de la varianza podía entenderse en términos adaptativos. Se realizó este análisis con dos diferentes metodologías Cheverud *et al.* y Gittleman y Kott. Con el primer método encontramos que para cuatro caracteres tenemos efectos asociados a la filogenia que son estadísticamente significativos y con el segundo método observamos esta tendencia en diez caracteres y se muestran gráficamente éstos patrones en los correlogramas filogenéticos. Se discuten estas diferencias en términos de los supuestos de los modelos. Finalmente se propone una topología con base en los caracteres analizados y se compara con la propuesta morfológica.

I.-INTRODUCCION.

Los estudios de evolución de historias de vida intentan responder, como es que la selección natural maximiza los parámetros de reproducción y supervivencia de los organismos en determinados ambientes. Con base en lo anterior, se considera que las características de historia de vida son adaptaciones particulares al ambiente.

Las características de historia de vida de cualquier individuo, deben de ser consideradas un resultado de su

pasado ecológico y evolutivo (Ohara 1989). Una herramienta para entender el pasado evolutivo de cierto grupo de organismos es lo que se conoce como la *filogenia sistemática* (Hennig 1966).

Un enfoque que nos permite tener una aproximación muy precisa para evaluar que tanto un carácter puede ser considerado una adaptación es el *método comparativo*.

Un buen número de estudios para probar la teoría de historias de vida, se basa en comparaciones entre especies. Los patrones generados

pueden ser representativos de la variación dentro de niveles taxonómicos, más que el resultado de un compromiso entre parámetros demográficos y reproductivos dentro de las especies (Stearns 1980). Estas comparaciones entre características de historia de vida, no tienen un componente histórico y por lo tanto no contemplan la incorporación de la similitud filogenética que pueda fundamentar la variación de los caracteres. Así, los caracteres que caracterizan a un grupo de especies, pueden correlacionarse como resultado de compartir un ancestro común, más que como resultado de la presión de selección por parte del ambiente en la actualidad. Por lo tanto, resulta importante conocer que tanto de la variación en las características de historia de vida, se debe a los efectos filogenéticos (Huey 1987).

Un gran número de los estudios de evolución de historias de vida han supuesto que las similitudes entre parámetros demográficos o reproductivos dentro de un grupo de especies pueden ser similares por eventos de evolución independiente en respuesta a ciertos factores extrínsecos de selección (Schaffer 1974, Stearns 1976, Stearns 1977 y Charlesworth 1980). Sin embargo, se ha demostrado en repetidas ocasiones que una gran proporción de la varianza asociada a un carácter, se debe a afinidades

filogenéticas de las especies (Miles y Dunham 1992). Se han desarrollado varias metodologías para evaluar la influencia de la filogenia en los análisis comparativos, dependiendo de si se utilizan caracteres discretos (Ridley 1986) o continuos (Stearns 1984, Cheverud *et. al.* 1985, Lynch 1991, Miles y Dunham 1992).

El método de Cheverud *et. al.* (1985) el cual está dado por la siguiente relación:

$$\mathbf{y} = \mathbf{pW}\mathbf{y} + \mathbf{e};$$

donde \mathbf{y} es un vector de dimensiones $n \times 1$, de los valores fenotípicos medidos para todas las especies, \mathbf{p} es el coeficiente de autocorrelación, \mathbf{W} es la matriz de conectividad filogenética y \mathbf{e} es un vector de residuales de $n \times 1$; permite conocer la fracción de la varianza asociada a un carácter fenotípico que esta asociada a la historia evolutiva del grupo y la asociada a la evolución ulterior de los taxa y ésta puede entenderse o definirse como adaptación (Ver apéndice 1 para la derivación de los estimadores).

Diferentes estudios han puesto énfasis en hacer análisis comparativos, por ejemplo, la revisión de Miles y Dunham (1993) muestra que en total 59 estudios han aplicado alguna de estas técnicas, es importante recalcar que en estos solamente tres, son investigaciones realizadas con especies vegetales.

En este capítulo, utilizaremos el método de autocorrelación filogenética (Miles y Dunham 1992; Gittleman y Kott 1990) para determinar de una manera explícita el nivel en el cual las características de historia de vida del género *Tithonia*, son una consecuencia de los efectos filogenéticos. Además comparamos los resultados de ambas propuestas metodológicas. Asimismo,

elaboraremos comparaciones entre la topología morfológica propuesta por La Duke (1982) (Fig.1) y la topología generada con base en las características de historia de vida. Se propone también un análisis de componentes principales para evaluar con otro criterio las relaciones existentes entre las especies y las características de historia de vida analizadas.

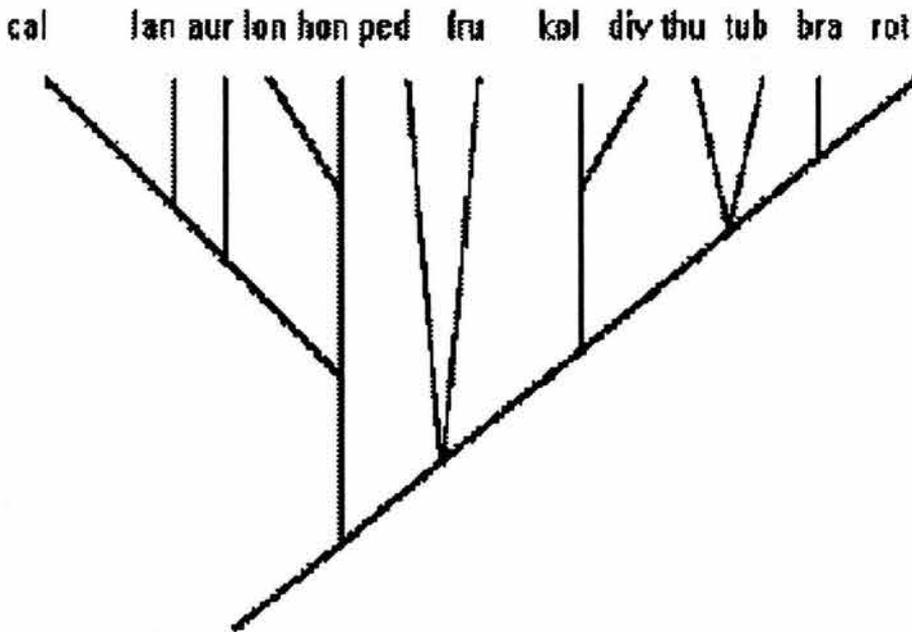


Figura (1).- Cladograma para 13 especies del género *Tithonia* (Asteraceae), según LaDuke (1982). Donde: *cal* = *T.calva calva*, *lan* = *T.calva lancifolia*, *aur* = *T. calva auriculata*, *lon* = *T.longiradiata*, *hon* = *T.hondurensis*, *ped* = *T. pedunculata*, *fru* = *T. fruticosa*, *kol* = *T. koelzii*, *div* = *T.diversifolia*, *thu* = *T. turberii*, *tub* = *T. tubaeformis*, *bra* = *T. brachyppapa* y *rot* = *T.rotundifolia*. Los caracteres y los estados de los mismos se reportan en el texto original.

II.- MATERIALES Y METODOS.

El material colectado para este estudio, básicamente proviene de los sitios reportados por LaDuke (1982). Las especies estudiadas, las localidades de colecta y los vouchers de referencia se muestran en el Anexo 1 (Capítulo II).

Para todas las especies en todas las localidades se tomaron muestras de semillas de cabezuelas independientes para cada individuo, de tal manera que tenemos semillas para hacer los análisis demográficos y cabezuelas con flores para hacer los análisis morfológicos.

Con el material colectado se procedió de la siguiente manera:

Las semillas se retiraron de las cabezuelas y se marcaron por individuo, posteriormente se obtuvieron muestras de 50 semillas por colecta (en seis ocasiones) y se midieron y pesaron. Esta información fué utilizada para hacer el análisis de tamaño de la semilla (**TSEM**). Además, los individuos cuyas semillas se pesaron se utilizaron para hacer las siembras de individuos y proceder a realizar los experimentos demográficos.

Paralelamente se hicieron pruebas de viabilidad y latencia con los siguientes procedimientos: i) Para los análisis de viabilidad se dispusieron en cajas de Petri, 50 semillas por muestra con cuatro repeticiones para cada colecta. Las semillas se humedecían

durante 24 horas, transcurrido ese tiempo se desprendía la testa de los aquenios y se exponían a una solución de cloruro de tetrazolium al 1%. Entre 12 y 15 horas posteriores a la imbibición a la solución, se contaba el número de embriones que habían adquirido una tonalidad rosa, que indica que dicho individuo es viable. El número que se considera como porcentaje de viabilidad para cada especie (**%VIA**), es el promedio de las cinco repeticiones, desde luego considerando también para el valor promedio el número de poblaciones diferentes colectadas para cada especie.

ii) Respecto a los análisis de latencia, se procedió a poner muestras de 50 semillas en bolsas de nylon, para cada una de las diferentes colectas, las cuales eran sustraídas a intervalos de 2 meses durante 1 año y posteriormente se analizaban con la solución de cloruro de tetrazolium para conocer cuales permanecían vivas aún. Los valores para este evento (**LAT**), se obtuvieron de forma similar al experimento anterior con la diferencia que este es un valor categórico (presencia -1- o ausencia -0- de germinación), diferentes niveles de latencia, y no uno continuo.

