



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

Facultad de Ciencias

HIBRIDACIÓN NATURAL EN EL COMPLEJO
Tithonia tubaeformis × *Tithonia rotundifolia*
(ASTERACEAE) EN MÉXICO

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE
MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
(BIOLOGÍA AMBIENTAL)

P R E S E N T A

ALFREDO LÓPEZ CAAMAL

TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: DR. EFRAÍN TOVAR SÁNCHEZ

COMITÉ TUTOR:
DR. ALBERTO KEN OYAMA NAKAGAWA
DRA. SUSANA VALENCIA ÁVALOS

MÉXICO, D.F.

NOVIEMBRE, 2011



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.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

Facultad de Ciencias

HIBRIDACIÓN NATURAL EN EL COMPLEJO
Tithonia tubaeformis × *Tithonia rotundifolia*
(ASTERACEAE) EN MÉXICO

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE

MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
(BIOLOGÍA AMBIENTAL)

P R E S E N T A

ALFREDO LÓPEZ CAAMAL

TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: DR. EFRAÍN TOVAR SÁNCHEZ

COMITÉ TUTOR:

DR. ALBERTO KEN OYAMA NAKAGAWA

DRA. SUSANA VALENCIA ÁVALOS

MÉXICO, D.F.

NOVIEMBRE, 2011



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
FACULTAD DE CIENCIAS
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

OFICIO FCIE/DEP/636/11

ASUNTO: Oficio de Jurado

Dr. Isidro Ávila Martínez
Director General de Administración Escolar, UNAM
Presente

Me permito informar a usted que en la reunión ordinaria del Comité Académico del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día **19 de septiembre de 2011** se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de **MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS (BIOLOGÍA AMBIENTAL)** del (la) alumno (a) **LÓPEZ CAAMAL ALFREDO** con número de cuenta **301844888** con la tesis titulada **"HIBRIDACIÓN NATURAL EN EL COMPLEJO *Tithonia tubaeformis x Tithonia rotundifolia* (ASTERACEAE) EN MÉXICO"**, realizada bajo la dirección del (la) **DR. EFRAÍN TOVAR SÁNCHEZ**:

Presidente: DR. DANIEL IGNACIO PIÑERO DALMAU
Vocal: DR. JOSÉ LUIS VILLASEÑOR RÍOS
Secretario: DR. ALBERTO KEN OYAMA NAKAGAWA
Suplente: DRA. ANA ELENA MENDOZA OCHOA
Suplente: DRA. SUSANA VALENCIA ÁVALOS

Sin otro particular, me es grato enviarle un cordial saludo.

Atentamente
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPÍRITU"
Cd. Universitaria, D.F., a 15 de noviembre de 2011



M. del Coro Arizmendi
Dra. María del Coro Arizmendi Arriaga
Coordinadora del Programa

DIVISIÓN DE ESTUDIOS
DE POSGRADO

Agradecimientos

Al Posgrado de Ciencias Biológicas, UNAM por permitirme realizar mis estudios de maestría.

Asimismo, agradezco la beca que me fue otorgada por CONACyT (231924) para llevar a cabo mis estudios, así como por el proyecto 61275 otorgado al Dr. Efraín Tovar Sánchez, cuyos fondos apoyaron la realización del presente trabajo.

Por último, agradezco las valiosas aportaciones del comité tutor:

- Dr. Efraín Tovar Sánchez
- Dr. Alberto Ken Oyama Nakagawa
- Dra. Susana Valencia Ávalos

Me encuentro agradecido con el Dr. Efraín Tovar Sánchez (de quien he aprendido tantas cosas) por su confianza y por permitirme formar parte de su equipo de trabajo desde hace ya varios años, desde mis estudios de licenciatura y ahora de maestría.

Agradezco también los valiosos comentarios del Dr. Alberto Ken Oyama Nakagawa y de la Dra. Susana Valencia Ávalos a lo largo de la realización de este trabajo de tesis, pero sobre todo, agradezco la excelente disposición de ambos durante mis estudios de maestría. Asimismo agradezco las valiosas aportaciones del Dr. José Luis Villaseñor Ríos, Dr. Daniel Pileró Dalmau y de la Dra. Ana Elena Mendoza Ochoa

Al decir que este trabajo es solo mío, miento. Existe mucha gente que ayudó en la realización de esta tesis, ya fuera en las salidas al campo, midiendo miles (literalmente) de hojas y flores y/o en la captura de datos: Mauricio Mora, Fabiola Rodríguez, Verónica Aguilar, Erwin Martí, Leonardo Beltrán, Paulette Arellano, Tatiana Cervantes, César Martínez, Elgar Castillo, Noelia Vázquez y Verónica Jasso; ¡Muchas gracias a todos, sin su ayuda simplemente no hubiera sido posible terminar el trabajo!

Agradezco a mis amigos del CIByC (UAEM) no solo la ayuda brindada para realizar mi tesis, sino también por su amistad, haciendo que las jornadas de trabajo no se sintieran como eso. En especial quisiera agradecer a Verónica y Fabiola de quienes y con quienes aprendí tantas cosas, ¡gracias!

De manera especial, quisiera agradecer todo el apoyo de Verónica Jasso, quien significó no solo un apoyo importante en el trabajo de campo y en la captura de datos, sino también fue un pilar importante en mi vida, del cual recibí constantemente aliento y apoyo en todos los sentidos.

Por último (y no menos importante) agradezco profundamente el cariño y el apoyo incondicional de mi familia durante todos estos años. Gracias papá, mamá, Fernando y David. Hice un esfuerzo para reflejar en esta tesis todo lo que ustedes me han dado, sin embargo, estoy seguro de que fallé.

Índice

Lista de figuras y tablas	1
Resumen	3
Abstract	4
I. Introducción.....	5
Hibridación natural.....	5
a. <i>Hibridación introgresiva</i>	6
Barreras reproductivas.....	7
Zonas híbridas	8
Identificación y expresión de caracteres de individuos híbridos	10
Especies invasoras e hibridación introgresiva	11
II. Sistema de estudio	13
La familia Asteraceae	13
Hibridación introgresiva en la familia Asteraceae	14
El género <i>Tithonia</i> : Descripción e historia de vida de <i>Tithonia tubaeformis</i> y <i>T. rotundifolia</i>	15
a. Hibridación en el complejo <i>Tithonia tubaeformis</i> × <i>Tithonia rotundifolia</i>	18
III. Justificación, Objetivos e Hipótesis.....	20
IV. Artículo: “Revealing introgressive hybridization between two invasive sunflowers species: <i>Tithonia tubaeformis</i> and <i>T. rotundifolia</i> complex”	21
V. Discusión	67
VI. Referencias.....	74

Lista de figuras y tablas

		Pág
Figura 1	Sitios de colecta registrados en el herbario MEXU de <i>Tithonia tubaeformis</i> (verde) y <i>T. rotundifolia</i> (rojo) en México.	18
Figure 1	Map of sampled populations of <i>Thitonia tubaeformis</i> × <i>T. rotundifolia</i> complex. The allopatric stand are represented by numbers 1, 2 (<i>T. tubaeformis</i>), 3 and 4 (<i>T. rotundifolia</i>). The mixed stands are represented by numbers, 5 = Huautla, 6 = Zacacoyuca, 7 = Teloloapan, 8 = Corral de Piedra and 9 = Cerro de Piedra.	53
Figure 2	Frequency distribution of individuals vs. the Anderson hybrid index derived from 46 morphological characters in two pure and five hybrid zones. The number of each plant evaluated is represented. The figure shows the cluster results of the pure or nearly pure parentals in four zones (index = 0 or 92), a cluster for probable F ₁ hybrids (index = 34.5–57.5), probable backcrosses towards <i>T. tubaeformis</i> (index = 23.0–28.8), and finally probable backcrosses toward <i>T. rotundifolia</i> (index = 63.3–69.0).	54
Figure 3	Principal component analysis for leaf morphology variation in <i>Tithonia tubaeformis</i> × <i>T. rotundifolia</i> complex (eight measured characters) in five hybrids zones in Mexico. See abbreviations in Table 1.	55
Figure 4	Principal component analysis for ligule morphology variation in <i>Tithonia tubaeformis</i> × <i>T. rotundifolia</i> complex (eight measured characters) in five hybrids zones in Mexico. See abbreviations in Table 1.	56
Figure 5	Principal component analysis for disk floret morphology variation in <i>Tithonia tubaeformis</i> × <i>T. rotundifolia</i> complex (four measured characters) in five hybrids zones in Mexico. See abbreviations in Table 1.	57
Figure 6	Principal component analysis for inflorescence morphology variation in <i>Tithonia tubaeformis</i> × <i>T. rotundifolia</i> complex (four measured characters) in five hybrids zones in Mexico. See abbreviations in Table 1.	58
Figure 7	Principal component analysis for phyllary morphology variation in <i>Tithonia tubaeformis</i> × <i>T. rotundifolia</i> complex (six measured characters) in five hybrids zones in Mexico. See abbreviations in Table 1.	59
Figure 8	Principal component analysis for palea morphology variation in <i>Tithonia tubaeformis</i> × <i>T. rotundifolia</i> complex (three measured characters) in five hybrids zones in Mexico. See abbreviations in Table 1.	60
Figure 9	Principal component analysis for achene morphology variation in <i>Tithonia tubaeformis</i> × <i>T. rotundifolia</i> complex (14 measured characters) in five hybrids zones in Mexico. See abbreviations in Table 1.	61

		Pág
Tabla 1	Estudios sobre hibridación natural en Asteraceae utilizando marcadores morfológicos.	17
Table 1	Locality name, state, geographic coordinates, altitude, and sample size for the collecting sites of <i>Tithonia tubaeformis</i> and <i>T. rotundifolia</i> in Mexico.	48
Table 2	List of the leaf, ligule, disk floret, inflorescence, phyllary, pale, and achene characters examined for the <i>Tithonia tubaeformis</i> x <i>T. rotundifolia</i> complex in Mexico.	49
Table 3	Mean \pm standard error and nested ANOVA results (<i>F</i> statistics) for all characters of <i>Tithonia tubaeformis</i> and <i>T. rotundifolia</i> in Mexico.	50
Table 4	Phenotypic characterization (%) procedure from the five hybrid zones of the <i>Tithonia tubaeformis</i> and <i>T. rotundifolia</i> complex in Mexico.	51
Table 5	Regression analyses between morphological and molecular markers (RAPD's) from the five hybrid zones of the <i>Tithonia tubaeformis</i> and <i>T. rotundifolia</i> complex in Mexico.	52
Appendices	Phenotypic characterization (Schwarzbach et al. 2001) of the five putative hybrid zones of the <i>Thitonia tubaeformis</i> and <i>T. rotundifolia</i> complex in Mexico (mean \pm S.D.). Abbreviations of characters are described in Table 2. Asterisk indicate significant differences among taxa (one way ANOVA test; *= P<0.05, **P= <0.01, ***= P<0.001, n.s.= no significant differences). Mean values with the same letter for each taxa did not differ at P<0.05 after a multiple comparison test (Tukey's test).	61

López-Caamal, A. 2011. Hibridación natural en el complejo *Tithonia tubaeformis* × *Tithonia rotundifolia* (Asteraceae) en México. Tesis de Maestría, Posgrado en Ciencias Biológicas, UNAM.

Resumen

La hibridación entre especies cercanamente relacionadas generalmente promueve la introgresión de alelos de una especie a otra. Este fenómeno genera frecuentemente patrones complejos de variación morfológica. Debido a esto, el estudio detallado del flujo génico interespecífico y de los patrones morfológicos que exhiben los híbridos es de gran interés. En este trabajo se analizó un complejo formado por dos especies nativas invasoras: *Tithonia tubaeformis* y *T. rotundifolia* mediante el uso de 46 caracteres morfológicos (foliares, florales y de fruto) en cinco zonas híbridas (N=150 individuos) y dos sitios puros para cada especie parental (N=80 individuos) en México. En general, *T. tubaeformis* difiere significativamente de *T. rotundifolia* en todos los caracteres excepto en seis caracteres foliares y un carácter de inflorescencia. Los caracteres morfológicos soportan la hipótesis de hibridación en este complejo. En general, los híbridos mostraron 24.8% de caracteres de tipo parental, 26.1% de caracteres intermedios y 37.8% de caracteres que exceden los valores de las especies parentales (transgresivos). Por lo tanto, los híbridos presentan un mosaico de caracteres de tipo parental, intermedios y transgresivos. Nuestros resultados sugieren que los individuos de las especies parentales son más similares entre sí que con los individuos híbridos. Los resultados sugieren que existe un patrón de flujo unidireccional hacia *T. rotundifolia*. Las especies invasoras con incipientes barreras reproductivas pueden afectar negativamente la estructura de la comunidad. Más aún, éstas pueden amenazar por asimilación genética a especies relacionadas de distribución restringida.

Abstract

Gene introgression frequently promotes natural hybridization among closely related species in sympatric populations. This phenomenon usually produces complex patterns of morphological variation. Therefore a detailed understanding of the dynamics of interspecific gene flow and its morphological patterns is of widespread interest. A sunflower species complex occurring in Mexico formed by two native invasive species, *Tithonia tubaeformis* and *T. rotundifolia*, was analyzed using 46 morphological characters (leaf, flower and fruit) in five hybrid zones (N=150 individuals) and two pure sites for each parental species (N=80 individuals) in Mexico. In general, *T. tubaeformis* differed significantly from *T. rotundifolia* in all the examined characters, except six foliar and one inflorescence character. Morphological characters support the hypothesis of hybridization in this complex, even though both species remain distinct in mixed stands. Hybrid phenotypes were morphologically parent-like for 24.8% traits, intermediate for 26.1% traits, and transgressive for 37.8% traits. Thus, individual hybrids appear to be a mosaic of parent-like, intermediate and transgressive phenotypes. Our results suggest that individuals from the same parental species were more similar among themselves than to putative hybrids, indicating occasional hybridization with segregation in hybrid types or backcrossing to parents. Evidence indicates a unidirectional pattern of gene flow towards *T. rotundifolia*. Therefore, invasive species with insipient reproductive barriers may affect negatively the community structure. Moreover, they may threaten the conservation status of closely related species through genetic assimilation.

I. Introducción

Hibridación natural

El fenómeno de hibridación natural se define como la cruce entre individuos de dos poblaciones o grupos de poblaciones que pueden diferenciarse en al menos un carácter heredable (Arnold, 1997). Este fenómeno ha sido estudiado formalmente desde mediados del siglo pasado con los trabajos de Heiser (1947), Anderson (1949), Stebbins (1959) entre otros. Desde su publicación, el papel de la hibridación en la evolución ha sido cuestionado y se ha vuelto un tema de debate en la comunidad científica. Por una parte, dentro del campo de estudio de la zoología, la hibridación es considerada como un evento de poca importancia evolutiva, que conduce a una reducción en los niveles de adecuación de las especies parentales (pero ver Dowling y Secor, 1997). Esta visión fue promovida por dos de los zoólogos más influyentes de su época, V. Grant y E. Mayr, al considerar que “la hibridación no juega un papel importante en la evolución animal, basado en una gran cantidad de evidencias que no deben descartarse a la ligera”. Por otro lado, en el campo de estudio de la botánica, se ha considerado que la hibridación natural es un fenómeno recurrente. Incluso algunos creacionistas como Linneaus reconocieron que la hibridación es capaz de originar nuevas especies vegetales (Rieseberg, 1997).

Actualmente, existe una gran cantidad de estudios acerca de hibridación natural en plantas, en los cuales ha sido posible encontrar casos en los que este fenómeno tiene efectos negativos (extinción de especies), como positivos (formación de nuevas especies) en cuanto a diversidad y riqueza. Sin embargo, es importante notar que la hibridación tiene una distribución heterogénea en las diferentes familias y géneros de plantas. Con el fin de determinar la frecuencia y distribución del fenómeno de hibridación, Whitney et al. (2010) estudiaron ocho floras regionales, incluyendo ~37,000 especies pertenecientes a 3,212 géneros y 282 familias de plantas vasculares. En general, se encontró que el 40.4% de las familias y el 16.2% de los géneros forman híbridos. Un resultado interesante es que las familias que forman híbridos en cierta región son más propensas a hacerlo en otras regiones, sugiriendo que la capacidad de formar híbridos depende en mayor medida de las características intrínsecas de la familia que a diferencias en las condiciones ambientales. Los autores concluyen que la hibridación en plantas es un fenómeno común, más no universal, ya que

la mayoría de los híbridos se encuentran concentrados en un reducido grupo de géneros (Ellstrand et al., 1996; Whitney et al., 2010).