Los experimentos demográficos se realizaron bajo el siguiente procedimiento:

i) Habiéndose tomado las medidas de longitud y peso para las

semillas de las diferentes colectas, estas se pusieron a germinar en una cámara de ambiente controlado Conviron (Modelo 118-L), tratando de simular las condiciones de humedad y temperatura de los diferentes sitios de colecta. Dado que de cada semilla se conocía su peso y longitud, como primer punto se correlacionaron esas medidas con los días que transcurrieron a la germinación (tiempo a la germinación = **TGER**), para evaluar el efecto del tamaño de la semilla en esa medida. Paralelamente se contaban el número de semillas germinadas (**%GER**) y se obtenía el promedio por especie.

ii) Cuando las plántulas emergidas presentaban el primer par de hojas, se consideraban establecidas y ese era el tercer parámetro evaluado (**%EST**= % de establecimiento). Asimismo, se colectó una muestra de plántulas para obtener la proporción de biomasa aérea respecto a la subterránea (**PROP**), se extendió esta evaluación a dos estadios más de ciclo de vida.

iii) Otra evaluación del impacto del tamaño de la semilla, consistió en estimar la tasa de crecimiento de las diferentes especies, desde la emergencia hasta el establecimiento y para las especies que se reprodujeron, se evaluó el incremento en altura hasta ese estadio (**TCRE**).

iv) Para las especies anuales, a excepción de *T.c.lancifolia*, cuando los

individuos produjeron cabezuelas y posteriormente semillas, se clasificó ese evento como edad a la primera reproducción (**EIREP**). Con éstas cabezuelas se obtuvo la siguiente información: No. de flores por cabezuela (**NFC**) y No. de semillas por cabezuela (**NSC**), éstas medidas son estimadores del éxito en fecundación.

Posteriormente a estos eventos, todos los individuos supervivientes fueron cosechados, medidos y pesados para obtener la última medida de asignación de recursos (**PROP2**), la cual sólo se obtuvo para las especies anuales y una perenne, *T.c.lancifolia* dado que éstas fueron las únicas que llegaron a la edad reproductiva.

Análisis de Resultados.

Todas las características de historia de vida: **TSEM**, **%VIA**, **LAT**, **TGER**, **%GER**, **%EST**, **PROP**, **TCRE**, **EIREP**, **NFC**, **NSC**, **TFLO**, **THOJ** y **TCAB** fueron analizadas siguiendo tres criterios.

i).- En primer término trece de los caracteres medidos se disponen sobre la topología morfológica propuesta por La Duke (1982), se excluye **EIREP** porque sólo está cuantificada para las especies anuales. Esta idea permite una visión cualitativa de la distribución de los caracteres, y plantear hipótesis sobre el origen de los

mismos. Posteriormente se analizaron con un análisis de varianza de una vía (Zar 1974), para evaluar si existía correspondencia entre los parámetros evaluados y su distribución en el cladograma. Esto, con el objetivo de "explorar", si las especies cercanas o de hábito similar presentan respuestas similares.

ii).- Posteriormente se realizó un análisis de componentes principales para investigar las relaciones existentes entre doce caracteres de historia de vida (se excluyen **EIREP** y **LAT**) para las once especies de *Tithonia* estudiadas. Este análisis se realizó con el programa estadístico Statgraphics (Statistical Graphics Corporation 1986). Con la anterior información también se deseaba conocer como es que las características estudiadas se distribuían y si existían coincidencias con la topología de La Duke (1982). Asimismo, con la matriz de similitud obtenida para las características de historia de vida, con el análisis de componentes principales, se elaboró un árbol de distancias ecológicas con el programa PHYLIP (Felsenstein 1991), en particular utilizando la rutina UPGMA (Método de grupos pareados no ponderados con promedio aritmético). Este dendrograma se realizó para efectuar una comparación de la topología de características de historia de vida con la topología morfológica y contrastar que tanto los

diferentes grupos de datos pueden generar consistencia en la distribución de las especies.

iii) Se efectuaron los análisis comparativos de las características de historia de vida, con el método de autocorrelación filogenética (Miles y Dunham 1992) y el modelo nulo para estimar los efectos filogenéticos de Gittleman y Kott (1990).

El modelo de Miles y Dunham (1992) es una modificación al enfoque propuesto por Cheverud et.al. (1985), cuyo aspecto más relevante consiste en dividir toda la varianza asociada a un carácter fenotípico, de tal forma que podamos asignar la fracción total de la varianza que es común a las especies que comparten a un ancestro común. Lo anterior puede conceptualizarse de la siguiente manera: El valor total de un carácter fenotípico **T**, puede descomponerse en sus dos componentes; el valor filogenético **P** y el valor específico **S**. El valor filogenético mide el grado de la expresión fenotípica que es atribuible a la descendencia a partir de un ancestro común. El valor específico mide la evolución independiente de las especies dado que han divergido de ese ancestro y puede ser vista como una medida de adaptación. La matriz de conectividad filogenética **W** se construyó con el siguiente criterio: Se sumaron el número de bifurcaciones requeridas o necesarias para conectar a dos especies

con un ancestro común (ver apéndice 2). Por ejemplo, la distancia entre *Tithonia rotundifolia* y *T. brachypappa* es de un paso (ver Fig. 1). Por otro lado la distancia que uniría a *T. rotundifolia* y *T. diversifolia* es de cuatro pasos. El modelo de Gittleman y Kott (1990), ⁴ evalúa los efectos filogenéticos sobre los caracteres medidos e identifica el nivel al cuál se presenta correlación filogenética si es que ésta existe. Este método es una extensión del enfoque de autocorrelación y emplea el índice I de Morán (Morán 1950) como una medida de autocorrelación y lo utiliza para evaluar la importancia de la filogenia en las comparaciones entre taxa. Con este estadístico se construyen

los *correlogramas filogenéticos* para mostrar como varía la autocorrelación con la distancia filogenética. Finalmente, se elaboró una comparación entre las dos metodologías comparativas antes presentadas.

III.-RESULTADOS

En las figuras 2,3 y 4, se muestran la distribución de doce caracteres de historia de vida, sobre la hipótesis evolutiva del género, propuesta por La Duke (1982). En la figura 2, se proyectan los caracteres relacionados la germinación principalmente.

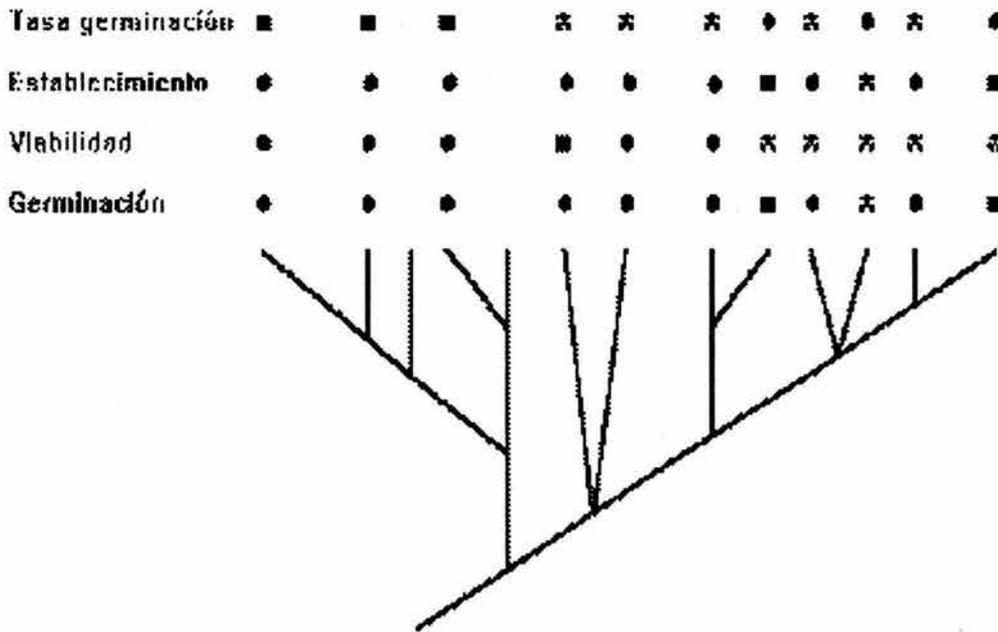


Figura 2.- Distribución de cuatro caracteres de historia de vida, mapeados sobre el cladograma morfológico del género *Tithonia* (Asteraceae). * ● ■ Son categorías discretas que indican valores altos, bajos e intermedios respectivamente.

Sólamente *T.c.calva*, *T.c.lancifolia* y *T.longiradiata*, muestra respuestas idénticas para los cuatro caracteres (%GER, VIA, %EST Y TGER) y las tres especies se encuentran en la misma ramificación de la topología. En lo que respecta a las especies anuales, sólo

para VIA, presentan una respuesta similar junto con *T.diversifolia* que es una especie perenne. En la figura 3, están los resultados de TSEM, TCRE y PROP, aquí los resultados son más consistentes que en el caso anterior.

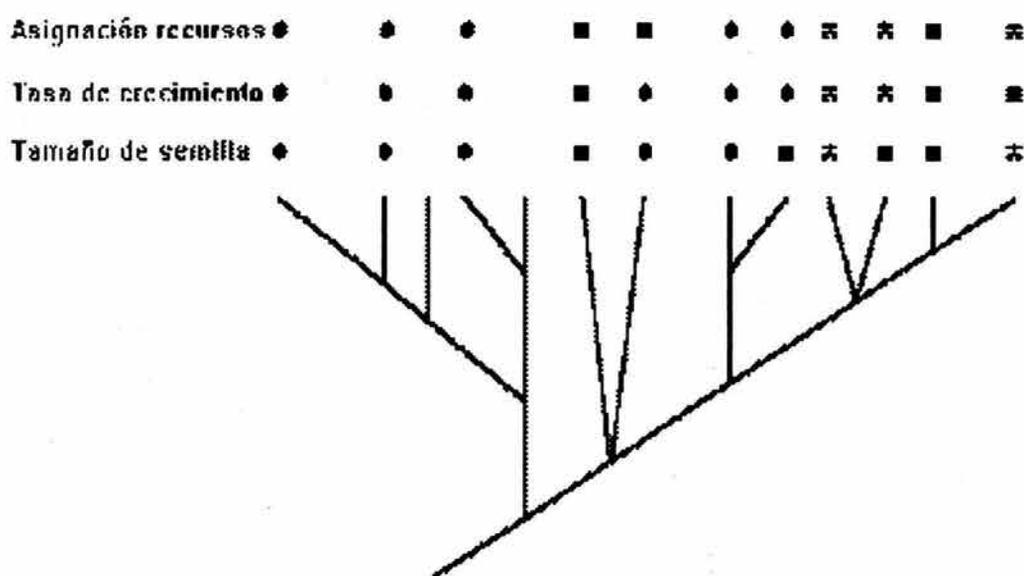


Figura 3.- Distribución de tres caracteres de historia de vida mapeados sobre el cladograma morfológico del género *Titonia* (Asteraceae). ✱●■ Son categorías discretas que representan valores altos, bajos e intermedios respectivamente.

Con excepción de los valores de PROP para *T. fruticosa* y de TSEM para *T.diversifolia*, los resultados para todas las especies perennes son consistentes. Sin embargo, para las especies anuales, no encontramos algún patrón y en particular los valores para *T.rotundifolia* son más similares con los de las especies perennes. En la Figura 4, se presentan los valores de

los caracteres asociados al éxito en fecundación, en los cuales no encontramos alguna tendencia muy clara. Sólo en lo que respecta al valor de THOJ, éste es similar para todas las especies excepto *T.thurberii*.

En la Tabla 1, se muestran los resultados del análisis de varianza de una vía para los doce caracteres de historia de vida, evaluados para el

género y en la tabla 2, se muestran las pruebas de comparación múltiple de

dichos análisis.

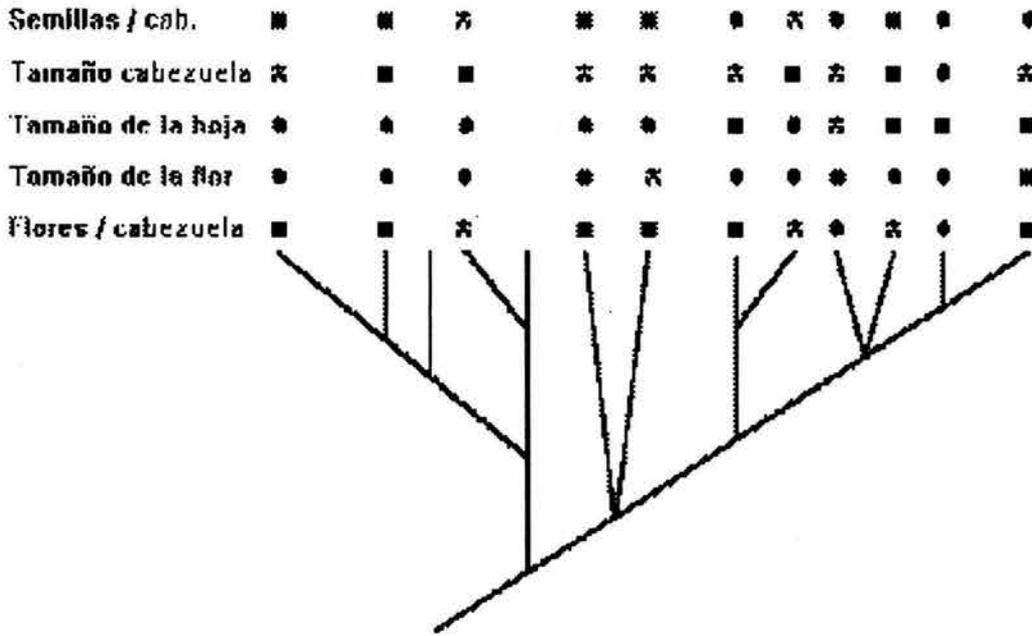


Figura 4.- Distribución de cinco caracteres de historia de vida, marcadas sobre el cladograma morfológico del género *Tithonia* (Asteraceae). ● ■ ▲ Son categorías discretas que indican valores bajos, altos e intermedios, respectivamente.

En el análisis de componentes principales (ACP) para investigar las relaciones entre varias características de historia de vida para ocho especies del género *Tithonia*, en primer término se realizó una matriz de correlación para los siguientes eventos de historia de vida: tamaño de la semilla (TSEM), viabilidad (VIA), latencia (LAT), germinación (%GERM), establecimiento (%EST), tiempo a la germinación (TGER), número de flores por cabezuela (NFC), número de

semillas por cabezuela (NSC), tamaño de la hoja (THOJ), tamaño de la flor (TFLO), tamaño de la cabezuela (TCAB) y proporción de biomasa aérea respecto a la biomasa radicular (PROP). En dicha matriz (Tabla 3), observamos las siguientes correlaciones positivas y significativas: TSEM-%VIA, NFC-NSC, NSC-TFLO, THOJ-TGER, %GER-%EST, %GER-%VIA, %GER-TCRE, %EST-%VIA, %EST-TCRE, %VIA-TCRE y TCRE-PROP. En otro sentido podemos reconocer

correlaciones negativas y significativas entre: **NFC-TCRE**, **TCAB-TCRE**, **TCAB-PROP**, **%GER-TGER**,

%EST-TGER, **%VIA-TGER** y **TGER-TCRE**.

Tabla (1).- Comparación de 12 caracteres de historia de vida en once especies del género *Tithonia* (Asteraceae), con un análisis de varianza de una vía (Zar 1974).

CARACTER	F	p
Tamaño de semilla	16.40	0.038 *
No. de flores por cabezuela	6.24	0.141 n.s.
No. de semillas por cabezuela	3.08	0.310 n.s.
Tamaño de la flor	3.37	0.934 n.s.
Tamaño de la hoja	5.20	0.732 n.s.
Tamaño de la cabezuela	1.62	0.294 n.s.
% de germinación	16.41	0.010 *
% de Establecimiento	22.18	0.007 **
% de viabilidad	15.23	0.009 **
Tiempo a la germinación	99.46	0.00001 ***
Tasa de crecimiento	31.41	0.0001 **
Asignación de recursos	15.82	0.002 **

n.s. = no existen diferencias estadísticamente significativas.

Respecto al análisis de componentes principales, se elaboraron dos proyecciones: la primera considerando las características de historia de vida antes mencionadas (Fig.5) y la segunda considerando a las especies (Fig.6). En ambas proyecciones la contribución a la varianza total por el componente I es 48.97% y por el componente II es 17.42%, lo que significa el 66.40% de la varianza total acumulada (Tabla 4).

En el análisis de las características de historia de vida, observamos que los valores que mayor peso representan para el primer componente, son: **TCRE**, **TGER**, **%GER** Y **%EST**. Para el segundo

componente, **VIA** y **TSEM** son los que presentan un peso mayor. Para conocer la relación entre los caracteres podemos mencionar que existen tres grupos : el primero compuesto por **TGER**, **TCRE**, **%GERM** y **%EST**. De éstos podemos mencionar que se agrupan puesto que pueden considerarse eventos secuenciales, esto es, el tiempo a la germinación va a estar influenciando de una manera directa el porcentaje de germinación observado, el cual influye sobre que fracción llegará a establecerse. Asimismo, el tiempo que transcurre entre que la semilla es depositada en el suelo y germina a influía de manera importante la tasa de crecimiento que

obtengan los individuos. El segundo grupo se encuentra formado por **TSEM**, **%VIA**, **ALT** Y **THOJ**; en el cual podemos considerar que no todos sus componentes están directamente

relacionados. Esto es, por una parte observamos que **TSEM** y **%VIA** estarían más relacionados entre ellos así como **ALT** y **THOJ**.

Tabla (2).- Prueba de comparaciones múltiples para 12 caracteres de historia de vida en once especies del género *Tithonia* (Asteraceae), en México. **

ESPECIE	TSEM	NFC	NSC	TFLO	THOJ	TCAB	%GER	%EST	%VIA	TGER	TCRE	PROP
<i>T.tubaeformis</i>	b	a	b	b	a	b	a	a	a	a	a	a
<i>T.thurberii</i>	a	b	a	b	a	a						
<i>T.rotundifolia</i>	a	b	b	b	a	a	b	b	a	a	a	a
<i>T.brachyppapa</i>	b	b	b	b	a	b	b	b	a	a	b	c
<i>T.pedunculata</i>	c	b	b	b	a	a	b	b	b	b	c	c
<i>T.longiradiata</i>	c	a	a	b	a	b						
<i>T.calva calva</i>	d	b	b	b	a	a	b	b	b	b	c	c
<i>T.calva lancifolia</i>	d	b	b	b	a	b	b	b	b	b	c	c
<i>T.fruticosa</i>	d	b	b	a	a	a	b	b	b	b	b	b
<i>T.diversifolia</i>	b	a	a	b	a	b	b	b	a	a	b	b
<i>T.koelzii</i>	d	b	b	b	a	a	b	b	b	b	c	c

** = las especies con nomenclatura similar no presentan diferencias estadísticamente significativas.

Finalmente, observamos un tercer grupo formado por **LAT**, **CAB** y **TFLO**, en el cual aparentemente encontraríamos una mayor relación entre la longitud de la cabezuela con la de la flor que cualquiera de ambas con la latencia (ver Fig.5).

Cuando elaboramos la proyección de ambos componentes pero para las once especies analizadas, encontramos patrones interesantes (Fig. 6). Las especies anuales

rotundifolia, *tubaeformis*, *thurberii* y *brachyppapa*; parecen formar un grupo natural. Pero muy cercana a éstas, encontramos una especie perenne: *diversifolia*. Este comportamiento es interesante dado que morfológicamente *diversifolia* (que es una especie herbácea) tiene una gran similitud con *brachyppapa*, debido al tipo de hoja lobulada y su crecimiento frondoso. En lo que se refiere a las especies perennes, podemos decir que éstas a su

vez se encuentran formando dos grupos claramente diferenciados. Por una parte, tenemos un grupo que está formado sólo por una especie:

longiradiata. El tercer grupo, está formado únicamente por especies perennes: *calva calva*, *pedunculata*, *koelzii*, *fruticosa* y *calva lancifolia*.