A pesar de que se conoce que la hibridación es un fenómeno frecuente en plantas, sus consecuencias pueden ser varias y dependen en gran medida del ambiente y de la estructura genética de las especies participantes. En particular, se ha propuesto que la hibridación puede impactar los procesos evolutivos i) al incrementar la diversidad genética de las especies participantes (Anderson, 1949), ii) al llevar al reforzamiento de las barreras reproductivas entre las especies cuando la progenie híbrida presenta una baja adecuación o bien, al rompimiento de estas barreras si los híbridos presentan una mayor adecuación (Ellstrand y Elam, 1993; Levin y Francisco-Ortega, 1996). Asimismo, iii) la hibridación puede generar nuevas especies (Stebbins, 1959), y por último, iv) la hibridación puede llevar a la transferencia de alelos de una especie a otra al existir retrocruzas de los híbridos con las especies parentales (i.e. hibridación introgresiva).

a. Hibridación introgresiva

La hibridación introgresiva puede definirse como la incorporación permanente de genes de una especie a otra, debido a retrocruzas repetidas de los híbridos con las especies parentales (Harrison, 1993). La dinámica de la hibridación introgresiva es altamente variable, ya que depende del ambiente y de la historia de vida de las especies parentales. La introgresión se considera unidireccional (asimétrica) cuando las retrocruzas ocurren únicamente con individuos de una de las especies parentales o bien, bidireccional (simétrica) cuando las retrocruzas ocurren con individuos de ambas especies parentales (Arnold, 1997).

Las consecuencias de la hibridación introgresiva dependen en gran medida de la intensidad y la dirección con que se presente. En este sentido, la hibridación introgresiva puede plantear distintos escenarios con respecto a la identidad genética de las especies participantes. Estos escenarios son: i) la *extinción* de alguna de las especies (Rhymer y Simberloff, 1996), ii) el *aumento de la diversidad genética* (Caraway et al., 2001), iii) un proceso de *especiación* (Schwarzbach et al., 2001) y iv) *fusión* de especies (Judd et al., 2002). Las consecuencias que tiene la introgresión dependen de la dirección y la intensidad con la que se presente. Por ejemplo, si la introgresión es unidireccional hacia alguna de las especies parentales y el número de

retrocruzas es limitada, la introgresión puede dotar de nueva diversidad genética a la especie sobre la cual ocurren las retrocruzas (Anderson, 1949; Caraway et al., 2001). Por otro lado, si existe introgresión unidireccional y el número de retrocruzas es muy alto, la especie puede verse en peligro de extinción por asimilación genética (Rhymer y Simberloff, 1996; Levin y Francisco-Ortega, 1996). Por último, si la hibridación introgresiva se da hacia ambas especies parentales, puede llegar a ocurrir una fusión de las poblaciones, en el caso de que exista un rompimiento total de las barreras reproductivas (Judd et al., 2002).

Barreras reproductivas

En la naturaleza existen barreras reproductivas que impiden el flujo génico entre especies relacionadas. El establecimiento de estas barreras es un proceso gradual que se debe a la acumulación de cambios genéticos (Szymura y Barton, 1986), y se clasifican en precigóticas y postcigóticas (Futuyma, 1998). Las barreras precigóticas impiden la fusión de gametos (formación de cigotos híbridos), y dentro de éstas se encuentra el aislamiento de hábitat, temporal, etológico, mecánico y la incompatibilidad gamética.

En el caso de que algunos de los mecanismos antes mencionados no sea efectivo, y se llegue a formar un embrión híbrido, las barreras postcigóticas pueden llegar a disminuir la tasa de sobrevivencia del cigoto híbrido así como su capacidad reproductiva. Esto ocurre principalmente mediante la inviabilidad del híbrido. Es decir, el híbrido puede morir en etapas embrionarias tempranas debido a diferencias genéticas de los padres en el embrión, lo que lleva a una combinación de genes mal adaptada y por lo tanto a la muerte del híbrido (Judd et al., 2002). Por su parte, si el embrión logra desarrollarse hasta la edad adulta, su adecuación puede verse afectada por esterilidad. En este caso, los gametos que produzca el híbrido no serán funcionales debido a diferencias estructurales entre los cromosomas que evitan una correcta segregación durante la meiosis (Mooring, 2001).

Sin embargo, resulta paradójico que a pesar de que existan una gran cantidad de barreras en contra de cruzas interespecíficas, la incidencia de individuos híbridos en condiciones naturales es alta. Lo anterior puede abordarse desde tres distintos puntos de vista, i) si las cruzas se realizan

entre especies cercanamente relacionadas, es probable que los eventos de hibridación se presenten con mayor frecuencia, ya que es posible que las barreras reproductivas no estén aún bien delimitadas debido a que la divergencia de las especies es relativamente reciente (Edmands, 2000). En contraste, ii) pueden existir altas tasas de hibridación aún en especies en las que el tiempo de divergencia no es reciente. Esto ocurre solo en el caso de que la hibridación dote de nueva variación genética que sea positiva en términos de adecuación para las especies. Entonces, habría una selección en contra de fuertes barreras reproductivas y por lo tanto altas tasas de hibridación. Por último, iii) la alteración del ambiente puede facilitar la formación de zonas híbridas, ya que se ha observado que la inferioridad híbrida suele ser dependiente del ambiente. Esto debido a que en general, los híbridos parecen tener una mayor adecuación que los individuos de las especies parentales en ambientes alterados (Harrison, 1993).

Zonas híbridas

Una zona híbrida ocurre en donde dos poblaciones genéticamente distintas se encuentran, cruzan y producen híbridos fértiles o parcialmente fértiles (Barton y Hewitt, 1985). Las zonas híbridas frecuentemente ocurren en ambientes que presentan algún disturbio, ya sea por causas naturales (huracanes, actividad volcánica, entre otras) o bien, por disturbios derivados de las actividades humanas (agricultura, tala, incendios, ganadería). En especies vegetales, es frecuente encontrar que el aislamiento geográfico y/o de hábitat es una barrera frecuente a la hibridación entre especies cercanamente relacionadas (Arnold, 1997). Sin embargo, como resultado de los disturbios por causas humanas, esta barrera reproductiva puede romperse. En este sentido, dichas actividades pueden reducir el aislamiento ecológico al crear nuevos ambientes en los cuales ambas especies pueden establecerse (ej. Riley [1938]), llevando a lo que Anderson (1949) denominó “hibridación del hábitat”. En este caso, cuando las dos especies entran en contacto, pueden generar individuos híbridos siempre y cuando no existan barreras genéticas (sistemas de incompatibilidad). Asimismo, los disturbios (naturales o antropogénicos) pueden facilitar la germinación de semillas híbridas, la cual no se daría en hábitats en ausencia de este disturbio (Riley, 1938). En la literatura existen muchos casos en los que se ha reportado una alta incidencia de individuos híbridos en ambientes con algún tipo de disturbio (ej. *Cercocarpus* [Rieseberg et al., 1998], *Argyranthemum* [Brochmann et al., 2001], *Quercus* [Tovar-Sánchez y Oyama, 2004], *Psidium* [López-Caamal, 2009]).

En las últimas décadas se han generado una serie de modelos que predicen la variación en las zonas híbridas tomando en cuenta factores como la selección natural y la dispersión. Los marcos conceptuales que existen se pueden dividir en aquellos dependientes del ambiente y los independientes del ambiente. Los modelos *independientes del ambiente* asumen que los híbridos tienen una menor adecuación que los individuos de las especies parentales en cualquier ambiente (Arnold, 1997). Esto se atribuye a las diferencias en la estructura y el número cromosómico de las especies parentales, lo cual conduce a una combinación de genes mal adaptada en los híbridos (selección endógena). Dentro de esta categoría podemos encontrar al Modelo de Zona de Tensión (Barton y Hewitt, 1985), que supone que las zonas híbridas se comportan como clinas que se mantienen debido a un balance entre la dispersión de los individuos de las especies parentales hacia la región de solapamiento y la selección endógena en contra de los híbridos (Barton y Hewitt, 1985). De manera similar, el Modelo de Reforzamiento (Howard, 1993) supone, al igual que el modelo de tensión, que los híbridos presentan una menor adecuación que las especies parentales. Sin embargo, se propone que debido a la baja adecuación de los híbridos, la selección favorecerá las cruces conespecíficas, de manera que se incrementarían las barreras reproductivas entre especies (Howard, 1993)

Por otro lado, los modelos *dependientes del ambiente* suponen que la interacción de los híbridos con el ambiente en el que se desarrollan (selección exógena) son los principales factores que determinan los patrones de variación dentro de la zona híbrida (Arnold, 1997). Dentro de esta categoría se encuentra el Modelo de Superioridad Híbrida (Moore, 1997). Este modelo sugiere que los híbridos pueden presentar una mayor adecuación en ambientes distintos a los de las especies parentales. El modelo sugiere que a medida que los disturbios que provocan la formación de ambientes distintos a los de las especies parentales son eliminados, los híbridos serán reemplazados por individuos puros de las especies involucradas (Moore, 1977). Por otra parte, el Modelo de Mosaico (Harrison, 1986) propone que las zonas híbridas están formadas por parches de las poblaciones de especies puras y mezcladas, que no exhiben una distribución continua a lo largo de su distribución. La distribución de las especies parentales refleja una distribución de hábitats y recursos en forma de parches (Harrison, 1986).

Identificación y expresión de caracteres de individuos híbridos

Históricamente, los caracteres morfológicos intermedios son empleados como la primera evidencia de hibridación en numerosos estudios (Anderson, 1949; Rieseberg et al., 1989; Randell et al., 2004; Shiga y Kadono, 2007). Sin embargo, la presencia de individuos con caracteres morfológicos intermedios entre dos especies no denota necesariamente un fenómeno de hibridación. Dobzhansky (1941) reconoció que un patrón morfológicamente intermedio puede aparecer si una especie ancestral persiste después de originar a otras especies. Si la especie ancestral presenta caracteres morfológicos intermedios entre éstas, puede haber una interpretación errónea de hibridación (retención de caracteres plesiomórficos). Asimismo, la variación que exhiba una especie al ser sometida a distintas presiones ambientales, puede dar como resultado que la especie presente caracteres morfológicos intermedios con respecto a otra especie, presentándose entonces una convergencia ecológica (Holman et al., 2003). El último proceso que podría llevar a una interpretación errónea de hibridación, ocurre cuando en un linaje existe una tendencia evolutiva. Por ejemplo, si en cierto linaje de plantas existe una tendencia hacia el aumento en el tamaño de las estructuras florales, el taxón que se encuentre en un paso evolutivo intermedio exhibirá una morfología entre dos especies dentro del mismo linaje (Judd et al., 2002).

Por otro lado, existe una gran cantidad de casos en los que los individuos híbridos no presentan caracteres morfológicos intermedios con respecto a las especies que les dieron origen. En contraste, los híbridos pueden presentar caracteres extremos o transgresivos que pueden exceder positiva o negativamente los valores de los caracteres en las especies parentales. Para conocer la frecuencia de la transgresión, Rieseberg y Ellstrand (1993) analizaron datos de un gran número de estudios sobre hibridación natural y artificial en plantas. En general, se encontró que el 10% de los caracteres medidos en los híbridos de primera generación (F1) fueron transgresivos, mientras que un 45% correspondió a caracteres intermedios y un 45% a caracteres de tipo parental. Por otro lado, los híbridos de generaciones avanzadas (F2, retrocruzas) mostraron un 31% de caracteres transgresivos. Asimismo, los autores determinaron que 64% de los híbridos F1 y 89% de los híbridos de generación avanzada presentaron al menos un carácter transgresivo.

Debido a los problemas que presentan los caracteres fenotípicos en la identificación de individuos híbridos, en las últimas décadas se ha enfatizado el uso de marcadores moleculares

neutros (polimorfismos de ADN amplificados al azar [RAPD], secuencias simples repetidas [SSR], polimorfismos de longitud de fragmentos de restricción [RFLP], polimorfismos de longitud de fragmentos amplificados [AFLP], polimorfismos de un solo nucleótido [SNP], entre otros). Debido a que estos caracteres no están sujetos a selección natural y debido a que se heredan de forma mendeliana (i.e., aditiva), la identificación de individuos híbridos es relativamente sencilla. Sin embargo, es importante mencionar que la determinación del fenotipo de los híbridos resulta de gran importancia, ya que es sobre esta variación sobre la que actúa la selección natural y no sobre los marcadores genéticos neutros. Además resulta importante estudiar el fenotipo de los individuos híbridos debido a la creciente detección de caracteres transgresivos en éstos, ya que se ha propuesto que estos pueden facilitar la colonización de ambientes diferentes a los de las especies parentales (Rieseberg y Ellstrand, 1993; Rieseberg et al., 1999).

Especies invasoras e hibridación introgresiva

Las especies invasoras se definen como aquellas especies exóticas que tienen un impacto negativo sobre la biodiversidad nativa o bien, que afectan negativamente algunas actividades económicas (Colautti y MacIsaac, 2004). Debido a esto, las especies invasoras han sido objeto de estudio de ecólogos y biólogos evolutivos. Sin embargo la definición mencionada de especies invasoras ha sido cuestionada recientemente (Valéry et al., 2008). Esto debido a la ambigüedad de los criterios que se utilizan para su definición (el *criterio geográfico* y el *criterio de impacto*). En primer lugar, al considerar solamente a las especies exóticas como potencialmente invasoras, se excluye automáticamente de esta categoría a aquellas especies nativas que dominan la comunidad en una sucesión local (Richardson et al., 2000). De hecho, algunos autores que descalifican a las especies nativas como invasoras (ej., Pysek y Richardson, 2006), reconocen que la similitud funcional entre las especies nativas que dominan durante una sucesión local y las especies exóticas invasoras es muy alta. Lo anterior revela la existencia de un mecanismo en común en ambas situaciones (i.e. presentan el mismo mecanismo ecológico [Valéry et al., 2008]). Debido a esto, Valéry et al. (2008) consideran que el *criterio geográfico* (exótico vs. nativo) no debe de tomarse en para definir al proceso de invasión. Por otro lado, el *criterio de impacto* resulta problemático, ya que muchos autores plantean que para que una especie sea considerada invasora, ésta debe tener un impacto mayor sobre los ecosistemas a los que se incorpora (Inderjit, 2005). Sin embargo, es difícil delimitar un límite para definir al impacto de una especie invasora como “mayor” y más aún para definir a este término. Debido a estas dificultades para definir a las especies invasoras,

Valery et al. (2008) ofrecen una definición mecanicista de especie invasora, la cual no incorpora los criterios geográficos ni de impacto. Una especie invasora se define como la aquella que adquiere una ventaja competitiva seguida de la desaparición de obstáculos naturales para su proliferación, lo cual permite su rápida propagación colonizando nuevas áreas y volviéndose una población dominante (Valery et al. 2008).

Generalmente, las especies invasoras exóticas/nativas son vistas como plagas o malezas, pues pueden afectar al hombre en su salud, a las vías de transporte y la conservación de la biodiversidad (Pimentel et al., 2000). Asimismo, las especies invasoras pueden afectar considerablemente la estructura de las comunidades y el funcionamiento de los ecosistemas. De hecho, las especies invasoras son consideradas como la segunda causa de pérdida de biodiversidad a nivel mundial (Vitousek et al., 1997).

Sin embargo, resulta interesante notar que el número de especies invasoras es relativamente bajo en comparación con el número de especies que han sido introducidas a diferentes regiones (Williamson y Fitter, 1996). Esta observación sugiere que existen procesos posteriores a la introducción de la especie que favorecen la invasión. Recientemente, se ha propuesto que la hibridación interespecífica o intraespecífica puede promover la invasión (Ellstrand y Schierenbeck, 2000; Schierenbeck y Ellstrand, 2009). Los mecanismos por los cuales la hibridación puede promover la invasión son: i) *La creación de novedad evolutiva*. A pesar de que la hibridación da como resultado una gran cantidad de genotipos con una baja adecuación, una pequeña fracción de éstos puede mostrar mayor adecuación que ambas especies parentales, facilitando la invasión por parte de los híbridos. Una forma en la que se puede dar esta novedad evolutiva es mediante la aparición de caracteres transgresivos; ii) *Incrementando la variación genética*. El incremento de la variación genética vía hibridación introgresiva puede dotar a las poblaciones de nuevas características que faciliten la expansión de su área de distribución y participar así en la invasión; iii) *Generación de mecanismos genéticos/reproductivos que estabilizan a los híbridos*. El desarrollo de algunos mecanismos como la agamospermia y el crecimiento clonal pueden favorecer el establecimiento y proliferación de individuos híbridos; por último, la hibridación puede favorecer la invasión al iv) *Reducir la carga genética*. Las especies con un bajo tamaño poblacional pueden acumular mutaciones deletéreas que disminuyen la

adecuación promedio de la población. Si dos poblaciones de una especie con estas características forman híbridos, la recombinación genética puede reducir la carga genética. De esta manera, se crearían genotipos con mayor adecuación y por lo tanto podrían participar en la invasión biológica (Schierenbeck y Ellstrand, 2009).

II. Sistema de estudio

La familia Asteraceae

La familia Asteraceae es uno de los grupos más diversos entre las angiospermas, el cual se considera como uno de los principales componentes de la flora a nivel mundial, incluyendo especies anuales, perennes, herbáceas o leñosas (Judd et al., 2002). En México, la familia está representada por alrededor de 3,000 especies agrupadas en 340 géneros, de los cuales 63.4% son endémicas a este país (Villaseñor, 1993). Debido a lo anterior, México ha sido considerado como un centro de diversificación de la familia Asteraceae (Villaseñor, 1993). La amplia distribución geográfica que presenta esta familia ha sido atribuida a una serie de caracteres que permiten una rápida expansión en particular en sitios que presentan algún disturbio. Por ejemplo, Mani y Saravanan (1999) sugieren que el amplio intervalo de distribución que pueden tener las Asteraceae puede deberse a que poseen una gran capacidad reproductiva y a eficientes procesos de polinización y de dispersión de semillas. En este sentido, debido al incremento en el tráfico de especies, muchos de los integrantes de esta familia se han convertido en especies invasoras en México, Sudamérica, África y Asia (Aparicio et al., 2003; Muoghalu y Chuba, 2005).

A pesar de que los amplios intervalos de distribución de la familia Asteraceae han sido atribuidos a su alta capacidad reproductiva, los estudios sobre la biología reproductiva de las Asteraceae son escasos. Lo anterior es atribuido a la dificultad que representa el manejo de sus estructuras reproductoras, que por lo general son pequeñas en comparación otras familias (Torres y Galetto, 2008). Sin embargo, existen algunos estudios de los cuales se pueden inferir algunos patrones. Por ejemplo, Torres y Galetto (2008), al estudiar la biología reproductiva de 30 especies simpátridas de Asteraceae, encontraron que los principales órdenes que llevan a cabo la polinización en esta familia son Hymenoptera, Diptera, Lepidoptera y Coleoptera. Asimismo,

encontraron que *Apis mellifera* tuvo el mayor número de visitas (26%). En general, se considera que la familia Asteraceae presenta una incompatibilidad esporofítica (Lafuma y Maurice, 2007). Sin embargo, Torres y Galetto (2008) encontraron que el 50% de las especies que estudiaron mostraban auto-compatibilidad. Asimismo, Ferrer et al. (2004) encontraron que las especies anuales de Asteraceae frecuentemente presentan auto-compatibilidad.

Hibridación introgresiva en la familia Asteraceae

En la literatura científica, los reportes sobre hibridación en la familia Asteraceae son numerosos. Por ejemplo Ellstrand et al., (1996) al analizar la frecuencia de hibridación a nivel familia en cinco floras estudiadas, encontraron que la familia Asteraceae era una de las mejor representadas. La alta frecuencia de hibridación en la familia refleja las incipientes barreras de flujo génico entre especies, generando complejos patrones de variación morfológica y genética intra e interespecífica.

De acuerdo con una revisión realizada para este trabajo, de 63 estudios revisados sobre hibridación en especies de la familia Asteraceae, 28.57% empleó únicamente caracteres morfológicos en la detección de hibridación, mientras que 38.1% emplea únicamente marcadores moleculares y por último, los estudios que emplean tanto marcadores morfológicos y moleculares representan un 33.33%. Cabe mencionar que la mayor cantidad de estudios en los que se utilizan solamente caracteres morfológicos, son los primeros estudios que se encuentran entre 1950 y 1980. Posteriormente, con la invención de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), se emplearon casi exclusivamente marcadores moleculares en la detección de hibridación. Sin embargo, en los últimos años se han utilizado tanto caracteres morfológicos como moleculares en la detección de hibridación, y se ha encontrado que los caracteres morfológicos soportan en general la hipótesis de hibridación derivada de los marcadores moleculares.

Por su parte, se revisaron 10 trabajos en los que se reportaba hibridación en la familia Asteraceae en los que se utilizaban únicamente marcadores morfológicos o una combinación de caracteres morfológicos y moleculares (Tabla 1). De éstos, se puede observar que el 100% de los trabajos utilizan caracteres morfológicos foliares, mientras que solamente el 20% de los trabajos

utilizan todas las estructuras. Por último, el trabajo con el mayor número de caracteres examinados es el de Schwarzbach et al. (2001) en el que se evalúan un total de 41 caracteres morfológicos.

El género *Tithonia*: Descripción e historia de vida de *Tithonia tubaeformis* y *T. rotundifolia*

Dentro de la familia Asteraceae, el género *Tithonia* Desf. ex Jussieu es uno de los más representativos debido a su amplia distribución geográfica. De acuerdo con La Duke (1982) este género contiene 11 especies nativas de México y Centroamérica con un número cromosómico de $n=17$, el cual se encuentra cercanamente relacionado con los géneros *Viguiera* y *Helianthus* (La Duke, 1982). El género contiene especies perennes y anuales, las cuales se encuentran agrupadas en las secciones *Mirasolia* y *Tithonia* respectivamente (La Duke, 1982). Los integrantes del género *Tithonia* son considerados malezas arvenses y ruderales que presentan ciclos de vida cortos (Espinosa-García y Sarukhán, 1997). Como sucede con la mayoría de los integrantes de la familia Asteraceae, el género *Tithonia* presenta una polinización vía insectos, siendo el polinizador con mayor número de visitas *Apis mellifera* (Lane, 1996). Por otro lado, la dispersión de las semillas se da principalmente por gravedad, y no exhiben un crecimiento clonal (Castillo et al., 2007). Sin embargo, las actividades humanas, como las prácticas agrícolas, favorecen el transporte de semillas a otros ambientes, favoreciendo el establecimiento de estas especies (Larenas et al., 2004).

Algunas especies anuales de este género, como *T. tubaeformis* y *T. rotundifolia* han sido introducidas en otras regiones con fines ornamentales y medicinales (Ríos, 1993, Larenas 2002; Zavala et al., 2003; Muoghalu y Chuba, 2005; Alcorcés et al., 2007), exhibiendo con el tiempo un comportamiento altamente invasivo. Por ejemplo, se ha llegado a declarar a *T. tubaeformis* como una plaga nacional en Argentina (Larenas, 2002). En México, estas especies dominan los sitios con algún tipo de disturbio (orillas de camino y tierras de cultivo). Debido a que estas especies son consideradas como elementos tempranos en sucesiones locales (Castillo et al., 2007), tienden a dominar dichos ambientes, los cuales son favorecidos y perpetuados por las actividades humanas (agricultura y construcción de caminos). Por lo tanto, consideramos que estas especies caen dentro de la definición de especie invasora propuesta por Valéry et al. (2008), ya que al favorecerse las condiciones para su proliferación, estas pueden aumentar en número e invadir nuevas áreas.

Tabla 1. Estudios sobre hibridación natural en Asteraceae utilizando marcadores morfológicos.

Género	Número de caracteres empleados por estructura							Autor y año	Conclusiones
	Hojas	Frutos	Inflorescencia	Vegetativos*	Flores	Lígulas	Total		
<i>Helianthus</i>	5	3	6	4	1	3	22	Heiser, 1947	Con análisis estadísticos poco rigurosos, se describen individuos intermedios solo en algunos caracteres.
<i>Helianthus</i>	1	-	2	-	1	1	5	Stebbins y Daly, 1961	Se describen individuos intermedios, así como híbridos similares a las especies parentales.
<i>Argyranthemum</i>	6	-	-	-	-	3	9	Brochmann et al., 2000	Los híbridos F1 y F2 muestran un claro patrón de morfología intermedia entre las especies parentales
<i>Helianthus</i>	1	-	6	2	2	1	12	Carney et al., 2000	Los individuos híbridos presentan fenotipos intermedios y similares a una especie parental
<i>Helianthus</i>	12	7	9	9	-	4	41	Schwarzbach et al., 2001	La especie híbrida <i>H. anomalus</i> presenta 41.5% de caracteres transgresivos con respecto a sus especies parentales
<i>Helianthus</i>	2	-	-	-	-	-	2	Lexer et al., 2003	Los híbridos estudiados presentan caracteres transgresivos
<i>Scalesia</i>	10	-	-	-	-	-	10	Rostgaard et al., 2003	Los híbridos putativos mostraron una morfología intermedia en el 80% de los caracteres medidos
<i>Borrchia</i>	4	-	4	-	-	-	8	Catell y Clark, 2004	Los caracteres foliares fueron transgresivos negativos en los híbridos putativos. Los demás caracteres resultaron intermedios
<i>Helianthus</i>	3	1	3	4	1	1	13	Nikolova et al., 2004	Tres caracteres medidos exhibieron transgresión

* Indica caracteres relacionados con el tallo o crecimiento longitudinal

Tithonia tubaeformis (Jacq.) Cass y *Tithonia rotundifolia* (Mill.) S. F. Blake son plantas herbáceas anuales con un hábito ruderal y arvense que presentan un amplio rango de distribución en México (Figura 1) y Centroamérica. *T. tubaeformis* puede alcanzar los 3 m de altura, presentando tallos redondos altamente pubescentes. Presenta cabezuelas usualmente solitarias con dos o tres series de filarias lineares altamente pubescentes. Las corolas de las flores de la periferia son amarillas y trífidas en el ápice. Presenta hojas alternas enteras con un margen crenado o serrado. Los aquenios son largos de color negro o café. El vilano se encuentra fusionado y presenta dos aristas desiguales y gruesas, aunque a veces pueden faltar. *Tithonia tubaeformis* crece principalmente en terrenos de cultivo activos o abandonados entre los 1000 y 2400 m s.n.m. presentando una gran variabilidad morfológica. Su período de floración es entre los meses de agosto y noviembre (La Duke, 1982).

Por su parte, *T. rotundifolia* es una hierba de hasta 4 m de alto con tallos redondos de glabros a ligeramente pubescentes. Las inflorescencias se encuentran solitarias con dos a tres series de filarias lanceoladas ligeramente pubescentes. Las corolas de las flores liguladas son de color anaranjado y trífidas en el ápice. Presenta hojas alternas enteras, y hojas 3 – 5 lobadas con un margen crenado o serrado. Los aquenios son pubescentes de color negro o café, de 2 - 3 cm. Al igual que en *T. tubaeformis*, el vilano se encuentra fusionado presentando aristas de 6 - 9 mm de longitud. *Tithonia rotundifolia* crece principalmente a la orilla de carreteras y en terrenos de cultivo asociados a bosques tropicales hasta los 1000 m s.n.m. Su período de floración se da entre noviembre y junio (La Duke, 1982).

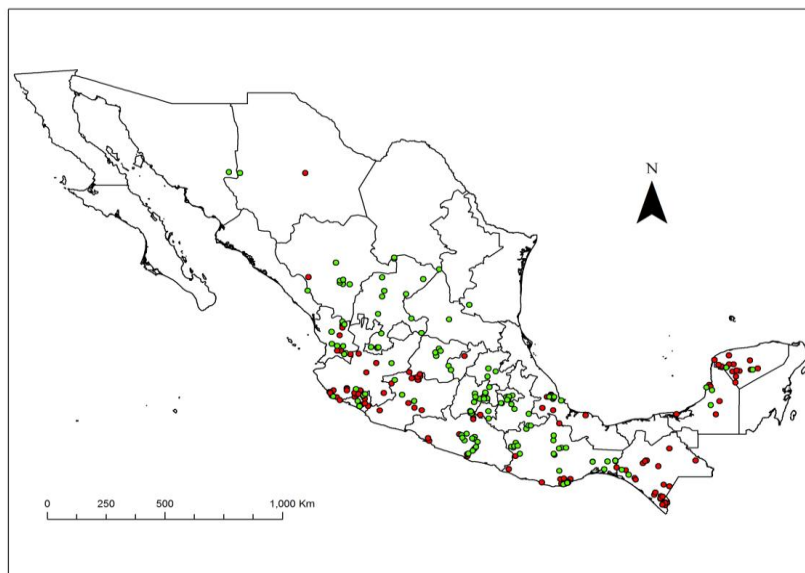


Figura 1. Sitios de colecta registrados en el herbario MEXU de *Tithonia tubaeformis* (verde) y *T. rotundifolia* (rojo) en México.

a. *Hibridación en el complejo Tithonia tubaeformis × Tithonia rotundifolia*

En el género *Tithonia* los reportes de hibridación son escasos e involucran solamente a las especies *T. tubaeformis* y *T. rotundifolia*. Sin embargo, Reyes-Valdés et al. (2005) realizaron cruzas controladas entre *T. rotundifolia* y *Helianthus annuus*, mostrando la cercanía que existe entre ambos géneros. Por su parte, La Duke (1982) determinó mediante la evaluación de viabilidad de polen la existencia de hibridación entre las especies *T. rotundifolia* y *T. tubaeformis*. No obstante, debido a que el polen de los híbridos putativos mostraban una menor viabilidad (23%) con respecto al polen de las especies parentales (~99%), La Duke considera que las cruzas se encuentran limitadas a híbridos F1, ya que supone que éstos exhiben esterilidad.

Sin embargo, Rodríguez-Carmona (2010) mediante marcadores moleculares (RAPD), realizó un análisis de cuatro localidades simpátridas/mixtas y dos poblaciones y alopátridas de *T. rotundifolia* y *T. tubaeformis* en México. En todas las localidades encontró híbridos F1 e introgresión unidireccional y bidireccional dependiendo de la zona simpátrida/mixta. Además, se documenta que 84% de los individuos que registraron retrocruzas lo hicieron hacia *T. rotundifolia*. Por su parte, Aguilar-Mendiola (2010) analizó la estructura genética de las mismas localidades mediante el uso de RAPD. En las zonas de contacto entre *T. rotundifolia* y *T. tubaeformis*, la diversidad genética mostró un incremento considerable ($H_s=0.387$) en comparación con las poblaciones de las especies parentales ($H_s=0.167$), soportando la hipótesis de hibridación entra ambas especies. A pesar de que estos estudios determinan que la hibridación entre *T. tubaeformis* y *T. rotundifolia* ocurre en condiciones naturales, no es menos importante conocer el fenotipo que muestran los híbridos, ya que es sobre esta variación sobre la que actúa la selección natural y no sobre las características genotípicas neutras de los individuos. Además, la evidencia actual que existe sobre la segregación de caracteres transgresivos en los híbridos le da una mayor importancia al estudio de los caracteres fenotípicos de los híbridos.

Es importante señalar que en un sentido estricto, el término *complejo* ha sido empleado para referirse a un grupo de especies cercanamente relacionadas cuyos límites morfológicos no están bien definidos, dificultando su clasificación (ej. Muñoz y Devesa,

2010). Sin embargo, en el presente trabajo se emplea el término complejo para referirse a las poblaciones mixtas de *T. tubaeformis* y *T. rotundifolia* en las cuales, es difícil asignar a los individuos como pertenecientes a alguna de las dos especies debido a la presencia de individuos morfológicamente atípicos.

III. Justificación, Objetivos e Hipótesis

A pesar de que se ha caracterizado el fenómeno de hibridación introgresiva entre *Tithonia tubaeformis* y *Tithonia rotundifolia* mediante el uso de marcadores moleculares, no se han realizado estudios que caractericen morfológicamente los individuos asociados a las zonas híbridas del complejo *T. tubaeformis* × *T. rotundifolia*. Además, en México son escasos los estudios que han abordado el fenómeno de hibridación analizando diversas zonas híbridas y empleando caracteres morfológicos foliares, florales y de fruto.

Por lo tanto, planteamos el siguiente **objetivo general**:

- Caracterizar con marcadores morfológico foliares, florales y de fruto la hibridación natural en el complejo *Tithonia rotundifolia* × *Tithonia tubaeformis* en México, para obtener patrones sobre los niveles de hibridación e introgresión en relación con la distribución geográfica de las zonas híbridas.

Se pretende contestar los siguientes **objetivos particulares**:

- Determinar los caracteres morfológicos (foliares, florales y de fruto) que permiten la diferenciación entre *Tithonia rotundifolia* y *Tithonia tubaeformis*.
- Evaluar la importancia de cada uno de los caracteres morfológicos (foliares, florales y frutales) en la explicación del fenómeno de hibridación en el complejo *Tithonia rotundifolia* × *Tithonia tubaeformis*.
- Caracterizar el fenotipo (intermedio, de tipo parental, transgresivo) de los individuos asociados a zonas híbridas del complejo *Tithonia rotundifolia* × *Tithonia tubaeformis*.

Asimismo, se planteó la siguiente **hipótesis**:

- Si *Tithonia rotundifolia* se distribuye preferentemente en ambientes xéricos y *T. tubaeformis* en ambientes másicos, entonces, se espera que los individuos híbridos mientras más cercanos se encuentren a un ambiente xérico tendrá una mayor similitud morfológica con *T. rotundifolia* y viceversa.