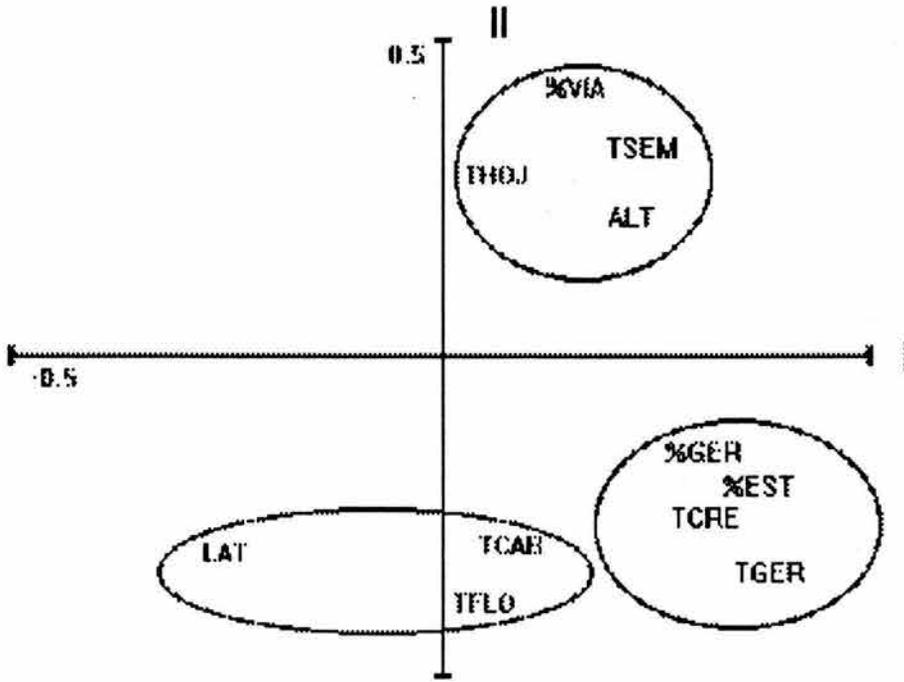


Figura 5.- Proyección de los dos primeros componentes de un análisis de componentes principales (ACP), para once características de historia de vida en once especies del género *Tithonia* (Asteraceae) en México. La nomenclatura se define en la sección de materiales y métodos.

En lo que respecta al grupo formado por las especies anuales y una perenne, notamos que ésta última se encuentra en "la frontera" con el grupo formado exclusivamente con perennes. Es interesante que en la topología morfológica del género, *diversifolia* también es la que se más encuentra cercana a las anuales.

Respecto a los datos demográficos, el primer análisis

consistió en tomar los elementos de la tabla de vida para hacer un análisis de cúmulos y obtener una topología con información ecológica que pudiese ser comparable con la topología morfológica propuesta por La Duke (1982). Desde luego, no se trata de falsificar la hipótesis morfológica, más bien de evaluar la similitud entre el agrupamiento de las especies siguiendo criterios diferentes. Los valores de las

distancias obtenidas del análisis de cúmulos se estandarizaron respecto a la unidad para obtener el árbol de

similitudes "de historias de vida" (Fig. 7).

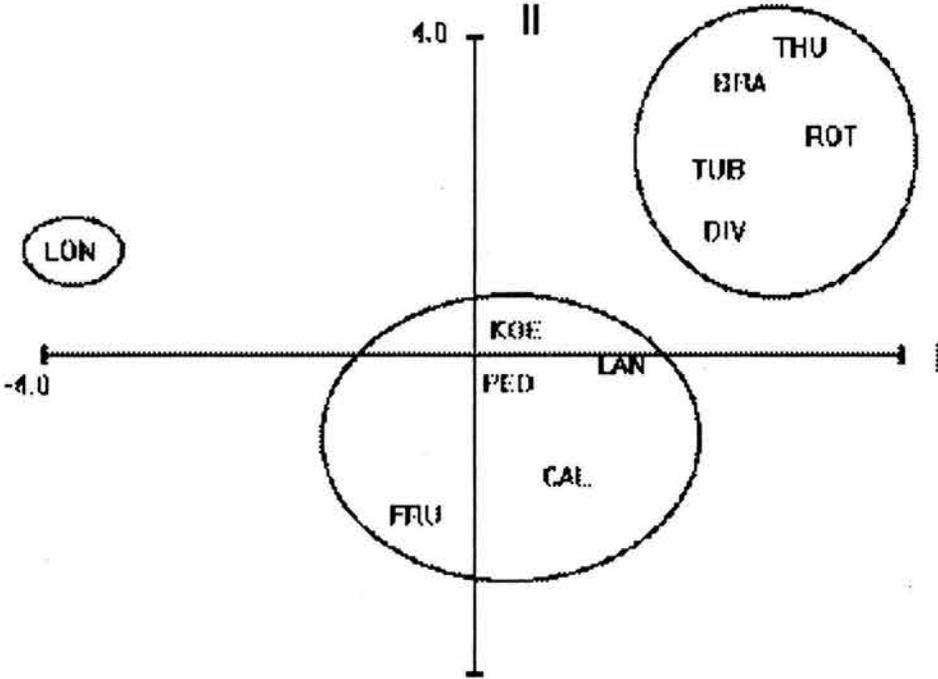


Figura 5.- Proyección de once especies del género *Lithania* [Asteraceae], para un análisis de componentes principales (ACP), considerando doce características de historia de vida. Los nombres de las especies son seguidado el formato de la Figura 1.

Podemos observar claramente tres grupos: el primero formado por tres especies perennes (*calva*, *calva lancifolia*, *pedunculata* y *fruticosa*). En la topología morfológica observamos que *calva* y *lancifolia* forman un grupo y *pedunculata* forma una dicotomía con *fruticosa*, ambas ramificaciones son consistentes con el árbol morfológico, probablemente por ser especies de ambientes áridos las respuestas demográficas son similares. En el segundo grupo aparece una dicotomía conformada por dos especies

anuales *thurberii* y *brachyppapa*, aquí es importante resaltar que ambas especies no aparecen en la misma ramificación en la topología morfológica. La ramificación más cercana está compuesta por dos especies perennes, a saber, *longiradiata* y *koelzii*, las cuales a su vez tampoco aparecen de manera conjunta en los resultados morfológicos. Probablemente las respuestas de *thurberii* sean similares a las de especies perennes por tratarse de una especie de zonas áridas. Existe un

tercer grupo, el cual está compuesto por *tubaeformis*, *rotundifolia* (ambas especies anuales), las cuales presentan

mayor similitud con *diversifolia*, la cual es una especie perenne.

Tabla (3).- Matriz de correlación para doce características de historia de vida en once especies del género *Tithonia* (Asteraceae).

	TSEM	NFC	NSC	TFLO	THOJ	TCAB	%GER	%EST	%VIA	TGER	TCRE	PROP
TSEM	1.000											
NFC	-0.305	1.000										
NSC	-0.317	0.543*	1.000									
TFLO	0.032	0.017	0.457*	1.000								
THOJ	0.392*	-0.12	-0.377	0.031	1.000							
TCAB	0.023	0.439*	-0.015	0.255	0.235	1.000						
%GER	0.368*	0.198	0.187	-0.230	-0.186	-0.094	1.000					
%EST	0.257	0.181	0.122	0.026	-0.134	0.22	0.956*	1.000				
%VIA	0.719*	-0.278	-0.136	0.63	0.137	-0.374*	0.760*	0.672*	1.000			
TGER	-0.19	0.072	0.042	0.253	0.539*	0.333	-0.805*	-0.747*	-0.628*	1.000		
TCRE	0.310	-0.453*	-0.357	-0.247	0.047	-0.536*	0.552*	0.612*	0.753*	-0.604*	1.00	
PROP	-0.120	-0.278	-0.009	-0.297	0.037	-0.791*	0.167	0.102	0.415*	-0.333	0.55*	1.00

* = $p < 0.05$

Tabla (4).- Porcentaje de varianza y varianza acumulada para un análisis de componentes principales (ACP), para doce características de historia de vida en once especies del género *Tithonia* (Asteraceae).

COMPONENTE	% DE LA VARIANZA	VARIANZA ACUMULADA
1	48.97	48.97
2	17.42	66.40
3	14.04	80.44
4	8.86	89.31
5	4.97	94.29
6	3.39	97.68
7	2.28	99.96
8	0.02	99.99
9	0.001	99.99
10	0.0002	100.00

Es interesante observar que las especies anuales no se presentan en la

misma ramificación en la morfología, también llama la atención que

diversifolia presente una afinidad tan grande con las anuales. Resaltan dos elementos de la anterior topología: las cuatro especies anuales no representan las mayores similitudes entre sí y *diversifolia* no es muy similar a las

especies perennes estudiadas. Comparando éste análisis con el ACP, observamos la misma tendencia en *diversifolia* de asociarse a las especies anuales, en particular a *tubaeformis*.

Tabla (5).- Análisis de autocorrelación y valores de R^2 para doce características de historia de vida en once especies del género *Tithonia* (Asteraceae), según los análisis de (1) Miles y Dunham (1992) y (2) Gittleman y Kott (1990).

Característica de Historia de Vida	Coefficiente de Autocorrelación (1)	R^2	Coefficiente de Autocorrelación (2)	R^2
Tamaño de la semilla	0.75 *	0.62	0.63 *	0.57
Flores por cabezuela	0.71 *	0.58	0.53 *	0.49
Semillas por cabezuela	0.83 *	0.67	0.55 *	0.48
Tamaño de la flor	0.39	0.37	0.59 *	0.54
Tamaño de la hoja	0.46 *	0.30	0.37	0.29
Tamaño de la cabezuela	0.52 *	0.38	0.05	0.07
Germinación	0.01	0.04	0.49 *	0.42
Establecimiento	0.09	0.01	0.48 *	0.43
Viabilidad	0.58 *	0.49	0.58 *	0.51
Tiempo a la Germinación	0.04	0.02	0.47 *	0.40
Tasa de crecimiento	0.19	0.25	0.44 *	0.32
Asignación de recursos	0.22	0.10	0.39	0.26

(* = $p < 0.05$)

Los resultados del análisis de autocorrelación (Miles y Dunham 1992), muestran que para cuatro características de historia de vida el

coeficiente de autocorrelación resulta significativo (tamaño de la semilla TSEM, No. de flores por cabezuela NFC, No. de semillas por cabezuela NSC ,tamaño de la hoja THOJ,

tamaño de la cabezuela **TCAB** y porcentaje de viabilidad **%VIA**), lo que sugiere que la variación en éstas características puede tener un componente filogenético importante (ver Tabla 5). La proporción de varianza explicada por la filogenia **R2**

es bastante alta para estos caracteres, variando desde un 52% hasta un 67%. Los valores de **R2** pueden interpretarse como la proporción de la varianza en un caracter de historia de vida que se debe al hecho de compartir un ancestro común.