**IV. Artículo: “Revealing introgressive hybridization between two
invasive sunflowers species: *Tithonia tubaeformis* and *T.*
rotundifolia complex”**

**REVEALING INTROGRESSIVE HYBRIDIZATION BETWEEN TWO INVASIVE
SUNFLOWERS SPECIES: *TITHONIA TUBAEFORMIS* AND *T. ROTUNDIFOLIA*
(ASTERACEAE) COMPLEX**

Alfredo López-Caamal¹, Patricia Mussali-Galante^{2,5}, Leticia Valencia-Cuevas², Jaime Jiménez-Ramírez³, Karla Vega-Flores⁴ and Efraín Tovar-Sánchez^{2,6}

¹Posgrado en Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Autónoma de México, Apartado Postal 70-181, Delegación Coyoacán 04510, México, DF.

²Departamento de Sistemática y Evolución, Centro de Investigación en Biodiversidad y Conservación, Universidad Autónoma del Estado de Morelos, Av. Universidad 1001, Col. Chamilpa, Cuernavaca, Morelos, CP 62209, México.

³Departamento de Biología Comparada, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, Apartado Postal 70-181, Delegación Coyoacán 04510, México, DF.

⁴Herbario y Jardín Botánico, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Edificio 76, Ciudad Universitaria, Av. San Claudio s/n, Col. San Manuel 72590, Puebla, México.

⁵ Departamento de Medicina Genómica y Toxicología Ambiental, Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F. C.P. 04510

Manuscript received _____; revision accepted _____.

¹ The authors thank M. Mora Jarvio, F. Rodríguez Carmona, V. Aguilar Mendiola, E.A. Martí Flores, L. Beltrán, P. Arellano Vignettes, T. Cervantes Ramírez, C. Martínez Becerril, E. Castillo Mendoza and L.V. Jasso-Escutia for technical assistance. This research was supported by grants from CONACYT- Mexico (61725) to E. T. S., and a CONACYT scholarship to A.L.C. We also thank the Posgrado en Ciencias Biológicas (Universidad Nacional Autónoma de México).

⁶ Author for correspondence: (e-mail: efrain_tovar@uaem.mx)

ABSTRACT

Gene introgression frequently promotes natural hybridization among closely related species in sympatric populations. This phenomenon usually produces complex patterns of morphological variation. Therefore, a detailed understanding of the dynamics of interspecific gene flow and its morphological patterns is of widespread interest. A sunflower species complex occurring in Mexico formed by two native invasive species, *Tithonia tubaeformis* and *T. rotundifolia*, was analyzed using 46 morphological characters (leaf, flower and fruit) in five hybrid zones (N=150 individuals) and two pure sites for each parental species (N=80 individuals). In general, *T. tubaeformis* differed significantly from *T. rotundifolia* in all the examined characters, except six foliar and one inflorescence character. Morphological characters support the hypothesis of hybridization in this complex, even though both species remain distinct in mixed stands. Hybrid phenotypes were morphologically parent-like for 24.8% traits, intermediate for 26.1% traits, and transgressive for 37.8% traits. Thus, individual hybrids appear to be a mosaic of parent-like, intermediate and transgressive phenotypes. Our results suggest that individuals from the same parental species were more similar among themselves than to putative hybrids, indicating occasional hybridization with segregation in hybrid types or backcrossing to parents. Hybrid index results suggest a unidirectional pattern of gene flow towards *T. rotundifolia*. Therefore, invasive species with incipient reproductive barriers may affect negatively the community structure. Moreover, they may threaten the conservation status of closely related species through genetic assimilation.

Key words: introgressive hybridization; morphological traits; native invasive species; *Tithonia*; transgressive character.

INTRODUCTION

Introgressive hybridization is a frequent phenomenon among plants (Whitney et al., 2010), which is considered an important evolutionary force since it may drive to the creation of new species and/or to an increase of the intraspecific genetic diversity (Anderson, 1949; Rieseberg and Carney, 1998). In contrast with its creative role in plant evolution, hybridization can lead to the extinction of rare species through genetic assimilation (Rhymer and Simberloff, 1996; Levin and Francisco-Ortega, 1996) or by introducing genetic impurities and thereby reducing perceived conservation value (e.g., Soltis and Gitzendanner, 1999; Levin, 2000). Consequently, hybridization frequently produces complex patterns of morphological variation, which may confound taxonomic identity (Arnold, 1997), and may necessitate an exploration of the degree and potential threats of hybridization. Because of this, introgressive hybridization has become an interesting topic in evolutionary, conservation and systematic biology.

Hybrid zones form in areas where individuals from genetically differentiated populations meet, mate and produce offspring of mixed ancestry (Harrison, 1990; Arnold, 1997). Morphological intermediacy is the most important indication of hybrid origin, but parental and transgressive characters can also appear (Rieseberg and Ellstrand, 1993; Rieseberg and Carney, 1998). Therefore, it is well recognized that character expression in hybrids is complex and unpredictable. Moreover, intermediacy can be observed in species of non-hybrid origins (Wilson, 1992). Thus, morphological characters alone are of limited value in detecting hybridization, and additional data are needed to prove hybrid origin. In the past decades, hybrid zone recognition has been carried out mainly with DNA markers (Karl and Avise, 1992; Elena-Rosello et al., 1992; Daehler and Strong, 1997; Hardig et al., 2000; Tovar-Sánchez and Oyama, 2004). However, the morphological characterization of

hybrids is important, because natural selection acts primarily on the phenotype rather than on the genotype. In fact, several studies suggest that hybrids show extreme morphological characters that exceed positively or negatively the characters of the parental species (transgressive characters; deVicente and Tanksley, 1993; Rieseberg and Ellstrand, 1993). Rieseberg et al. (1999) estimated the frequency of transgressive character expression. They found that 155 out of 171 studies report at least one transgressive character, while 44% of the 1,229 characters examined showed extreme values in comparison with the parental species. These transgressive characters result important, because they may enable hybrids to colonize environments novel or extreme to either parental species (Schwarzbach et al., 2001; Lexer et al., 2003).

Hybridization and hybrid zones are common among Asteraceae species. Registries include the *Argyranthemum*, *Dubautia*, *Helianthus*, *Senecio*, among other genus (Heiser, 1947, 1951; Freeman et al., 1991; Brochman et al., 2000; Caraway et al., 2001; Rieseberg et al., 2003; Cattell and Karl, 2004; Trewick et al., 2004; Jörgensen and Mauricio, 2005; Mráz et al., 2005; Zelaya et al., 2007). However, despite the perception that hybrid zones are well documented among Asteraceae species, few comparative analysis of hybrid zones have used leaf, fruit and flower morphological characters (Schwarzbach et al., 2001; Rieseberg et al., 2003). In most of these studies, the detection of hybrid zones is based on inflorescence and leaf characters (Heiser, 1947, 1951; Brochmann et al., 2000; Carney et al., 2000; Nikolova et al., 2004).

Mexico is considered one of the centers of diversification of the Asteraceae family, including 387 genera from which 67 are endemic (Villaseñor, 1993). Although the genus *Tithonia* (sunflower) is almost endemic to Mexico because it contains 10 out of 11 species, there are scarce studies on their hybridization processes (LaDuke, 1982). In this study, we

chose two annual species with a wide distribution range: *T. rotundifolia* (Mill.) S. F. Blake and *T. tubaeformis* (Jacq.) Cass. These species are native to Mexico and Central America, but have been introduced to other parts of the world where they have become invasive species (García et al., 2000; Larenas-Parada et al., 2004; Muoghalu and Chuba, 2005). In its native range, *T. tubaeformis* is distributed in temperate zones above 1,000 m a.s.l. In contrast, *T. rotundifolia* inhabits arid and tropical zones below 1,000 m a.s.l. When these species are distributed in allopatry, they present noticeable morphological differences and ecological preferences. However, atypical morphologies have been observed in sympatric zones, suggesting that hybridization may explain the observed variation. Moreover, recent molecular studies (RAPD's) elucidated hybridization between *T. tubaeformis* and *T. rotundifolia* in four mixed stands in Mexico (Rodríguez-Carmona, 2010). The mixed stands analyzed in this study were the same as those studied by Rodríguez-Carmona (2010).

The goals of this paper were, i) to determine the morphological differences (leaf, flower and fruit characters) between *T. tubaeformis* and *T. rotundifolia*, ii) document the flow and direction of introgressive hybridization in their overlapping zones in Mexico, iii) assess the taxonomic distinctness of the two species and the putative hybrids, iv) describe and compare the patterns of morphological variation in sympatric zones between these species, and v) correlate previous molecular analysis of hybrid zones between *T. tubaeformis* and *T. rotundifolia* with the results obtained with the present morphological analysis.

MATERIALS AND METHODS

Study species — *Tithonia tubaeformis* and *T. rotundifolia* are two annual diploid species (n=17) native to Mexico and Central America (LaDuke, 1982), which occupy

disturbed habitats as roadsides or croplands. These species show sporophytic incompatibility, and thus are obligate outcrossers (Muoghalu and Chuba, 2005). *T. tubaeformis* is an herb up to 3 m tall distributed in temperate zones from northern Mexico to Panama. It presents highly pubescent leaves, and usually presents solitary inflorescences with yellow ligules and up to 120 disk florets. This species is easily recognized by its linear pubescent phyllaries. On the other hand, *T. rotundifolia* is an herb up to 4 m tall, found from southern Mexico to Panama, inhabiting open areas in tropical forests. *T. rotundifolia* presents 3–5 lobed leaves moderately pubescent. In this species, the inflorescences are usually solitary, with orange ligules and up to 90 disk florets. Although *T. tubaeformis* and *T. rotundifolia* are sympatric in many localities, there is a partial temporal isolation in the flowering time, which may act as a barrier to hybridization. The principal flowering time for *T. rotundifolia* is from November to January. In contrast, *T. tubaeformis* blooms from August to November (LaDuke, 1982).

All the individuals used for this study, were previously identified with molecular markers (RAPDs) (Rodríguez-Carmona, 2010).

Study sites and morphological measurements — Five sympatric zones were chosen where *T. tubaeformis* and *T. rotundifolia* overlap geographically and temporally: Huautla, Zacacoyuca, Teloloapan, Corral de Piedra and Cerro de Piedra. These localities were chosen because they contain the highest numbers of atypical individuals of this complex. Two allopatric localities were also chosen for each parental species, where they were dominant and no hybrids were observed (Table 1, Fig. 1). No evidence exists of another sunflower species hybridizing with plants of the species studied.

From each individual plant collected in the pure and sympatric zones, we collected six leaves and six inflorescences randomly without any apparent damage. From each

inflorescence collected, we randomly chose six of the following structures: ligules, outer and inner phyllaries, disk florets, pales and achenes. These parts were attached by adhesive tape to paper, where the characters were measured. In total, forty six morphological traits were measured; fourteen in 1,380 leaves; eight in 1,380 inflorescences, six in 8,280 ligules; eight in 8,280 phyllaries; three in 8,280 disk florets and seven in 8,280 achenes and pales from 230 plants (Table 2).

Statistical analyses —Nested variance analyses (ANOVA) were conducted to determine the effects of sunflower species, locality, and individual (plant) on the morphological leaf, inflorescence and achene variability on each of the 46 characters (Table 2). Only parental species were included in this analysis. Plants were considered as a random factor nested within species, because they were representative of each population. Discontinuous data were transformed as $\sqrt{(x)+0.5}$ (Zar, 2010).

In order to determine the number of intermediate, transgressive and parental-like characters in each sympatric zone, the phenotypic characterization method was used (Schwarzbach et al., 2001). Forty six characters were analyzed using an ANOVA with taxa (*T. tubaeformis*, *T. rotundifolia*, putative hybrid) as independent variables. Significant mean differences between taxa were determined with a Tukey multiple range test. When a character differed significantly between taxa, the character was reported as transgressive (negative or positive) if the value for the putative hybrid significantly exceeded the parental species values. Otherwise the character of the putative hybrid was reported as intermediate, *tubaeformis*-like, or *rotundifolia*-like.

In the five sympatric zones, the Anderson hybrid index (Anderson, 1949, 1953) was used to identify F1 hybrid individuals and possible backcrosses. A histogram for each

mixed stand was obtained. The Anderson hybrid index was calculated using the morphological characters that differed significantly between parental species.

Principal component analysis (PCA) was used to assess the most useful characters for taxonomic ordination between *T. tubaeformis*, *T. rotundifolia* and the putative hybrid for each hybrid zone. Moreover, to know the degree of importance of each morphological character in the ordination model, the correlation (r) between each variable (morphological character) and each principal component ($\alpha < 0.05$) was obtained. Also, we conducted PCA for leaf, ligule, disk floret, inflorescence, phyllary, pale and achene characters for each hybrid zone.

Finally, we performed linear regressions between principal component 1 (PC1) scores derived from the morphological analysis with those obtained by Rodríguez-Carmona (2010), in which PCA was performed with data derived from molecular markers (RAPD's). The purpose of this analysis was to test whether the morphology of each of the sunflower structures (leaf, ligule, disk floret, inflorescence, phyllary, pale or achene) is significantly related to their genetic identity. Rodríguez-Carmona (2010) studied all the sympatric zones analyzed in this paper in the same season, except Cerro de Piedra. Because of this, the sympatric zone of Cerro de Piedra was excluded in the regression analysis. STATISTICA 6.0 for Windows was used for all the statistical analyses (Statsoft, 1998).

At each sympatric zone, we considered as putative hybrids those who exhibited an additive pattern of molecular (RAPD) marker according to Rodríguez-Carmona (2010).

RESULTS

Morphological analyses for parental and hybrid plants — All of the examined characters in *T. tubaeformis* differed significantly from those of *T. rotundifolia* except TLL,

LWP, MW, MWL, LWB and LA in leaf morphology and PL in inflorescence morphology. Locality also had significant effects in all the characters examined except TLL, MWL, LWB and LA in leaf morphology and PL in inflorescence morphology. On the other side, individual plant did not differ significantly in the next leaf (NLL), and inflorescence (TIW, DW, NOP, IH) morphological characters (Table 3).

Seven characters [NVLi (ligule), TLF, CTL (disk floret), NOP (inflorescence), OPL, OPW and OPBW (phyllaries)] clearly separated without overlap between the two species in the pure zones as well as in the mixed stands. Hence, they can be considered as species-specific characters.

Hybrids phenotypes were morphologically parent-like for 24.8% traits, intermediate for 26.1% traits, and transgressive for 37.8% traits. Thus, individual hybrids appear to be a mosaic of parent-like, intermediate and transgressive phenotypes (Table 4). Although the percentage of intermediate (13.04 in Zacacoyuca to 39.13% in Cerro de Piedra), parental-like (19.57 in Cerro de Piedra to 32.60% in Corral de Piedra), positive transgressive (2.17% in Corral de Piedra to 34.78% in Huautla), and negative transgressive characters (13.04% in Huautla to 34.78% in Zacacoyuca) showed geographical variation among sympatric zones (Table 4, Appendix).

The Anderson hybrid index was used to identify F1 hybrids and possible backcrosses. In general, the frequency histogram (Anderson hybrid index) showed that in all sympatric zones hybridization between *T. tubaeformis* and *T. rotundifolia* has occurred. All sympatric zones showed probable F1 hybrids and backcrosses towards *T. rotundifolia* (Fig. 2).

The first three principal components explained 55.67–59.86% of the variation in the original data sets. In all localities, floral (TLF and CTL) and phyllary characters (IPW,

IPBW, OPW and OPBW) were highly correlated with PC1. On the other hand, foliar characters that showed the highest correlation with PC2 in Huautla and Zacacoyuca were TLL, MWL, and LWA, in Teloloapan, Corral de Piedra, and Cerro de Piedra were TLL, LL, MWL and LWB. Finally, paleae characters were highly correlated with PC2 in Cerro de Piedra and Teloloapan (MWPa), leaf characters in Corral de Piedra, Huautla and Zacacoyuca (LL, MWP, PW).

In general, the PCA analysis for each of the sympatric zone showed that when using each of the structures (leaf, ligule, disk floret, inflorescence, phyllary, palea or achene), two groups are formed, which clearly differentiate between *T. tubaeformis* and *T. rotundifolia* (Figs. 3–9). Meanwhile, the putative hybrids were placed interspersed in the ordination space (e.g., covering the variation of the parental species, Figs. 3–4). Otherwise, the individuals of the sympatric zones formed a separate group, which was not intermediate between the parental species (Figs. 5–9). When using the leaf characters, two principal component axes are produced, which explain up to 74.31% (Huautla) of the variation of the original data set. TLL and MWL showed the highest correlations with the first principal component (CP1), while NLL was highly correlated with the second principal component (CP2). Meanwhile, the ligule characters produced two principal components that explained up to 84.45% (Zacacoyuca) of the variation in the original data set. MLiW and LIWA showed the highest correlations with CP1, and LiL and NVLi were highly correlated with CP2. PCA using the disk floret characters explained up to 99.36% (Cerro de Piedra) of the original data set. The variables with the highest correlations with CP1 were TLF and CTL, while CTW was highly correlated with CP2. When using the inflorescence characters, two principal components were produced that explained up to 59.93% of the variation in the original data set in Teloloapan. The variables TIW and NOP were highly correlated with

CP1, while DW and PW showed high correlations with CP2. Phyllary PCA explained up to 92.24% in Zacacoyuca. IPW and OPBW were highly correlated with CP1, while IPL and OPL were the variables with the highest correlations with CP2. The pale characters produced two principal components that explained up to 86.96% (Huautla) of the original data set. PaL and NPaA were highly correlated with CP1, while MWPa showed the highest correlation with CP2. Finally, the achene characters produced two components that explained up to 92.21 (Zacacoyuca). AwL and AL were highly correlated with CP1, while MAW showed a high correlation with CP2 (Figs. 3–9).

Regression analyses showed a significant relationship between morphological traits such as disk floret, inflorescence, phyllary, palea, and achene and molecular markers for all hybrid zones. Correlation coefficient varied from 0.30 ($r^2 = 0.08$) to 0.81 ($r^2 = 0.65$). On the contrary, foliar and ligule traits did not show a significant relationship with molecular markers, except for ligule characters in Zacacoyuca (Table 5).

DISCUSSION

Morphological differentiation between T. rotundifolia and T. tubaeformis — Sunflowers usually present complex patterns of morphological variation, which may confound taxonomic species identity (LaDuke, 1982). Interspecific hybridization and shared ancestral polymorphisms are two of the most common hypothesis for the observed pattern of variation (Kleinschmit et al., 1995; Bruschi et al., 2000; Tovar-Sánchez and Oyama, 2004). Our results indicate that *T. tubaeformis* and *T. rotundifolia* form hybrids, but they have noticeable morphological differences in their allopatric and sympatric distribution. Also, Rodríguez-Carmona (2010) found a high number of diagnostic and

species-specific RAPD markers for each parental species. These results suggest that these species exhibit some degree of genetic cohesiveness.

Although the use of leaf morphology has been successful in differentiating species (Rieseberg and Ellstrand, 1993), in this study ligule, disk floret, inflorescence, phyllary, palea and achene characters clearly discriminate between the two species, while only 47% of leaf traits showed differences among species. Up to our knowledge, this study is the only one who makes such a detailed morphological description of *T. tubaeformis* and *T. rotundifolia*. Also, this study highlights the importance of evaluating a large number of characters when assessing the morphological differences among species.

Hybrid zones — Morphological evidence supports the occurrence of natural hybrid zones between *T. tubaeformis* and *T. rotundifolia*. Results indicate that individuals of all hybrid zones between *T. tubaeformis* and *T. rotundifolia* exhibit a mosaic of parental, intermediate and transgressive characters. PCA analyses also supports this finding, as putative hybrid individuals were either covering all the variation of the parental species or they were grouped in a non intermediate space between the parental species (Figs. 3–9). Although morphological intermediacy has been the first line of evidence on hybridization processes (Anderson, 1949), recent studies show that a frequent consequence of hybridization is the occurrence of transgressive characters. In this study, hybrid zones showed in average 38% of transgressive characters. This percentage of transgressive character expression is similar to that reported by Rieseberg et al. (1999), where 44% of transgressive characters were found in a survey of 171 studies that report phenotypic variation in hybrids. However, we believe that the percentage of transgressive characters may be underestimated in hybrid zones between *T. rotundifolia* and *T. tubaeformis* because transgressive character expression may be unequally distributed across the different hybrid

classes (Rieseberg and Ellstrand, 1993). In order to determine the frequency of these characters more precisely, future studies should determine the number of intermediate, parental-like and transgressive characters in each of the hybrid classes (F1, backcrosses).

Interestingly, despite the number of intermediate and parental like characters remained constant across the five sympatric zones, the number of positive and negative transgressive characters showed differences between the hybrid zones studied. The observed differences in the percentage of transgressive characters between hybrid zones can be explained from two points of view, i) if we consider that putative hybrids are not uniform (e.g., exhibit differential fitness), the pattern may be explained by differential selection pressures acting at each hybrid zone, allowing the establishment of only some hybrid genotypes, or ii) as putative hybrids have a greater genetic diversity, the observed differences between hybrid zones may be the result of the greater phenotypic plasticity of the hybrids. To rule out these two possible explanations, it would be necessary to assess whether the transgressive characters in this study have an adaptive value and account for the phenotypic plasticity of the different hybrid classes.

Putative hybrids between *T. tubaeformis* and *T. rotundifolia* generate a mosaic of parental, intermediate and extreme or transgressive phenotypes. Therefore, hybrid individuals enable colonization of new habitats, intermediate habitats between those of the parental, or habitats that are truly extreme or novel relative to that of either parent. The aforementioned suggest niche separation between parental and hybrid lines, and this would be a requirement to explain how a new diploid hybrid species can survive and not be outperformed by its parental species (Templeton, 1981; Schluter, 1998; Buerkle et al., 2000).

Hybrid zone dynamics — Disturbance has long been considered a key factor in hybrid establishment, because these environments are either intermediate or novel to either parental species where hybrids exhibit high levels of fitness (Riley, 1938; Anderson, 1949). However, the hybridization process between *T. rotundifolia* and *T. tubaeformis* does not appear to be the case. As mentioned earlier, both species establish and invade disturbed habitats such as croplands and roadsides. Therefore, disturbance may not play an important role in hybrid establishment. We propose that hybrid seed formation may be favored by a partial breakdown of the self incompatibility in hybrids, and thus maintain hybrid zones. In Asteraceae, self incompatibility is considered an ancestral character while self compatibility is a derived state of annual species (Lane, 1996). Also, under xeric conditions selection may favor self compatibility because in these habitats there is a low availability of pollinators. Under this scenario, the hybrids between *T. tubaeformis* and *T. rotundifolia* may exhibit a partial breakdown in self incompatibility and thus increase the number of hybrid seed and maintain the hybrid zones.

It is important to note that hybrids between *T. tubaeformis* and *T. rotundifolia* remain sympatric with the parental species, and no hybrids have been observed far from pure species populations. However, it is well known that hybridization can generate novel phenotypes that may colonize novel environments that may result in adaptive radiation (Seehausen, 2004). Transgressive character expression in hybrids between *T. tubaeformis* and *T. rotundifolia* may enable hybrids to colonize novel environments, as has been described for other annual species of Asteraceae [e.g., *Helianthus* spp. (Rieseberg et al., 2003)]. We believe that extreme characters in hybrids may enable them to colonize novel habitats generated by human activities or by global warming. However, these issues need further investigation.

Results from molecular (Rodríguez-Carmona, 2010) and morphological analyses, suggest that unidirectional introgression towards *T. rotundifolia* has occurred in at least four sympatric zones. This finding coupled with the fact that *T. rotundifolia* individuals have been observed in areas typical of *T. tubaeformis* (E. Tovar-Sánchez, personal observation) suggests that introgressive hybridization has provided *T. rotundifolia* with new genetic variation that has allowed this species to expand its original distribution range. Ongoing phylogeographical research is trying to elucidate whether introgressive hybridization accounts for the observed pattern.

Morphology vs. molecular markers — Morphological intermediacy in hybrids assumes that all characters are polygenic and that they are expressed in an additive fashion. However, during the past decade several studies have shown that hybrids rarely exhibit a complete pattern of morphological intermediacy. These studies suggest that hybrids exhibit a mosaic of intermediate, parental and transgressive characters (Rieseberg and Ellstrand, 1993; Rieseberg et al., 1999; Rieseberg et al., 2003). The sympatric zones between *T. tubaeformis* and *T. rotundifolia* follow this pattern, as they showed a mixture of intermediate, parental and transgressive characters. This lack of pattern of phenotypic character expression in hybrids makes necessary the evaluation of other data, in order to assess the correct ancestry of the individuals in a hybrid zone.

Molecular markers provide possible independent data which can be used to evaluate hybridization, and can be directly compared with morphological results. In this study, PCA analysis of morphological markers was regressed with PCA results obtained with molecular markers (RAPD) at four sympatric zones of *T. tubaeformis* and *T. rotundifolia*. In general, we found that leaf and ligule characters were not significantly related to the genetic identity of the plants, while disk floret, inflorescence, phyllary, palea and achene morphology were

significantly related to the CP1 scores from the molecular marker analysis. It is noteworthy that leaf and ligule characters showed low percentages of intermediate characters, while the others structures showed higher levels of intermediate characters across the four hybrid zones. These differences in intermediate and transgressive character expression may account mainly for the pattern observed in the regression analysis.

Moreover, the differences in the regression analysis suggest that each of the structure's morphology in *T. rotundifolia* and *T. tubaeformis* is under a different genetic regime. Those structures that showed a high number of intermediate characters (except for leaf and ligule) are very probable to be under polygenic control acting in an additive fashion. Meanwhile, the structures that showed high number of transgressive characters (leaf and ligule) may be under a different genetic control. It has been demonstrated that transgressive character expression is mainly the result of the recombination of alleles of the parental species with an opposing effect that result in an extreme trait when expressed in the hybrids [i.e., complementary gene action (Rieseberg et al., 2003)].

As discussed above, different data sets (morphological and molecular data) lead us to different conclusions about the hybridization process between *T. tubaeformis* and *T. rotundifolia*. Hence, in order to assess the correct ancestry of putative hybrids, it is very important to evaluate independent data sets. More specifically, when using morphological characters, a large number of characters of different plant structures must be employed, as each of these structures may express intermediate, parental or transgressive characters.

Hybridization between invasive species — Hybridization between two invasive species may have several outcomes including the evolution of hybrid lineages (Arnold, 1997), invasiveness in hybrid offspring (Schierenbeck and Ellstrand, 2009) and species extinction

(Levin and Francisco-Ortega, 1996). As mentioned earlier, Mexico is considered a center of diversification of the Asteraceae family, where many species have highly restricted distributions. In this sense, hybridization between the invasive species *T. tubaeformis* and *T. rotundifolia* has several conservation implications for species with restricted distribution. First, unidirectional introgression towards *T. rotundifolia* may facilitate the colonization of new environments. Also, transgressive hybrid phenotypes may invade extreme environments to either parental species (Schwarzbach et al., 2001). If hybrids or pure individuals are able to establish in new environments, restricted species may be outcompeted by hybrids or pure parental individuals. On the other hand, there are reports of hybridization of *T. tubaeformis* and *T. rotundifolia* with other species such as *Helianthus annuus* (Reyes-Valdés et al., 2005), so it is possible that there may be hybridization with restricted range species, which can lead to genetic assimilation (Rhymer and Simberloff, 1996) or demographic swamping (Prentis et al., 2007) of restricted species. Therefore, we suggest that appropriate strategies should be taken to prevent contact of *T. tubaeformis* and *T. rotundifolia* with other species in order to reduce the risk of extinction.

LITERATURE CITED

- ANDERSON, E. 1949. Introgressive hybridization. John Wiley, New York.
- ANDERSON, E. 1953. Introgressive hybridization. *Biological Reviews* 28: 280–307.
- ARNOLD, M. L. 1997. Natural hybridization and evolution. Oxford University Press, Oxford.

- BROCHMANN, C., L. BORGAN, AND O. E. STABBETORP. 2000. Multiple diploid hybrid speciation of the Canary Island endemic *Argyranthemum sundingii* (Asteraceae). *Plant Systematics and Evolution* 220: 77–92.
- BRUSCHI, P., G. G. VENDRAMIN, F. BUSSOTTI, AND P. GROSSONI. 2000. Morphological and molecular differentiation between *Quercus petrea* (Matt.) Liebl. and *Quercus pubescens* Willd. (Fagaceae) in northern and central Italy. *Annales of Botany* 85: 325–333.
- BUERKLE, C. A., R. J. MORRIS, M. A. ASMUSSEN, AND L. H. RIESEBERG. 2000. The likelihood of homoploid hybrid speciation. *Heredity* 84: 441–451.
- CARAWAY, V., G. D. CARR, AND C. W. MORDEN. 2001. Assessment of hybridization and introgression in lava-colonizing Hawaiian *Dubautia* (Asteraceae: Madiinae) using RAPD markers. *American Journal of Botany* 88: 1688–1694.
- CARNEY, S. E., K. A. GARDNER, AND L. H. RIESEBERG. 2000. Evolutionary changes over the fifty-year history of a hybrid population of sunflowers (*Helianthus*). *Evolution* 54: 462–474.
- CATTELL, M. V., AND S. A. KARL. 2004. Genetics and morphology in a *Borrchia frutescens* and *B. arborescens* (Asteraceae) hybrid zone. *American Journal of Botany* 91: 1757–1766.
- DAEHLER, C., AND D. R. STRONG. 1997. Hybridization between introduced smooth cordgrass (*Spartina alterniflora*; Poaceae) and native California cordgrass (*S. foliosa*) in San Francisco Bay, California, USA. *American Journal of Botany* 84: 607–611.
- DEVICENTE, M. C., AND S. D. TANKSLEY. 1993. QTL analysis of transgressive segregation in an interspecific tomato cross. *Genetics* 134: 585–596.

- ELENA-ROSELLO, J. A., R. LUMARET, E. CABRERA, AND H. MICHAUD. 1992. Evidence for hybridization between sympatric holm-oak and cork-oak in Spain based on diagnostic enzyme markers. *Vegetatio* 100: 115–118.
- FREEMAN, D. C., W. A. TURNER, E. D. MCARTHUR, AND J. H. GRAHAM. 1991. Characterization of a narrow hybrid zone between two subspecies of big sagebrush (*Artemisia tridentata*: Asteraceae). *American Journal of Botany* 78: 805–815.
- GARCÍA, A. N., S. CHAILA, H. GONZÁLEZ NAVARRO, M. DE LA VEGA, AND J. G. RAIMONDO. 2000. Competencia específica de *Tithonia tubaeformis* [Jack] Cass. en cultivos de soja (*Glycine max* (L.) Merrill) y poroto negro (*Phaseolus vulgaris* L.). *Revista Agronómica del Noroeste Argentino* 30: 19–30.
- HARDIG, T. M., S. J. BRUNSFELD, R. S. FRITZ, M. MORGAN, AND C.M. ORIANS. 2000. Morphological and molecular evidence for hybridization and introgression in a willow (*Salix*) hybrid zone. *Molecular Ecology* 9: 9–24.
- HARRISON, R. G. 1990. Hybrid zones: windows on evolutionary process. *Oxford Surveys in Evolutionary Biology* 7: 69–128.
- HEISER, C. B. 1947. Hybridization between the sunflower species *Helianthus annuus* and *H. petiolaris*. *Evolution* 1: 249–262.
- HEISER, C. B. 1951. Hybridization in the Annual Sunflowers: *Helianthus annuus* × *H. debilis* var. *cucumerifolius*. *Evolution* 5: 42–51.
- JÖRGENSEN, S., AND R. MAURICIO. 2005. Hybridization as a source of evolutionary novelty: leaf shape in a Hawaiian composite. *Genetica* 123: 171–179.
- KARL, S. A., AND J. C. AVISE. 1992. Balancing selection at allozyme loci in oysters: implications from nuclear RFLPs. *Science* 256: 100–102.

- KLEINSCHMIT, J. R. G., R. BACILIERI, A. KREMER, AND A. ROLOFF. 1995. Comparison of morphological and genetic traits of pedunculate oak (*Quercus robur* (L.)) and sessile oak (*Quercus petraea* (Matt.) Liebl). *Silvae Genetica* 44: 5–6.
- LA DUKE, J. C. 1982. Revision of *Tithonia*. *Rhodora* 84: 453–522.
- LANE, M. A. 1996. Pollination biology of Compositae. In P. D. S. Caligari, and D. J. N. Hind [eds.], *Compositae: Biology and utilization*, 61–80. Proceedings of the International Compositae Conference, Kew.
- LARENAS-PARADA, G., M. L. VIANA, T. CHAFATINOS, AND N. E. ESCOBAR. 2004. Relación suelo-especie invasora (*Tithonia tubaeformis*) en el sistema ribereño del río Arenales, Salta, Argentina. *Ecologia Austral* 14: 19–29.
- LEVIN, D. A. 2000. The origin, expansion, and demise of plant species. Oxford University Press, New York.
- LEVIN, D. A., AND J. FRANCISCO-ORTEGA. 1996. Hybridization and the extinction of rare plant species. *Conservation Biology* 10: 10–16.
- LEXER, C., R. A. RANDELL, AND L. H. RIESEBERG. 2003. Experimental hybridization as a tool for studying selection in the wild. *Ecology* 84: 1688–1699.
- MRÁZ, P., M. GAUDEUL, D. RIOUX, L. GIELLY, P. CHOLER, AND P. TABERLET. 2007. Genetic structure of *Hypochaeris uniflora* (Asteraceae) suggests vicariance in the Carpathians and rapid post-glacial colonization of the Alps from an eastern Alpine refugium. *Journal of Biogeography* 34: 2100–2114.
- MUOGHALU, J. I., AND CHUBA, D. K. 2005. Seed germination and reproductive strategies of *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) Gray and *Tithonia rotundifolia* (P. M.) Blake. *Applied Ecology and Environmental Research* 3: 39–46.