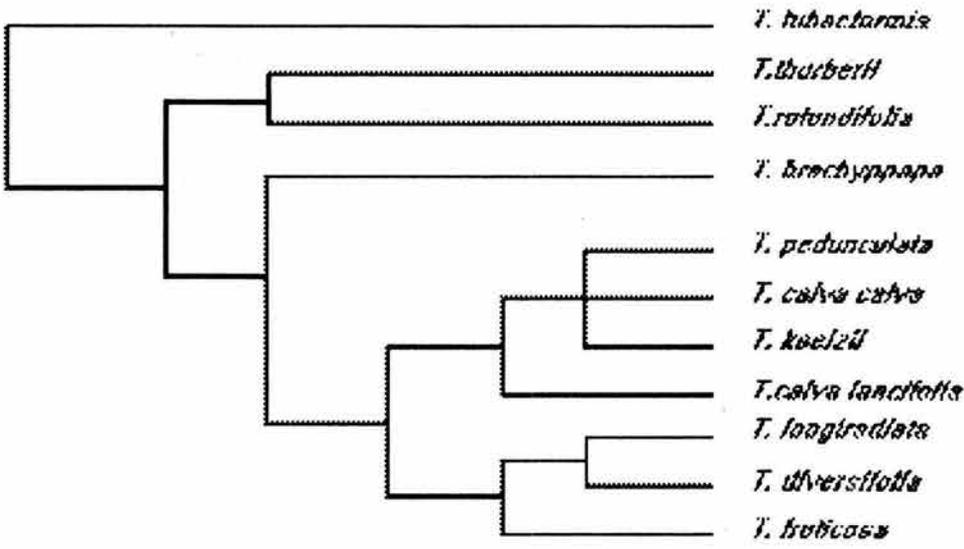


Figura 7. Dendrograma para once especies del género *Titonia* (Asteraceae), construido con una matriz de similitud de características de historia de vida, empleando el algoritmo de "búsqueda exhaustiva" [exhaustive search] del programa PAUP [Phylogenetic Analysis Using Parsimony v. 3.0] Swofford 1997.

En contraparte, tenemos que el porcentaje de germinación **%GER**, porcentaje de establecimiento **%EST**, tiempo a la germinación **TGER**, proporción de biomasa aérea/radicar **PROP**, la tasa de crecimiento **TCRE** y el tamaño de la flor **TFLO**, no presentan valores estadísticamente significativos para el coeficiente de autocorrelación. En este sentido los valores de la varianza explicada por la

filogenia **R2** oscilan en un rango que va del 1% hasta el 49%.

Es importante subrayar que los caracteres que representan efectos atribuibles a respuestas independientes a elementos del ambiente son componentes demográficos y aquellos que están más influenciados por la filogenia representan caracteres o elementos reproductivos, lo cual puede estar limitado dentro del género.

Respecto a los análisis de Gittleman y Kott (1990), tenemos que para diez de los doce caracteres estudiados tenemos efectos significativos de la filogenia, sólo el tamaño de la cabezuela y la asignación de recursos se pueden explicar mejor por efectos no relacionados con la filogenia (ver Tabla 5). Se observa que el porcentaje de varianza explicada por la filogenia presenta un rango que va desde el 0.007% hasta un 57%. En lo que respecta a las características demográficas evaluadas, tenemos que la varianza explicada por la historia,

presenta un rango entre el 26% y el 51%, por otro lado, los caracteres morfológicos presentan un rango entre el 0.007% y el 57%. Para todos los caracteres evaluados, se construyó el *correlograma filogenético* (Figuras 8 y 9). En estos básicamente observamos que el valor del índice *I* de Morán tiende a presentar un patrón decreciente negativo, el cual estaría corroborando que niveles taxonómicos cercanos tienden a estar más correlacionados que con aquellos más lejanos.

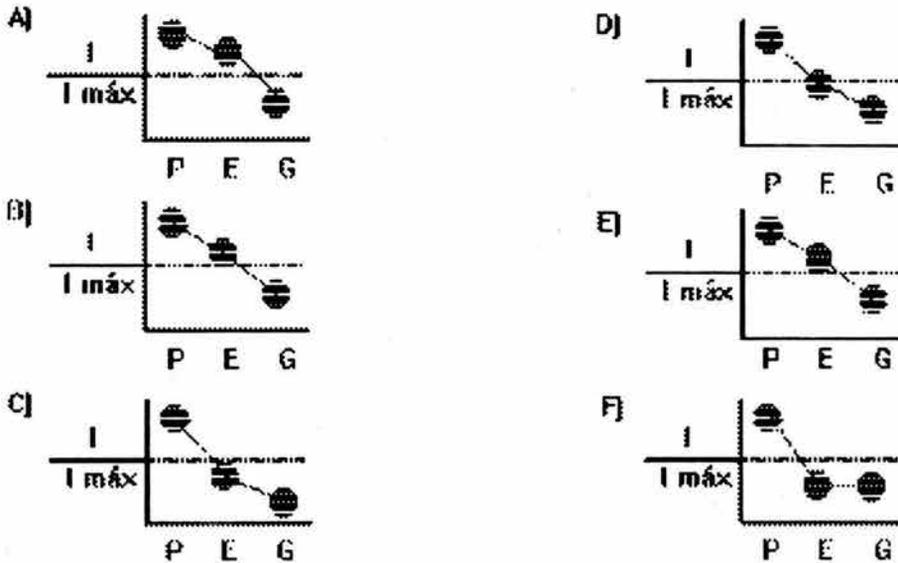


Figura 8.- Correlogramas filogenéticos para seis características de historia de vida en el género *Tithonia* (Asteraceae), según el modelo de Gittleman y Kott [1990], donde: A) Tamaño de la semilla, B) No. Flores por Cabezuela, C) Tamaño de la hoja, D) No. de semillas por cabezuela, E) Tamaño de la flor y F) Tamaño de la cabezuela.

Finalmente, en la Tabla (6), se muestran los valores de correlación para las características de historia de vida, cuando se ha "removido" el efecto de la filogenia.

IV.- DISCUSION.

Entre los primeros esfuerzos por entender el proceso de adaptación conjuntando al área de la ecología y la

filogenia en poblaciones de especies vegetales, es el trabajo de Wanntorp (1983). Dicho autor propone que la retención de hojas es un carácter ancestral y que el hábito decíduo es el carácter derivado, lo interesante es entender que evento promueve una u otra condición y cuál es el valor adaptativo de presentar dicho estado de carácter.



BIBLIOTECA
INSTITUTO DE ECOLOGIA
UNAM

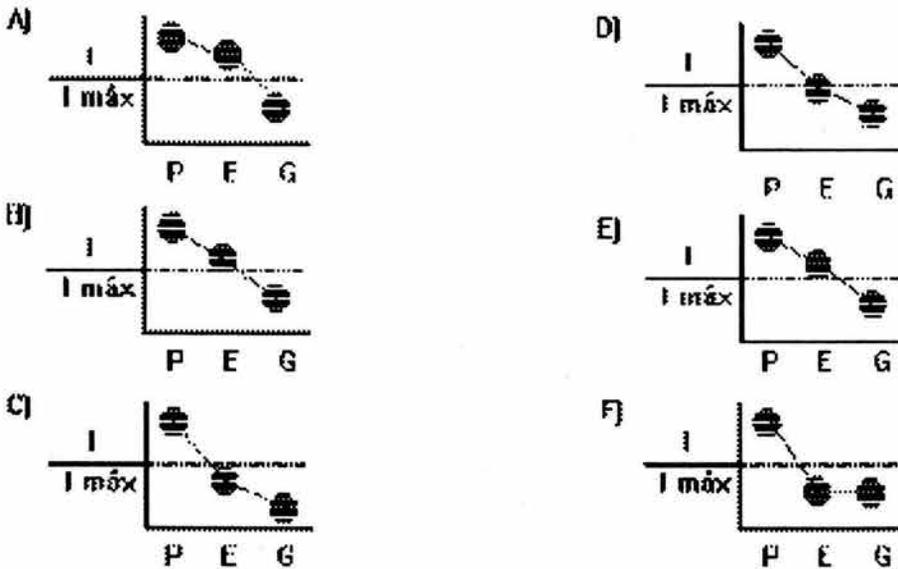


Figura 8. Correlogramas filogenéticos para seis características de historia de vida en el género *Tithonia* (Asteraceae), según el modelo de Gitzelman y Kotl (1990), donde: A) Tamaño de la semilla, B) No. Flores por Cabezuela, C) Tamaño de la hoja, D) No. de semillas por cabezuela, E) Tamaño de la flor y F) Tamaño de la cabezuela.

Kelly y Purvis (1993), han realizado uno de los pocos estudios comparativos en especies vegetales empleando las técnicas de análisis del método comparativo. Al reanalizar los datos de Foster y Janson (1985) sobre

las relaciones entre el tamaño de semilla y el tamaño del claro que colonizan e introducir la taxonomía de las especies analizadas. Reportan que no son las especies con tamaño de semilla grande las que colonizan claros

de tamaño pequeño o sombreados y argumentan de la necesidad de utilizar las relaciones filogenéticas en estudios

ecológicos, para entender los procesos que determinan ciertos patrones.

Tabla (6).- Matriz de correlación de los residuales para doce características de historia de vida en once especies del género *Tithonia* (Asteracea).