- NIKOLOVA, L., C. MICHAIL, AND S. GERALD. 2004. Interspecific hybridization between *H. pumilus* Nutt. and *H. annuus* L. and their potential for cultivated sunflower improvement. *Helia* 27: 151–162.
- PRENTIS, P. J., E. M. WHITE, I. J. RADFORD, A. J. LOWE, AND A. R. CLARKE. 2007. Can hybridization cause local extinction: a case for demographic swamping of the Australian native *Senecio pinnatifolius* by the invasive *Senecio madagascariensis*? *New Phytologist* 176: 902–912.
- REYES-VALDÉS, H. M., M. GÓMEZ-MARTÍNEZ, O. MARTÍNEZ, AND F. HERNÁNDEZ-GODÍNEZ. 2005. Intergeneric hybrid between cultivated sunflower (*Helianthus annuus* L.) and *Tithonia rotundifolia* (Mill.) Blake. *Helia* 28: 61–68.
- RHYMER, J. M., AND D. SIMBERLOFF. 1996. Extinction by hybridization and introgression. *Annual Review in Ecology and Systematic* 27: 83–109.
- RIESEBERG, L. H., AND N. C. ELLSTRAND. 1993. What can morphological and molecular markers tell us about plant hybridization? *Critical Reviews in Plant Sciences* 12: 213–241.
- RIESEBERG, L. H., AND S. E. CARNEY. 1998. Plant hybridization. *New Phytologist* 140: 599–624.
- RIESEBERG, L. H., M. A. ARCHER, AND R. K. WAYNE. 1999. Transgressive segregation, adaptation, and speciation. *Heredity* 83: 363–372.
- RIESEBERG, L. H., O. RAYMOND, AND D. M. ROSENTHAL. 2003. Major ecological transitions in wild sunflowers facilitated by hybridization. *Science* 301: 1211–1216.
- RILEY, H. P. 1938. A character analysis of colonies of *Iris fulva*, *Iris hexagona* var. *giganticaerulea* and natural hybrids. *American Journal of Botany* 25: 727–738.

- RODRÍGUEZ-CARMONA, F. 2010. Hibridación introgresiva del complejo *Tithonia tubaeformis* × *Tithonia rotundifolia* (Asteraceae) en México. M. Sc. Dissertation, Universidad Autónoma del Estado de Morelos, Morelos.
- SCHIERENBECK, K. A., AND N. C. ELLSTRAND. 2009. Hybridization and the evolution of invasiveness in plants and other organisms. *Biological Invasions* 11: 1093–1105.
- SCHLUTER, D. 1998. Ecological causes of speciation. In D. Howard, and S. Berlocher [eds.], *Endless Forms: Species and Speciation*, 114–129. Oxford Univ. Press, Oxford.
- SCHWARZBACH, A. E., L. A. DONOVAN, AND L. H. RIESEBERG. 2001. Transgressive character expression in a hybrid sunflower species. *American Journal of Botany* 88: 270–277.
- SEEHAUSEN, O. 2004. Hybridization and adaptive radiation. *Trends in Ecology and Evolution* 19: 198–207.
- SOLTIS, P. S., AND M. A. GITZENDANNER. 1999. Molecular systematics and the conservation of rare species. *Conservation Biology* 13: 471–483.
- STATSOFT. 1998. STATISTICA for Windows. Manual version 6.0. Statsoft, Tulsa, Oklahoma, USA.
- TEMPLETON, A. R. 1981. Mechanisms of speciation – A population genetic approach. *Annual Review in Ecology and Systematics* 12: 23–48.
- TOVAR-SÁNCHEZ, E., AND K. OYAMA. 2004. Natural hybridization between *Quercus crassifolia* and *Quercus crassipes* (Fagaceae) in Mexico: morphological and molecular evidence. *American Journal of Botany* 91: 1352–1363.
- TREWICK, S. A., M. MORGAN-RICHARDS, AND H. M. CHAPMAN. 2004. Chloroplast DNA diversity of *Hieracium pilosella* (Asteraceae) introduced to New Zealand: reticulation, hybridization, and invasion. *American Journal of Botany* 91: 73–85.

- VILLASEÑOR, J. L. 1993. La familia Asteraceae en México. *Revista de la Sociedad Mexicana de Historia Natural* 44: 117–124.
- WHITNEY, K. D., J. R. AHERN, L. G. CAMPBELL, L. P. ALBERT, AND M. S. KING. 2010. Patterns of hybridization in plants. *Perspectives in Plant Ecology* 12: 175–182.
- WILSON, P. 1992. On inferring hybridity from morphological intermediacy. *Taxon* 41: 11–23.
- ZAR, J. H. 2010. *Biostatistical analysis*. Prentice Hall, New Jersey.
- ZELAYA, I. A., M. D. K. OWEN, AND M. J. VANGESSEL. 2007. Transfer of glyphosate resistance: evidence of hybridization in *Conyza* (Asteraceae). *American Journal of Botany* 94: 660–673.

Figure legends

- Fig. 1. Map of sampled populations of *Thitonia tubaeformis* × *T. rotundifolia* complex. The allopatric stands are represented by numbers 1, 2 (*T. tubaeformis*), 3 and 4 (*T. rotundifolia*). The mixed stands are represented by numbers, 5 = Huautla, 6 = Zacacoyuca, 7 = Teloloapan, 8 = Corral de Piedra and 9 = Cerro de Piedra.
- Fig. 2. Frequency distribution of individuals vs. the Anderson hybrid index derived from 46 morphological characters in two pure and five hybrid zones. The number of each plant evaluated is represented. The figure shows the cluster results of the pure or nearly pure parentals in four zones (index = 0 or 92), a cluster for probable F₁ hybrids (index = 34.5–57.5), probable backcrosses towards *T. tubaeformis* (index = 23.0–28.8), and finally probable backcrosses toward *T. rotundifolia* (index = 63.3–69.0).

Fig. 3. Principal component analysis for leaf morphology variation in *Tithonia tubaeformis* × *T. rotundifolia* complex (eight measured characters) in five hybrids zones in Mexico. See abbreviations in Table 1.

Fig. 4. Principal component analysis for ligule morphology variation in *Tithonia tubaeformis* × *T. rotundifolia* complex (eight measured characters) in five hybrids zones in Mexico. See abbreviations in Table 1.

Fig. 5. Principal component analysis for disk floret morphology variation in *Tithonia tubaeformis* × *T. rotundifolia* complex (four measured characters) in five hybrids zones in Mexico. See abbreviations in Table 1.

Fig. 6. Principal component analysis for inflorescence morphology variation in *Tithonia tubaeformis* × *T. rotundifolia* complex (four measured characters) in five hybrids zones in Mexico. See abbreviations in Table 1.

Fig. 7. Principal component analysis for phyllary morphology variation in *Tithonia tubaeformis* × *T. rotundifolia* complex (six measured characters) in five hybrids zones in Mexico. See abbreviations in Table 1.

Fig. 8. Principal component analysis for palea morphology variation in *Tithonia tubaeformis* × *T. rotundifolia* complex (three measured characters) in five hybrids zones in Mexico. See abbreviations in Table 1.

Fig. 9. Principal component analysis for achene morphology variation in *Tithonia tubaeformis* × *T. rotundifolia* complex (14 measured characters) in five hybrids zones in Mexico. See abbreviations in Table 1.

Table 1. Locality name, state, geographic coordinates, altitude, and sample size for the collecting sites of *Thitonia tubaeformis* and *T. rotundifolia* in Mexico.

Locality	State	Lat N / Long W	Altitude (m)	Sample size
<i>T. tubaeformis</i> stands				
Jardín Botánico	D.F.	19° 19' / 99° 11'	2321	20
Caseta	D.F.	19° 14' / 99° 08'	2439	20
Mixed stands				
Teloloapan	Guerrero	18° 24' / 99° 41'	1020	30
Zacacoyuca	Guerrero	18° 18' / 99° 30'	863	30
Huautla	Morelos	18° 28' / 99° 00'	1080	30
Corral de Piedra	Oaxaca	17° 45' / 97° 44'	1830	30
Cerro de Piedra	Oaxaca	17° 44' / 97° 44'	1840	30
<i>T. rotundifolia</i> stands				
Vicente Aranda	Morelos	18° 34' / 99° 13'	889	20
Sochutla	Oaxaca	15° 12' / 96° 31'	21	20

Table 2. List of the leaf, ligule, disk floret, inflorescence, phyllary, pale, and achene characters examined for the *Thitonia tubaeformis* and *T. rotundifolia* complex in Mexico.

Character	Units	Description
Foliar characters		
TLL	mm	Total leaf length
LL	mm	Lamina length
LWP	mm	Length of winged petiole
PLBW	mm	Petiole length from the base to the beginning of the wing of petiole
MWP	mm	Maximal width of winged petiole
PW	mm	Winged petiole width at the base
MW	mm	Midvein width
MWL	mm	Maximal width of lamina
LWA	mm	Leaf width at apical $\frac{1}{3}$
LWB	mm	Leaf width at basal $\frac{1}{3}$
NVL	No.	Number of veins of leaf
NLL	No.	Number of leaf lobes
LA	cm ²	Lamina area
WPA	cm ²	Winged petiole area
Ligule characters		
LiL	mm	Ligule length
NVLi	No.	Number of veins of ligule
NDL	No.	Number of dentate lobes of ligule
MLiW	mm	Maximal ligule width
LiWA	mm	Ligule width at apical $\frac{1}{3}$
LiWB	mm	Ligule width at basal $\frac{1}{3}$
Disk floret characters		
TLF	mm	Total length of disk floret
CTL	mm	Corolla tube length
CTW	mm	Corolla tube width
Inflorescence characters		
TIW	cm	Total inflorescence width
DW	mm	Disk width
PW	mm	Peduncle width
NIP	No.	Number of inner phyllary series
NOP	No.	Number of outer phyllary series
NRF	No.	Number of ray florets
IH	mm	Inflorescence height
PL	mm	Peduncle length
Phyllary characters		
IPL	mm	Inner phyllary series length
IPW	mm	Maximal inner phyllary series width
IPAW	mm	Inner phyllary series width at apical $\frac{1}{3}$
IPBW	mm	Inner phyllary series width at basal $\frac{1}{3}$
OPL	mm	Outer phyllary series length
OPW	mm	Maximal outer phyllary series width
OPAW	mm	Outer phyllary series width at apical $\frac{1}{3}$
OPBW	mm	Outer phyllary series width at basal $\frac{1}{3}$
Pale characters		
NPaA	No.	Number of pale aristae
PaL	mm	Pale length
MWPa	mm	Maximal width of pale
Achene characters		
NAA	No.	Number of achene awns
AwL	mm	Awn length
AL	mm	Achene length

Table 3. Mean \pm standard error and nested ANOVA results (F statistics) for all characters of *Thitonia tubaeformis* and *T. rotundifolia* in Mexico. F significant at $P = 0.001$ (***); $P = 0.01$ (**); $P = 0.05$ (*); and n.s. = not significant differences.

haracter	<i>T. rotundifolia</i>	<i>T. tubaeformis</i>	F (Species)	F (Locality)	F (Individual)
oliar characters			d.f. = 1, 478	d.f. = 3, 476	d.f. = 19, 460
LL	200.92 \pm 4.03	207.40 \pm 3.13	1.61 n.s.	1.68 n.s.	2.84 ***
L	147.04 \pm 2.67	154.53 \pm 2.39	4.35 **	6.83 ***	3.51 ***
WP	62.60 \pm 1.69	59.60 \pm 1.45	1.81 n.s.	4.84 **	3.93 ***
LBW	37.77 \pm 0.94	33.75 \pm 0.88	9.76 **	7.88 ***	4.27 ***
IWP	7.93 \pm 0.21	10.32 \pm 0.23	57.88 ***	21.57 ***	3.27 ***
W	2.36 \pm 0.05	2.19 \pm 0.04	6.96 **	2.88 *	3.39 ***
IW	0.85 \pm 0.02	0.83 \pm 0.02	1.12 n.s.	21.49 ***	2.69 ***
IWL	104.55 \pm 2.44	98.60 \pm 1.91	3.67 n.s.	2.57 n.s.	3.05 ***
WA	57.42 \pm 1.18	48.98 \pm 0.93	31.68 ***	15.63 ***	2.97 ***
WB	98.93 \pm 2.32	94.16 \pm 1.81	2.69 n.s.	1.72 n.s.	2.80 ***
VL	8.50 \pm 0.07	8.90 \pm 0.08	13.01 ***	7.10 ***	3.40 ***
LL	2.59 \pm 0.07	1.13 \pm 0.03	468.63 ***	159.27 ***	1.53 n.s.
A	84.41 \pm 5.99	77.61 \pm 2.43	1.55 n.s.	1.12 n.s.	1.94 *
/PA	2.08 \pm 0.14	2.94 \pm 0.10	24.90 ***	13.16 ***	2.48 ***
igule characters			d.f. = 1, 2878	d.f. = 3, 2876	d.f. = 19, 2860
iL	33.53 \pm 0.11	42.64 \pm 0.18	2162.8 ***	723.89 ***	10.84 ***
VLi	24.89 \pm 0.08	14.65 \pm 0.04	14166.67 ***	4897.83 ***	3.23 ***
DL	2.40 \pm 0.02	2.03 \pm 0.01	225.96 ***	83.86 ***	12.67 ***
ILiW	15.38 \pm 0.05	14.56 \pm 0.07	87.87 ***	54.50 ***	21.04 ***
iWA	13.94 \pm 0.08	12.80 \pm 0.06	121.40 ***	71.05 ***	10.67 ***
iWB	12.51 \pm 0.04	12.34 \pm 0.07	4.41 **	51.01 ***	13.42 ***
isk floret characters			d.f. = 1, 2878	d.f. = 3, 2876	d.f. = 19, 2860
LF	14.59 \pm 0.03	11.23 \pm 0.03	8007.90 ***	2725.40 ***	6.22 ***
TL	8.62 \pm 0.02	6.64 \pm 0.07	6415.30 ***	2139.80 ***	4.30 **
TW	2.12 \pm 0.01	1.91 \pm 0.07	1072.40 ***	477.50 ***	13.91 ***
iflorescence characters			d.f. = 1, 478	d.f. = 3, 476	d.f. = 19, 460
IW	63.55 \pm 0.99	92.08 \pm 1.15	420.43 ***	278.33 ***	0.67 n.s.
W	20.27 \pm 0.30	22.05 \pm 0.28	22.68 ***	55.34 ***	0.44 n.s.
W	9.61 \pm 0.22	8.74 \pm 0.47	37.65 ***	31.78 ***	3.89 ***
IP	12.23 \pm 0.14	10.43 \pm 0.16	72.14 ***	39.71 ***	2.51 ***
OP	5.98 \pm 0.09	11.23 \pm 0.15	1029.22 ***	454.81 ***	0.62 n.s.
RF	12.93 \pm 0.07	13.94 \pm 0.11	57.20 ***	19.10 ***	2.60 ***
I	17.59 \pm 0.16	14.13 \pm 0.19	189.36 ***	66.20 ***	1.38 n.s.
L	21.29 \pm 0.43	20.24 \pm 6.54	2.47 n.s.	2.01 n.s.	2.31 **
ihyllary characters			d.f. = 1, 1438	d.f. = 3, 1436	d.f. = 19, 1420
lL	15.50 \pm 0.07	20.07 \pm 0.16	665.76 ***	235.34 ***	2.58 ***
lW	5.78 \pm 0.03	4.39 \pm 0.05	528.29 ***	195.59 ***	4.44 ***
lAW	4.74 \pm 0.03	3.66 \pm 0.04	430.70 ***	194.21 ***	6.27 ***
lBW	5.28 \pm 0.03	3.52 \pm 0.03	1304.55 ***	464.18 ***	2.35 ***
PL	21.28 \pm 0.11	29.86 \pm 0.15	2150.96 ***	824.21 ***	5.00 ***
PW	7.41 \pm 0.03	4.99 \pm 0.04	2012.96 ***	687.73 ***	4.93 ***
PAW	4.80 \pm 0.03	4.38 \pm 0.03	82.57 ***	30.19 ***	10.52 ***
PBW	6.45 \pm 0.04	3.39 \pm 0.03	4074.89 ***	1599.22 ***	1.92 *

Continued Table 3

Character	<i>T. rotundifolia</i>	<i>T. tubaeformis</i>	<i>F</i> (Species)	<i>F</i> (Locality)	<i>F</i> (Individual)
Pale characters			d.f. = 1, 2878	d.f. = 3, 2876	d.f. = 19, 2860
NPaA	2.53 ± 0.01	2.10 ± 0.02	240.76 ***	81.06 ***	4.51 ***
PaL	13.56 ± 0.03	11.94 ± 0.04	915.32 ***	330.98 ***	7.33 ***
MWPa	5.30 ± 0.02	6.08 ± 0.03	491.56 ***	276.32 ***	4.63 ***
Achene characters			d.f. = 1, 2878	d.f. = 3, 2876	d.f. = 19, 2860
NAA	1.43 ± 0.01	1.15 ± 0.02	178.99 ***	68.37 ***	12.07 ***
AwL	5.03 ± 0.03	2.91 ± 0.05	1047.67 ***	351.96 ***	7.70 ***
AL	11.50 ± 0.03	8.47 ± 0.05	1990.85 ***	751.88 ***	5.10 ***
MAW	2.45 ± 0.01	2.55 ± 0.01	36.35 ***	103.61 ***	5.58 ***

Table 4. Phenotypic characterization (%) procedure from the five hybrid zones of the *Thitonia tubaeformis* and *T. rotundifolia* complex in Mexico (Schwarzbach et al. 2001).