	TSEM	NFC	NSC	TFLO	THOJ	TCAB	%GER	%EST	%VIA	TGER	TCRE	PROP
TSEM	1.000											
NFC	-0.338	1.000										
NSC	0.055	0.664*	1.000									
TFLO	0.145	-0.052	0.215	1.000								
THOJ	-0.135	-0.082	-0.214	0.020	1.000							
TCAB	0.100	0.255	-0.199	0.282	0.206	1.000						
%GER	-0.068	0.176	0.132	-0.025	-0.186	-0.091	1.000					
%EST	-0.125	0.161	0.087	-0.026	-0.134	0.021	0.956*	1.000				
%VIA	0.067	-0.222	-0.048	0.203	0.002	-0.312	0.766*	0.637*	1.000			
TGER	0.105	0.064	0.030	0.250	0.537*	0.321	-0.815*	-0.747*	-0.629*	1.000		
TCRE	0.014	-0.002	0.014	-0.331	-0.232	-0.466*	0.747*	0.697*	0.566*	-0.658*	1.00	
PROP	-.392*	-0.255	-0.006	-0.294	0.037	-0.763*	0.167	0.102	.0400*			1.00

* = $p < 0.05$

Al emplear las metodologías de autocorrelación en la expresión de características de historia de vida, se logra un notable avance en el estudio de la adaptación. Los análisis de autocorrelación nos presentan estimados directos de la variación atribuible a la filogenia y la variación de los residuales puede emplearse para construir hipótesis sobre la adaptación a ambientes particulares. Es importante recalcar que estos métodos nos permiten hacer inferencias sobre el pasado y sugerir las respuestas a la selección a corto y mediano plazo.

Comparando los resultados de los dos análisis de autocorrelación, es

importante considerar que en un análisis (Miles y Dunham 1992), encontramos que los caracteres asociados a la morfología son los que presentan una mayor varianza asociada a la historia evolutiva del grupo y no así los "ecológicos". Para el análisis de Gittleman y Kott (1990), notamos que la varianza explicada por la filogenia es significativa para 10 de los doce caracteres analizados, aunque aquí es importante señalar que este análisis nos permite conocer el nivel al cual se presenta la influencia. Para nuestro análisis en particular gran parte de la influencia es a nivel poblacional, lo que

puede interpretarse como rápida respuesta al ambiente.

Dado que para especies vegetales este enfoque no ha sido empleado, las comparaciones surgen a un nivel más descriptivo. Telenius et al. (com pers), sugieren que los patrones de historia de vida analizados para once especies de la tribu Anthemidae (Asteraceae), pueden presentar interpretaciones más interesantes al ser incluida la filogenia en la discusión. El aspecto más interesante es que los ancestros de las especies actuales de esa tribu, evolucionaron el complejo de caracteres de historia de vida en relación a los hábitos anuales y perennes. Para el caso de las diferentes especies de *Tithonia*, no encontramos un patrón tan claro en términos de la longitud del ciclo de vida, podremos suponer que algunas de las diferencias encontradas están en función de los ambientes en que se presentan las diferentes especies.

En términos de un análisis adaptacionista debemos considerar también la posibilidad de que un carácter no hubiera evolucionado en el género. Por lo tanto debemos considerar que tanto los caracteres

ecológicos pueden ser entendidos como primitivos, pero sin negar la posibilidad de que presentaron en tiempos remotos alguna adaptación.

Es interesante tomar en cuenta, las posibles divergencias o inexactitudes que se observan entre los métodos de análisis de Miles y Dunham (1992), con los de Gittleman y Kott (1990). Una posible causa de divergencia podría estar determinada por la forma de reconstruir las relaciones filogenéticas, puesto que en el primer caso la matriz de distancias filogenéticas está dada por los pasos o nodos que separan a las especies a comparar. Para el segundo tipo de análisis describimos la matriz de distancia como los elementos que pertenecían a cada uno de los nodos en los cuales dividimos la topología y esto puede ser más similar a un análisis de varianza anidado.

Como una conclusión, mencionaremos que el poder dividir la varianza asociada a los caracteres de historia de vida, nos permite identificar eventos de evolución independiente y restricciones históricas en el desempeño ecológico de las especies.

BIBLIOGRAFIA

- Cheverud, J.M., M.M. Dow y W. Leutenegger, W. (1985). The quantitative assessment of phylogenetic constraints in comparative analyses: sexual dimorphism in body weight among primates. **Evolution**. 39:1335-1351.
- Charlesworth, B. (1980). **Evolution in Age Structured Populations**. Cambridge University Press. Cambridge
- Felsenstein, J. (1991). **PHYLIP (Phylogeny Inference Package)** versión 3.4. distribuido por el autor. University of Washington. EUA.
- Foster, S.A. y C.H. Janson. (1985). The relationship between seed size and establishment conditions in tropical woody plants. **Ecology**. 66:773-780.
- Gittleman J.L. y M. Kot (1990). Adaptation: Statistics and a null model for estimating phylogenetic effects. **Systematic Zoology**. 39(3):227-241.
- Hennig, W. (1966). **Phylogenetic systematics**. University of Illinois Press, Urbana. EUA.
- Huey, R.B. (1987). Phylogeny, history and the comparative method. En: **New Directions in ecological physiology**. (eds. M.E. Feder, A.F. Bennett, W. Burggren y R.B. Huey). pp:76-98. Cambridge University Press. Gran Bretaña.
- Kelly, C.K. y A. Purvis (1993). Seed size and establishment conditions in tropical trees. On the use of taxonomic relatedness in determining ecological patterns. **Oecologia**. 94:356-360.
- LaDuke, J.C. (1982). Revision of *Tithonia*. **Rhodora**. 84(840):453-522.
- Lynch, M. (1991). Methods for the analysis of comparative data in evolutionary biology. **Evolution**. 45(5):1065-1080.
- Miles, D.B. y A.E. Dunham (1992). Comparative analyses of phylogenetic effects in the life history patterns of iguanid reptiles. **American Naturalist** 139:848-867.

- (1993). Historical perspectives in ecology and evolutionary biology: The use of phylogenetic comparative analyses. **Annual Review of Ecology and Systematics**. 24:587-619.
- Moran, P.A.P. (1950). Notes on continuous stochastic phenomena. **Biometrika**. 37:17-23.
- Ohara, M. (1989). Life history evolution in the genus *Trillium*. **Plant Species Biology**. 4:1-28.
- Ridley, M. (1986). **Evolution and classification: the reformation of cladism**. Longman, London. Gran Bretaña.
- Schaffer, W.M. (1974). Optimal reproductive effort in fluctuating environments. **American Naturalist**. 108:783-790.
- Stearns, S.C. (1976). Life history tactics: A review of the ideas. **The Quarterly Review of Biology**. 51:3-47.
- (1977). The Evolution of life history traits: a critique of the theory and a review of the data. **Annual Review of Ecology and Systematics**. 8:145-171.
- (1980). A new view of life-history evolution. **Oikos** 35:266-281.
- (1984). The effects of size and phylogeny on patterns of covariation in the life history traits of lizards and snakes. **American Naturalist**. 123:56-72.
- Swofford, D.L. (1985). **PAUP (Phylogenetic Analysis Using Parsimony)**. Version 3.0. Illinois Natural History Survey. Champaign, Illinois.
- Wanntorp, H.-E. (1983). Historical constraints in adaptation theory: Traits and non-traits. **Oikos**. 41:157-160.
- Zar, J.H. (1984). **Biostatistical Analysis**. 2^a Ed. Prentice-Hall Inc. New Jersey. EUA.

APÉNDICE 1.

MODELO DE AUTOCORRELACIÓN FILOGENÉTICA.

Chevereud, J.M., M.M. Dow y W. Leutenegger (1985). The quantitative assesment of phylogenetic constrains in comparative analyses: sexual dimorphism in body weight among primates. **Evolution** 39(6):1335-1351

En los análisis comparativos entre especies, se asume que todas las especies dentro de una muestra son independientes entre sí, al menos respecto a los atributos a estudiar. Sin embargo, si la muestra consiste de un conjunto de especies filogenéticamente relacionadas, no necesariamente pueden ser consideradas unidades evolutivamente independientes.

Conceptualmente puede dividirse el valor de un caracter (**T**), en un valor filogenético o heredado (**P**) y un valor específico (**S**), que se encuentra asociado a evolución independiente, por lo tanto:

$$T = P + S \quad (1)$$

donde **P** puede ser conceptualizado como una medida de la influencia de alguno conjunto hipotético de ancestros y representa la fracción heredada del carácter. **S** puede mostrar evidencia de la adaptación de cierta especie, independientemente de las otras especies relacionadas con ella.

Esencialmente el análisis de autocorrelación consiste en un modelo de regresión de máxima verosimilitud, en el cual el valor de cualquier caso se predice por una combinación lineal de los valores de casos relacionados. Se emplean métodos de máxima verosimilitud porque la variable dependiente **y**, aparece en ambos lados de la ecuación.

$$\mathbf{y} = \rho \mathbf{W} \mathbf{y} + \boldsymbol{\varepsilon} \quad (2)$$

de \mathbf{y} es un vector de $n \times 1$ (n =es el número de taxa, para este estudio es el número de especies de *Tithonia*) que contiene los valores del carácter de interés, ρ es un escalar y representa el coeficiente de autocorrelación filogenética. El vector \mathbf{y} representa los valores del carácter (\mathbf{T}), el vector $\mathbf{W} \mathbf{y}$ estima el valor filogenético (\mathbf{P}) y el vector de residuales $\boldsymbol{\varepsilon}$, representa el valor específico (\mathbf{S}).

Las variables \mathbf{y} y $\mathbf{W} \mathbf{y}$, previamente al análisis se estandarizan con media cero y varianza uno. De (2) obtenemos:

$$\boldsymbol{\varepsilon} = (\mathbf{I} - \rho \mathbf{W}) \mathbf{y} = \mathbf{A} \mathbf{y} \quad (3)$$

Dado $\boldsymbol{\varepsilon} \sim N(0, \sigma^2 \mathbf{I})$, la función de verosimilitud para los residuales ($\boldsymbol{\varepsilon}$), puede formularse como:

$$L(\boldsymbol{\varepsilon}) = [1 / (2\pi\sigma^2)]^{N/2} \exp [(-\boldsymbol{\varepsilon}'\boldsymbol{\varepsilon}) / (2\sigma^2)] \quad (4)$$

Sustituyendo $\boldsymbol{\varepsilon}$ en la expresión anterior, obtenemos la función de verosimilitud [$L(\mathbf{y})$] para los valores observados de \mathbf{y} , como sigue:

$$L(\mathbf{y}) = [1 / (2\pi\sigma^2)]^{N/2} \exp [-(\mathbf{A}'\mathbf{y})(\mathbf{A}\mathbf{y}) / (2\sigma^2)] |\mathbf{A}| \quad (5)$$

Donde $|\mathbf{A}|$ es la transformación Jacobiana de los residuales ($\boldsymbol{\varepsilon}$), a los valores observados de \mathbf{y} (i.e. el determinante de la matriz \mathbf{A}). Posteriormente se transforma (5) en la función logartimo $l(\mathbf{y})$:

$$l(\mathbf{y}) = - (N/2) \ln (2\pi\sigma^2) - [1 / (2\sigma^2)] \mathbf{y}'\mathbf{A}'\mathbf{A}\mathbf{y} + \ln |\mathbf{A}| \quad (6)$$

Esta debe maximizarse respecto a σ^2 y ρ . Derivando respecto a σ^2 e igualando la derivada con 0, se obtiene el máximo del estimador de máxima verosimilitud para la varianza de los residuales:

$$\sigma^2 = N^{-1} \mathbf{y}'\mathbf{A}'\mathbf{A}\mathbf{y} \quad (7)$$

Sustituyendo lo anterior en la ecuación en (6) y simplificando tenemos:

$$l(\mathbf{y}) = \text{constante} - (N/2) \ln (\sigma^2) + \ln |\mathbf{A}| \quad (8)$$

Esta es la función que el estimador de máxima verosimilitud ρ debe maximizar. Dado que el determinante de la matriz es A el término $|A|$ debe evaluarse cada iteración (Ord 1975), simplificando el proceso con la siguiente relación:

$$|A| = \prod (1 - \rho\lambda_i) \quad (9)$$

donde λ_i son los eigenvalores de la matriz W y sólo se necesita que sean calculados en una ocasión. Ahora la expresión final que ρ debe maximizar es:

$$\ln [y'y - 2\rho y' W y + \rho^2 (W y)'(W y)] - (2/N) \sum \ln (1 - \rho\lambda_i) \quad (10)$$

Estos procedimientos de máxima verosimilitud, permiten realizar inferencias respecto a la presencia de autocorrelación filogenética para cierto carácter en y particular. En estos análisis la varianza total del carácter de estudio debe descomponerse en las fracciones de varianza "explicadas" y "no explicadas". Por consiguiente, un estimador viable de la varianza explicada (R^2), es:

$$R^2 = (\text{error de la varianza} / \text{varianza de } y) \quad (11)$$

El valor de R^2 , representa la fracción de la varianza total que está asociada a la filogenia. Finalmente, la fracción de la varianza no explicada se obtiene con (7).

CAPITULO V.- DISCUSION GENERAL.

El estudio de la adaptación biológica puede enfocarse desde varias perspectivas. Se han realizados estudios comparativos (Pagel y Harvey 1991), biogeográficos (Bock 1977), ecológicos (Givnish 1987) y sistemáticos Brooks y Mac Lennan (1991). Asimismo, se ha propuesto Coddington (1988) y Lauder et al. (1993), que el entendimiento de la adaptación sólo puede lograrse en un contexto filogenético, al analizar la presencia de novedades evolutivas (**apomorfismos**) que aparezcan a lo largo de un cladograma y sean promovidas por la selección natural.

Un enfoque en biología evolutiva para entender la adaptación, es el estudio de la evolución de historias de vida. Durante las últimas décadas, mucho del interés de éstas investigaciones en diferentes especies de plantas, se ha centrado en investigar las relaciones entre la adecuación darwiniana y diferentes parámetros de historia de vida e incluso algunos han ido más lejos y han combinado los aspectos demográficos y características de historia de vida de las plantas a la luz del concepto de **estrategias**

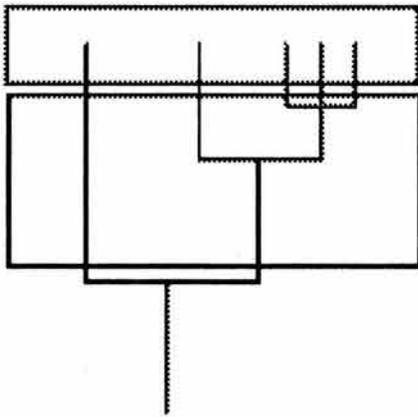
adaptativas (Stearns 1980 y Silvertown 1982).

Los estudios en ecología han considerado que las respuestas proximales que presentan los organismos ante el ambiente, pueden considerarse adaptaciones si es que modifican positivamente la adecuación. Cuando conjuntamos la información ecológica y filogenética, podemos elaborar hipótesis sobre el origen de ciertos caracteres y su valor adaptativo, si es que podemos mapear a estos últimos a lo largo de una filogenia. Cuando se emplea éste enfoque, en ocasiones se ha propuesto que la fracción terminal de un cladograma estaría representando eventos de adaptación y la que corresponde al resto del cladograma se podría entender como restricción filogenética (Wanntorp et al. 1990 y Brooks y McLennan 1991). (ver Figura 1). Con base en lo anterior, es importante considerar que al hacer un estudio comparativo, no debemos tratar de elegir entre adaptación e historia cuando se formule una hipótesis de trabajo. Es importante considerar que la diversificación filogenética es un continuo y tanto las adaptaciones como

las restricciones "históricas" pueden acumularse en el tiempo a cualquier nivel (ramificación) dentro del cladograma.

Esta idea, ha sido tratada analíticamente principalmente por Cheverud *et al.* (1985), quienes propusieron formalmente un modelo para el análisis cuantitativo de los efectos filogenéticos y específicos sobre valores de caracteres particulares de las especies. El modelo permite dividir el valor total del carácter en un componente filogenético, el cual se supone heredado de especies ancestrales, y un componente

específico que es el resultado de evolución independiente. Este último valor es importante puesto que puede proporcionar información de la adaptación de una especie dada, independientemente de las otras especies con las que esté relacionada. Este modelo ha sido ampliamente utilizado en análisis comparativos y algunas modificaciones han sido implementadas (ver Gittleman y Kott 1990, Lynch 1991 y Miles y Dunham 1992) para responder diferentes preguntas sobre la adaptación.



ADAPTACIÓN

RESTRICCIÓN

FILOGENÉTICA

Figura (1).- Acumulación histórica de adaptación y restricciones en la diversificación filogenética de un grupo de especies.

En este estudio hemos realizado un análisis comparativo (sensu Cheverud *et al.* 1985), para entender el peso de la adaptación sobre los caracteres morfológicos y de historia de vida en el género *Tithonia* (Asteraceae) y el posible origen de los caracteres estudiados. También se ha tratado de determinar las fuerzas evolutivas más importantes que actúan sobre el género y se realizó una descripción de la variación genética.

Con la información de la diferenciación morfológica entre especies (Capítulo 1), se ha podido inferir sobre las características del ambiente que pueden estar promoviendo esta variación. Sin embargo, es importante considerar que la divergencia entre poblaciones puede ocurrir como el resultado de cambios microevolutivos de diferente naturaleza en el tiempo. En este estudio, los resultados obtenidos no podrían indicarnos cuál es la naturaleza de esos cambios. Lo que si se puede considerar como muy importante, es la relevancia que tienen los estudios comparativos para discernir el peso relativo de la historia y la evolución ulterior de los taxa. Las técnicas de análisis comparativos utilizados en este trabajo, nos han mostrado que existe para el género *Tithonia*, gran influencia de la historia común del grupo para explicar los valores observados de los caracteres morfológicos analizados. No

determinamos la causalidad, pero no es para nada despreciable la historia. De esto resulta algo interesante, los resultados han mostrado influencia de la filogenia (para el análisis "estilo Gittleman), pero el porcentaje de la varianza explicado es muy bajo, oscila entre el 4% y 31%. Probablemente la conclusión puede ser errónea si aseveramos que entonces la variación que observamos es puramente adaptativa.

No existe "una receta" para decidir a que niveles de varianza explicada, se toma la decisión de que pesa más la historia que la evolución ulterior, además no se trata de ponernos a resolver una dicotomía de este estilo. Por lo tanto, sólo podemos especular que probablemente asociados a éstos caracteres morfológicos, existe una gran variación fenotípica o probablemente una gran plasticidad que genera que no se tenga un patrón consistente en la expresión de los caracteres para los diferentes ambientes.

La amplitud ecológica de una especie, puede reflejar el potencial evolutivo de la misma; el límite de distribución de las especies, puede ser analizado como un problema evolutivo muy cercanamente relacionado con la pregunta de ¿qué limita la habilidad de una especie a responder a la selección natural? (Antonovics 1976). Para delinear analíticamente el proceso

evolutivo que controla la distribución de las especies, un buen enfoque consistirá en hacer un estudio comparativo de la estructura genética de una especie que haya explotado exitosamente un amplio rango de hábitos (Silander y Antonovics 1979).

La información obtenida al realizar el estudio de la variación genotípica (Capítulo 2), nos indica dos aspectos muy importantes: i) se detectó una heterocigosis esperada para todas las especies cercana a los valores de las hierbas (según Hamrick et al. 1979) y ii) los valores del estadístico F_{ST} nos indican que existe una influencia muy grande la selección natural, desde luego no necesariamente es la fuerza evolutiva de mayor peso en éstas diferencias observadas; un papel muy importante lo puede estar desempeñando la deriva génica.

Aunque el enfoque seguido aquí no implica el análisis de subpoblaciones para las diferentes especies, los resultados si muestran cual puede ser un agente importante de evolución. Respecto a la elaboración de una hipótesis evolutiva, basada en las similitudes genéticas de las especies, encontramos que no es totalmente compatible con la propuesta morfológica (La Duke 1982). Es interesante considerar que no necesariamente la variación morfológica tendría que ser reflejo de la variación genética o viceversa.