Fenotipe	Huautla	Zacacoyuca	Teloloapan	Corral de Piedra	Cerro de Piedra
Positive transgressive	34.78	8.69	10.86	2.17	13.04
Negative transgressive	13.04	34.78	30.43	15.21	26.09
Intermediate	28.26	13.04	26.08	23.91	39.13
Parent-like	23.91	26.08	21.73	32.60	19.57
Not significant	0	17.39	10.86	26.08	2.17

Table 5. Regressions analyses between morphological and molecular markers (RAPD's) from the five hybrid zones of the *Thitonia tubaeformis* and *T. rotundifolia* complex in Mexico. (*) = F significant at $P < 0.05$.

Structure	Locality											
	Huautla			Zacacoyuca			Teloloapan			Corral de Piedra		
	r^2	r	F	r^2	r	F	r^2	r	F	r^2	r	F
Leaf	0.02	0.16	1.46	0.08	0.28	5.32	0.05	0.24	3.76	0.08	0.28	4.44
Ligule	0.01	0.14	1.2	0.09	0.3	5.94*	0.004	0.07	0.26	0	0.02	0.01
Disk floret	0.36	0.61	34.21	0.41	0.64	42.42*	0.18	0.43	13.37*	0.27	0.52	19.33*
Inflorescence	0.65	0.81	113.75*	0.31	0.55	26.80*	0.42	0.65	42.89*	0.52	0.73	56.84*
Phyllary	0.44	0.66	46.42*	0.36	0.6	34.16*	0.17	0.42	12.92*	0.15	0.39	9.29*
Pale	0.38	0.62	36.54*	0.08	0.3	6.25*	0.13	0.36	8.96*	0.35	0.59	27.60*
Achene	0.35	0.59	32.13*	0.11	0.34	7.99*	0.22	0.47	16.74*	0.23	0.49	15.89*