Probablemente los mecanismos que están generando la diferenciación entre las especies en ambos niveles no son los mismos y no se reflejan igualmente.

Un análisis conjuntando ambas informaciones, podría dar mayor claridad a como ambos tipos de variación estarían delimitando las relaciones dentro del género.

Un tercer punto abordado para tratar de entender el proceso de adaptación en el género *Tithonia*, consistió en analizar las características de historia de vida para once especies. Se ha propuesto que los estudios que combinen la información ecológica con la filogenética, tendrán un potencial muy grande para discernir de una manera más precisa el peso de la historia y elaborar hipótesis sobre la adaptación biológica (Wanntorp et al. 1990).

Sin embargo, han sido relativamente pocos los estudios que han empleado esta metodología de análisis (Cheverud et al. 1985, Gittleman y Kott 1990, Harvey y Keymer 1991, Miles y Dunham 1992 y Kelly y Purvis 1993). Para el caso de *Tithonia*, no tenemos un punto de comparación dado que no se han realizado estudios de este estilo en especies vegetales. Sin embargo es importante recalcar que para los análisis de historia de vida, hemos encontrado que varios caracteres están

fuertemente influenciados por la historia evolutiva del grupo (ver Capítulo 3, Tabla 5).

Este evento nos permite discutir la idea de que las características de historia de vida son adaptaciones particulares al ambiente. Aquí es interesante retomar la idea de que no queremos buscar la dicotomía **adaptación vs historia**, sino tratar de entender que caracteres pueden incluirse como restricciones filogenéticas y cuáles están cambiando de una manera un poco más dinámica (por darle algún calificativo). Con ésta evidencia podrían hacerse hipótesis sobre que tan plásticos podrían ser los caracteres de historia de vida. Asimismo, con los caracteres de historia de vida, se propuso una topología para ser comparada con la hipótesis morfológica. En esta encontramos mayor consistencia entre ambas propuestas que lo encontrado en términos de variación genotípica. Cabe recordar que las tres topologías no han sido propuestas con un análisis cladista, sólo la morfológica (La Duke 1982), por lo tanto una hipótesis evolutiva conjuntando los tres tipos de información, nos puede dar una mejor idea sobre las relaciones filogenéticas en el género.

En este estudio hemos abarcado tres aspectos importantes para entender la evolución de las especies: la variación geográfica, la variación

genética y la variación ecológica (vía análisis de la variación demográfica).

Se detectó de manera importante la influencia de la historia que comparten las especies del género *Tithonia*, como elemento fundamental para explicar la variación de caracteres morfológicos y de historia de vida. También se obtuvo evidencia la importancia de la selección natural como agente de evolución dentro de éste género.

Al combinar los análisis filogenéticos con los ecológicos y genéticos, se ha demostrado que el estudio de la adaptación biológica se ha visto enriquecido y se pueden plantear hipótesis de procesos y mecanismos de especiación.

Este enfoque empleado en este estudio es muy relevante puesto que ahora ha surgido la polémica en torno a la "efectividad" del método comparativo para entender la adaptación. Particularmente Leroi et.al. (1994), han cuestionado el empleo de esta metodología. Argumentan que la adaptación sólo puede entenderse si los patrones de selección y/o variación genética son evaluados directamente en diferentes especies dentro de un clado. Aunque finalmente admiten que los métodos comparativos son muy valiosos para examinar la historia evolutiva de los caracteres, pueden ser "engañosos" en el estudio de los procesos adaptativos.

Como punto importante previo a finalizar, se presenta a continuación una hipótesis evolutiva para las once especies del género *Tithonia*, juntando la información morfológica [14 caracteres], molecular (isoenzimas) [17 caracteres], y ecológica [12

caracteres]. Uniendo los tres niveles de información se construyó una matriz con los diferentes estados de caracteres y empleando las rutinas de parsimonia del programa de reconstrucción filogenética PAUP (Swofford 1985), se construyó el cladograma (Figura 2).

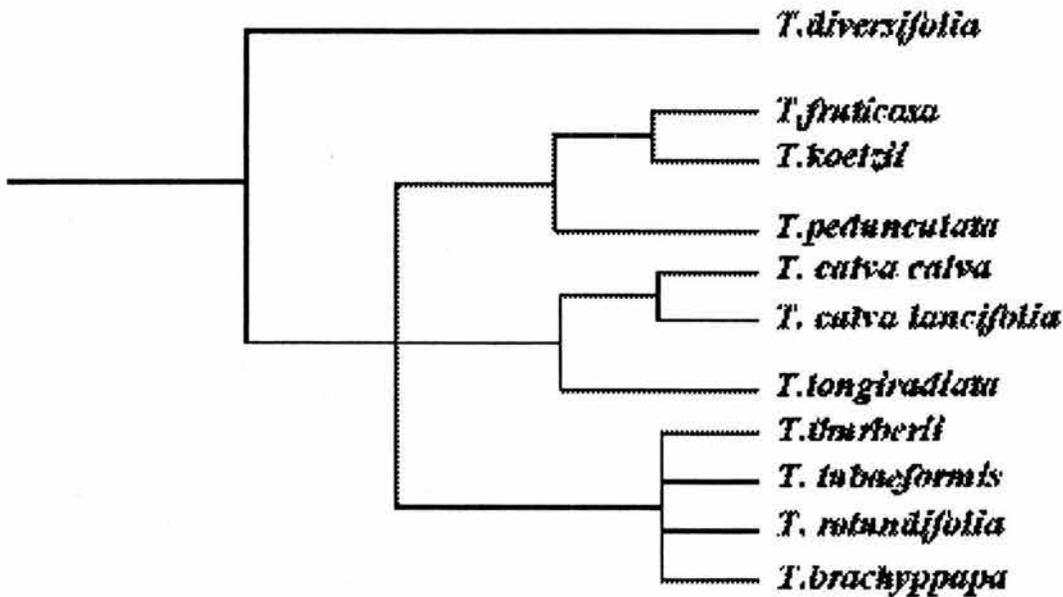


Figura 2.- Cladograma para once especies del género *Tithonia* (Asteraceae), construido con base en una matriz de información morfológica, molecular y ecológica, aplicando el programa de Análisis Filogenético Empleando la Parsimonia (PAUP), (Swofford 1985).

Finalmente, sólo cabría mencionar que en este estudio se han contemplado los diferentes niveles de variación: fenotípica, genotípica y de historias de vida en el género *Tithonia*

(Asteraceae) y por lo tanto el enfoque para entender los procesos de adaptación en éste es bastante preciso y puede iniciar una serie de estudios para entender este proceso en la sinanterología.

BIBLIOGRAFIA

- Antonovics, J. (1976). The nature of limits to natural selection. **Annals of the Missouri Botanical Garden**. 63:224-227.
- Bock, W.J. (1977). Adaptation and the comparative method. En: **Major patterns in vertebrate evolution** (eds. M.K.Hecht, P.Godoy y B.Hecht). pp:57-82. Plenum Press, EUA.
- Brooks, D.R. y D.A.McLennan (1991). **PHYLOGENY, ECOLOGY, AND BEHAVIOR. A Research Program in Comparative Biology**. The University of Chicago Press. EUA. 434 pp + xii.
- Cheverud, J.M., M.M.Dow y W.Leutenegger, W. (1985). The quantitative assesment of phylogenetic constrains in comparative analyses: sexual dimorphism in body weight among primates. **Evolution**. 39:1335-1351.
- Coddington, J.A. (1988). Cladistic tests of adaptational hypotheses. **Cladistics** 4:3-22.
- J.L.Gittleman y M. Kot (1990). Adaptation: Statistics and a null model for estimating phylogenetic effects. **Systematic Zoology**. 39(3):227-241.
- Givnish, T.J. (1987). Comparative studies of leaf form: assesing the relative roles of selective pressures and phylogenetic constrains. **New Phytologist**. 106:131--160.
- Hamrick, J.L., Y.B.Linhart y J.B.Mitton (1979). Relationships between life history characteristics and electrophoretically detectable genetic variation in plants. **Annual Review of Ecology Systematics**. 10:173-200.
- Harvey, P.H. y A.E.Keymer (1991). Comparing life histories using phylogenies. **Philosophical Transactions of the Royal Society of London**. B.332:31-39.
- y M.D.Pagel (1991). **The comparative method in evolutionary biology**. Oxford Series in Ecology and Evolution No.1. Oxford University Press 239 pp + viii. Gran Bretaña.

- Kelly, C.K. y A. Purvis (1993). Seed size and establishment conditions in tropical trees. On the use of taxonomic relatedness in determining ecological patterns. **Oecologia**. 94:356-360.
- LaDuke, J.C. (1982). Revision of *Tithonia*. **Rhodora**. 84(840):453-522.
- Lauder, G.V., A.M. Leroi y M.R. Rose (1993). Adaptations and History. **Trends in Ecology and Evolution**. 8(8):294-297.
- Leroi, A.M., M.R. Rose y G.V. Lauder (1994). What does the comparative method reveal about adaptation? **American Naturalist**. 143(3):381-402.
- Lynch, M. (1991). Methods for the analysis of comparative data in evolutionary biology. **Evolution**. 45(5):1065-1080.
- Miles, D.B. y A.E. Dunham (1992). Comparative analyses of phylogenetic effects in the life history patterns of iguanid reptiles. **American Naturalist** 139:848-867.
- Silander, J.A. y J. Antonovics (1979). The genetic basis of the ecological amplitude of *Spartina patens*. I. Morphometric and physiological traits. **Evolution**. 33(4):1114-1127.
- Stearns, S.C. (1980). A new view of life history evolution. **Oikos**. 35:266-281.
- Swofford, D.L. (1985). **PAUP (Phylogenetic Analysis Using Parsimony)**. Version 3.0. Illinois Natural History Survey. Champaign, Illinois.
- Wanntorp, H.-E., D.R. Brooks, T. Nilsson, S. Nylin, F. Ronquist, S.C. Stearns y N. Wedell (1990). Phylogenetic approaches in ecology. **Oikos**. 57:119-132.