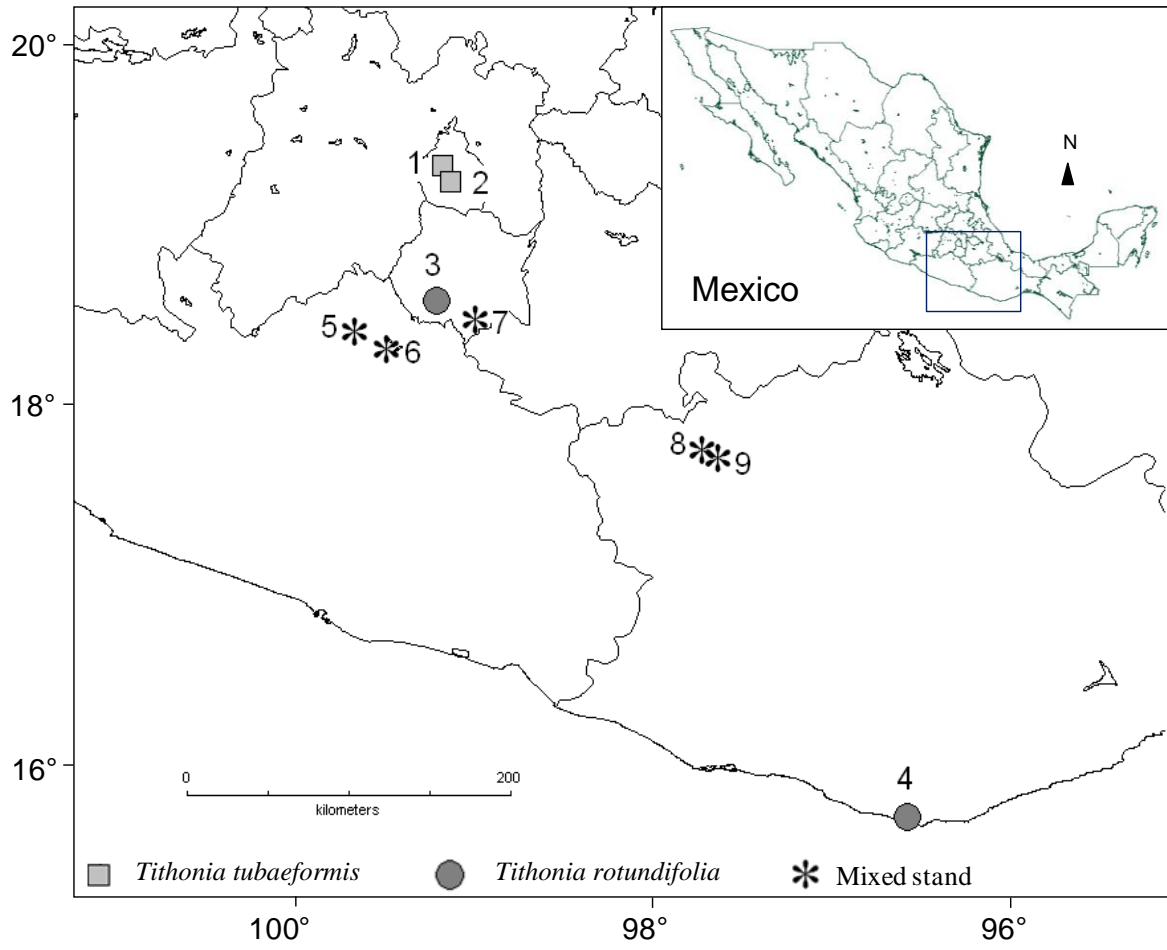


Fig. 1

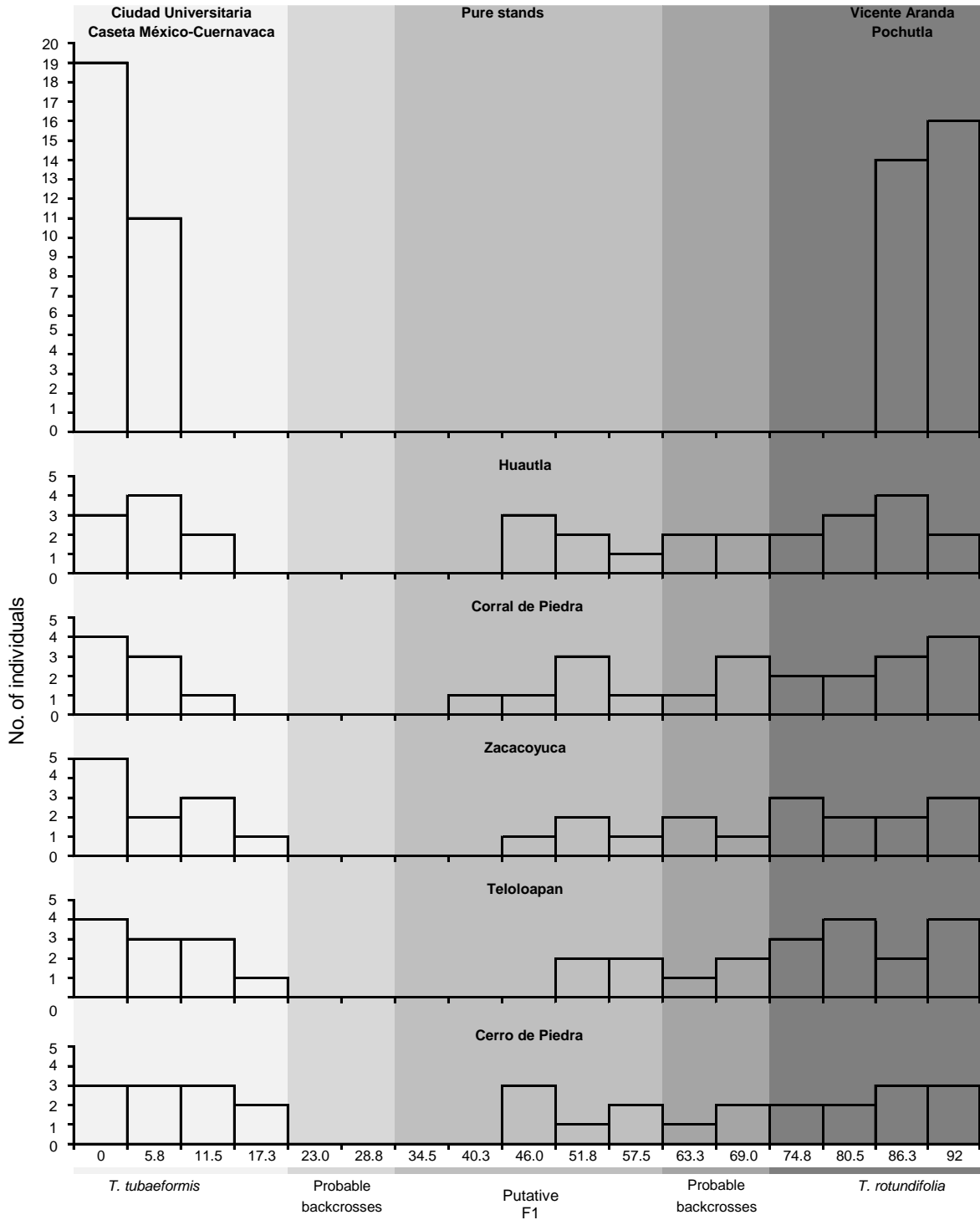


Fig. 2

LEAF

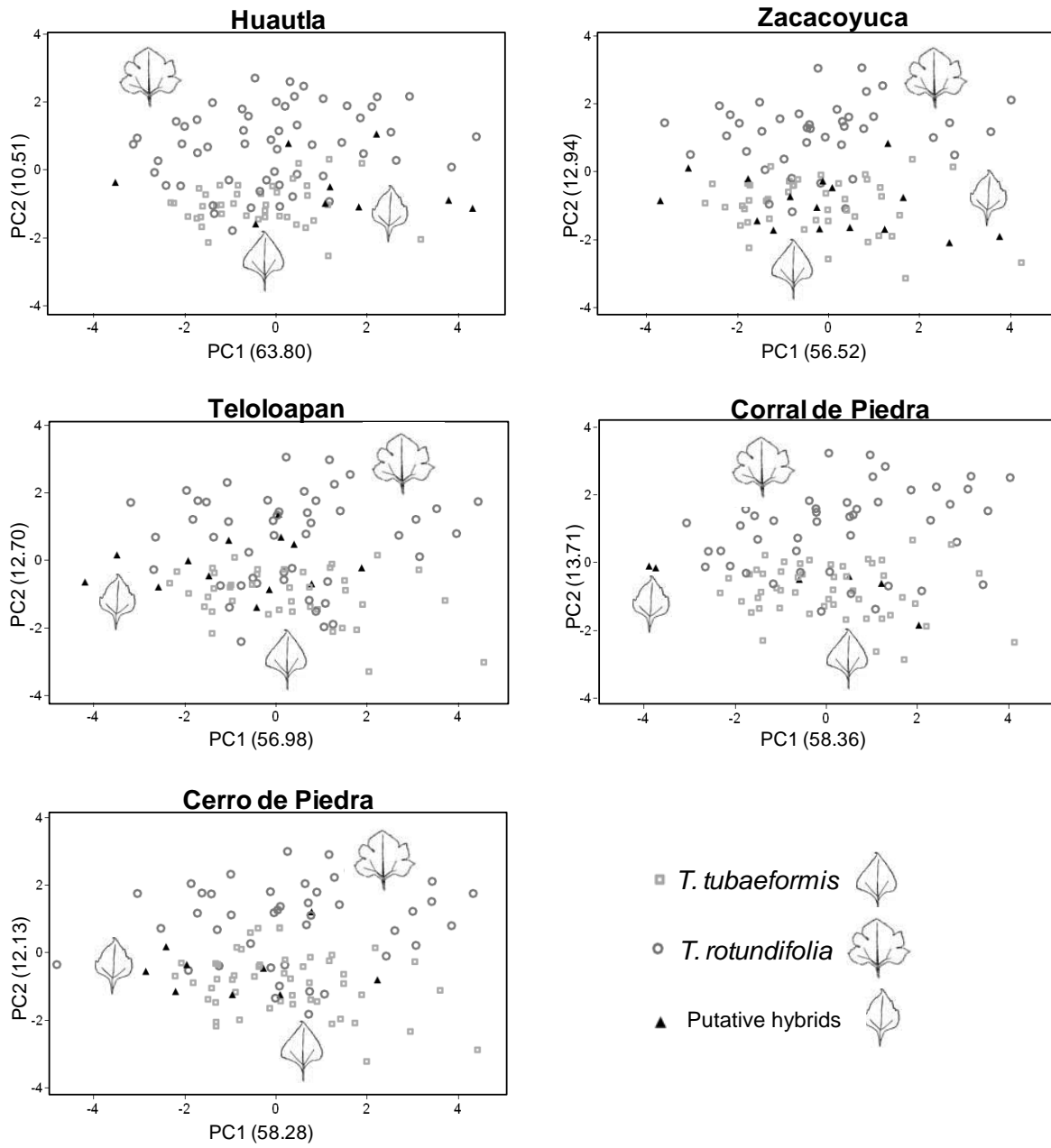


Fig. 3

LIGULE

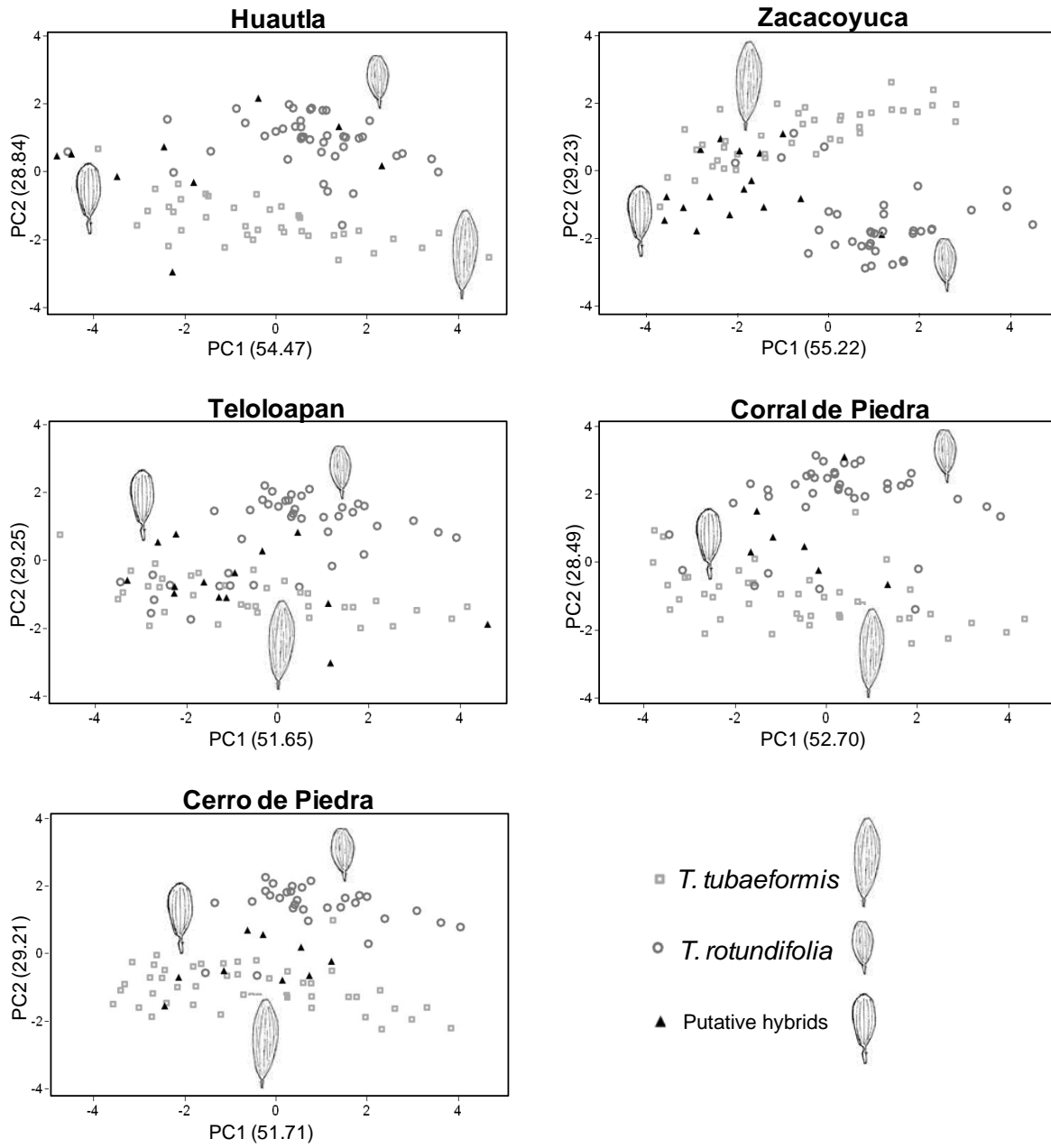


Fig. 4

DISK FLORET

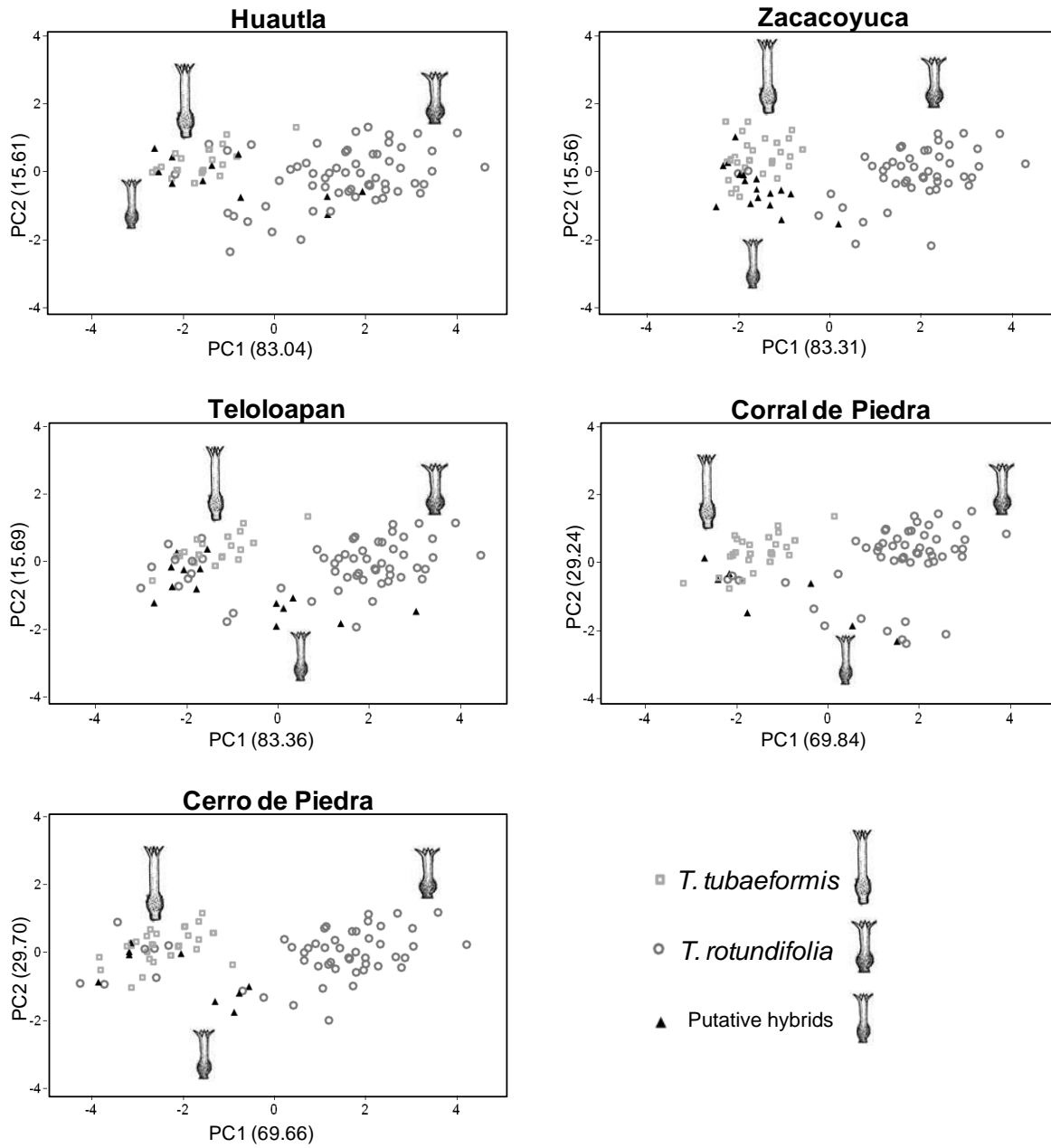


Fig. 5

INFLORESCENCE

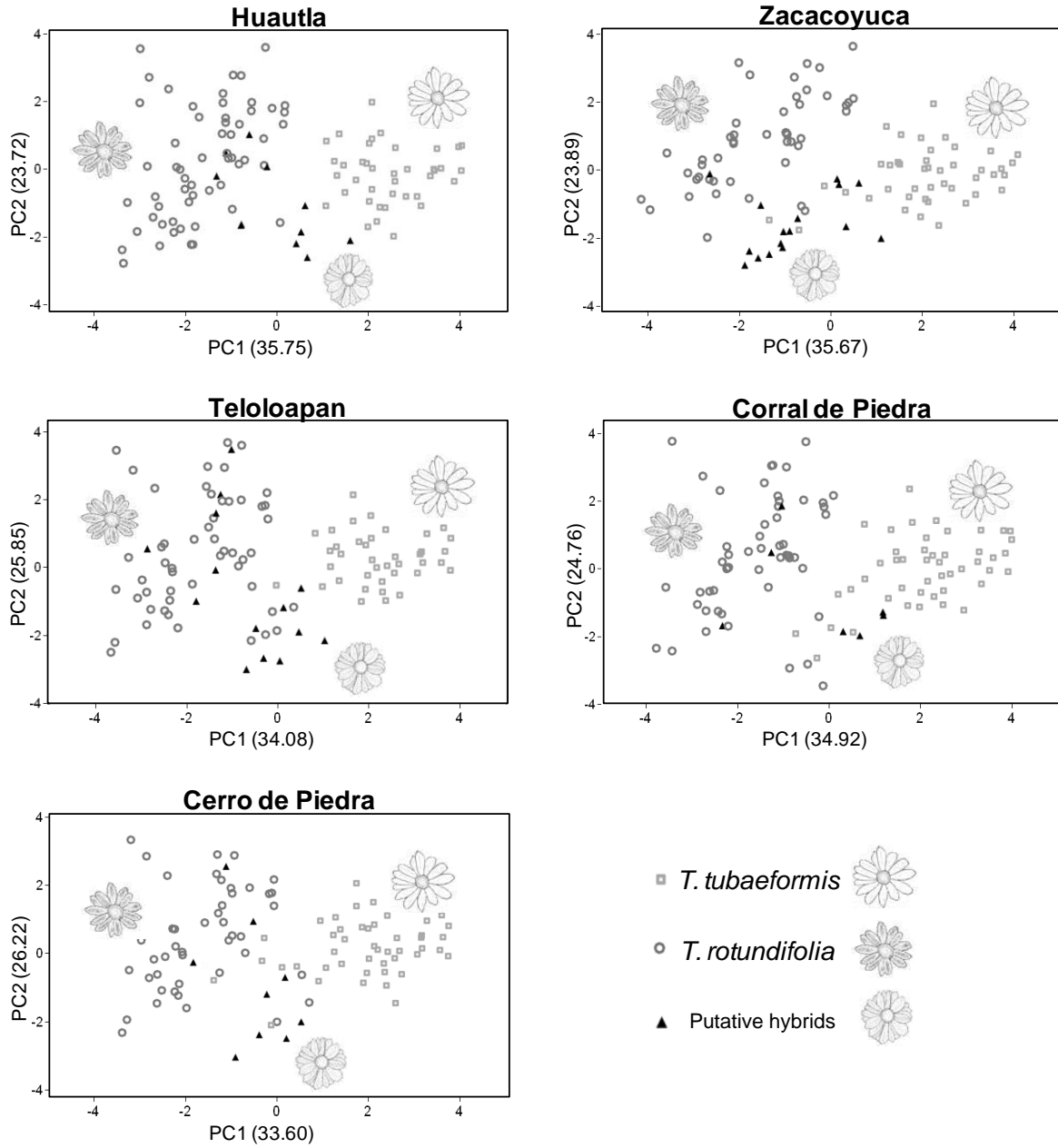


Fig. 6

PHYLLARY

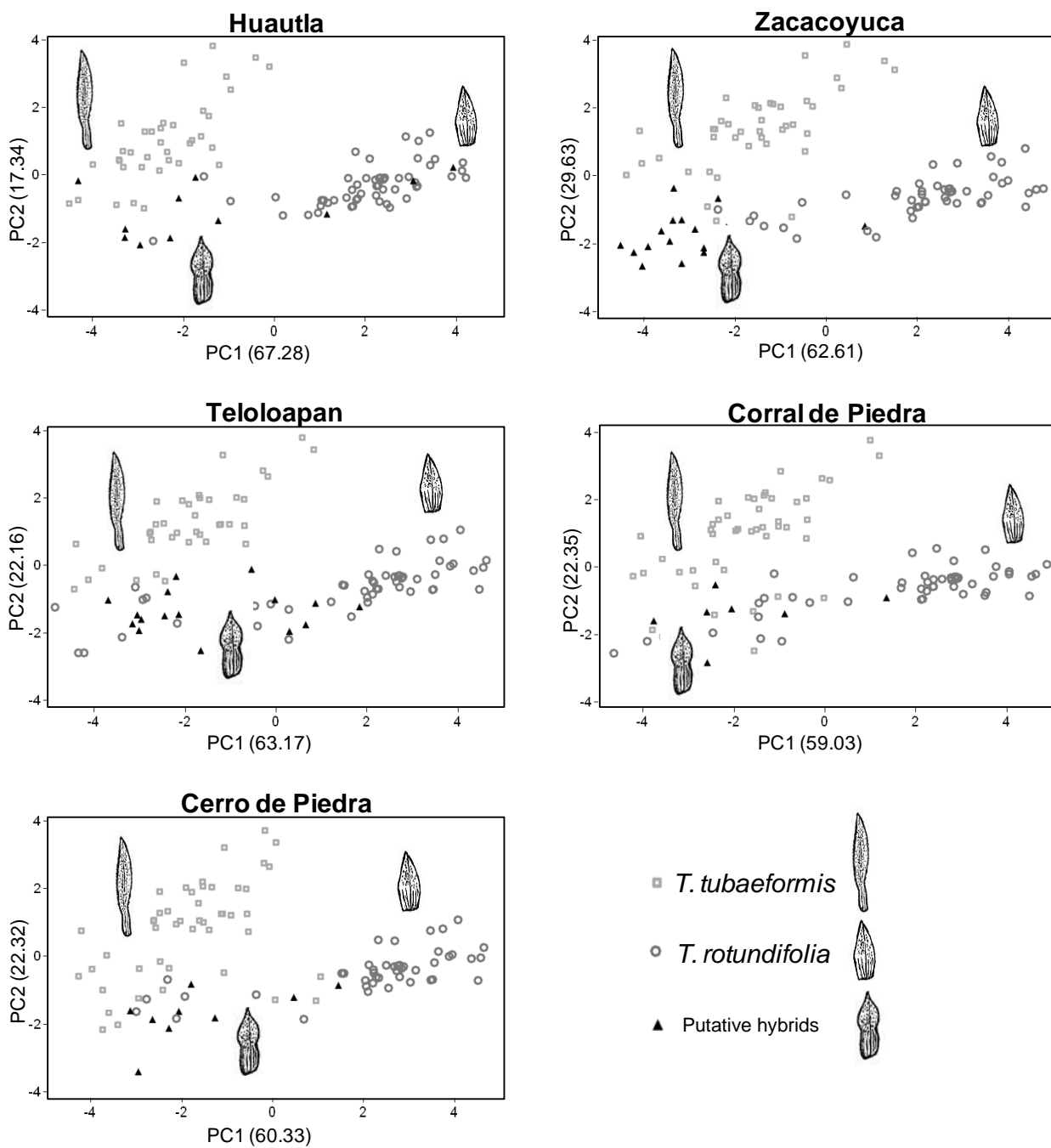


Fig. 7

PALEAE

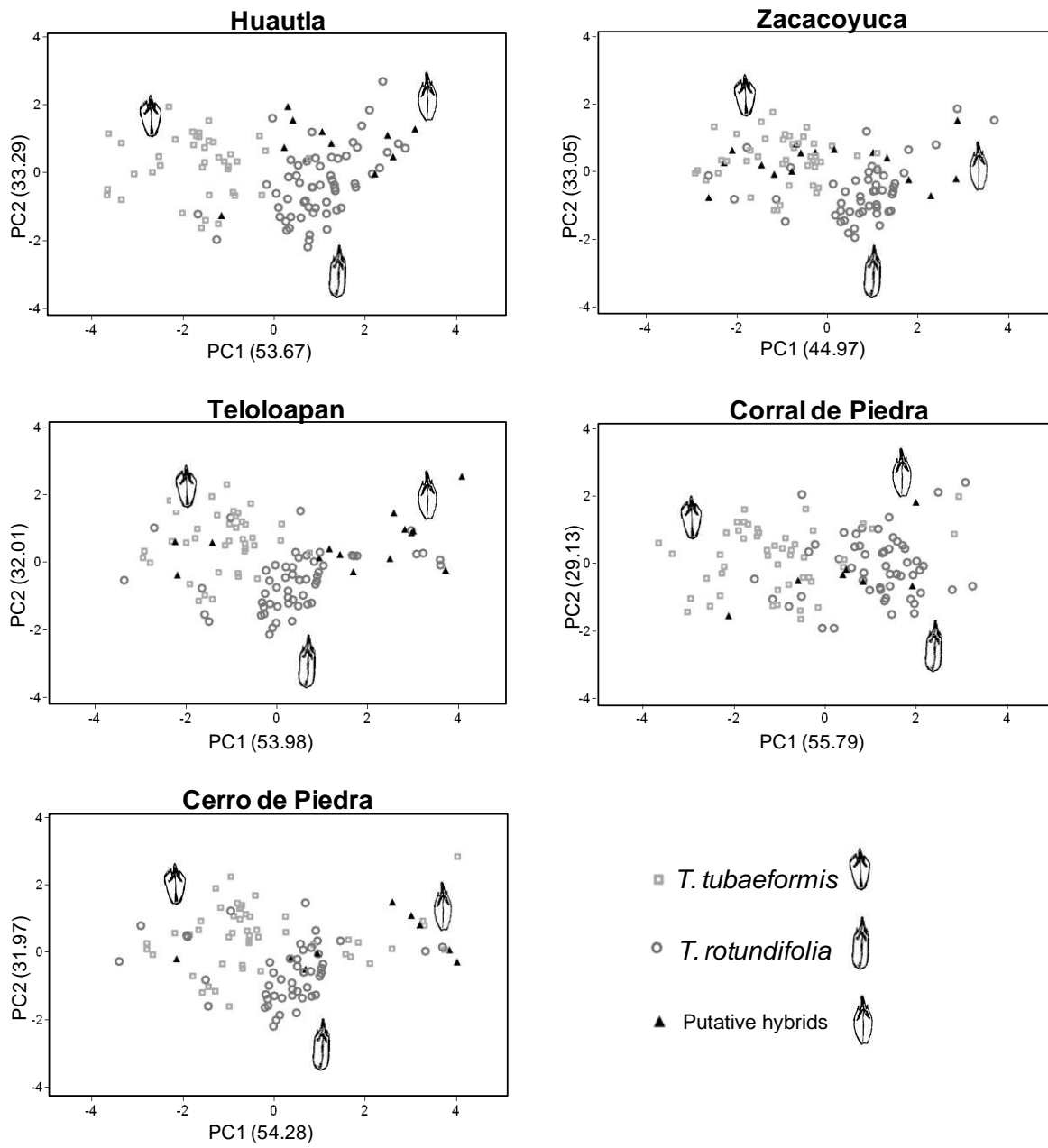


Fig. 8

ACHENE

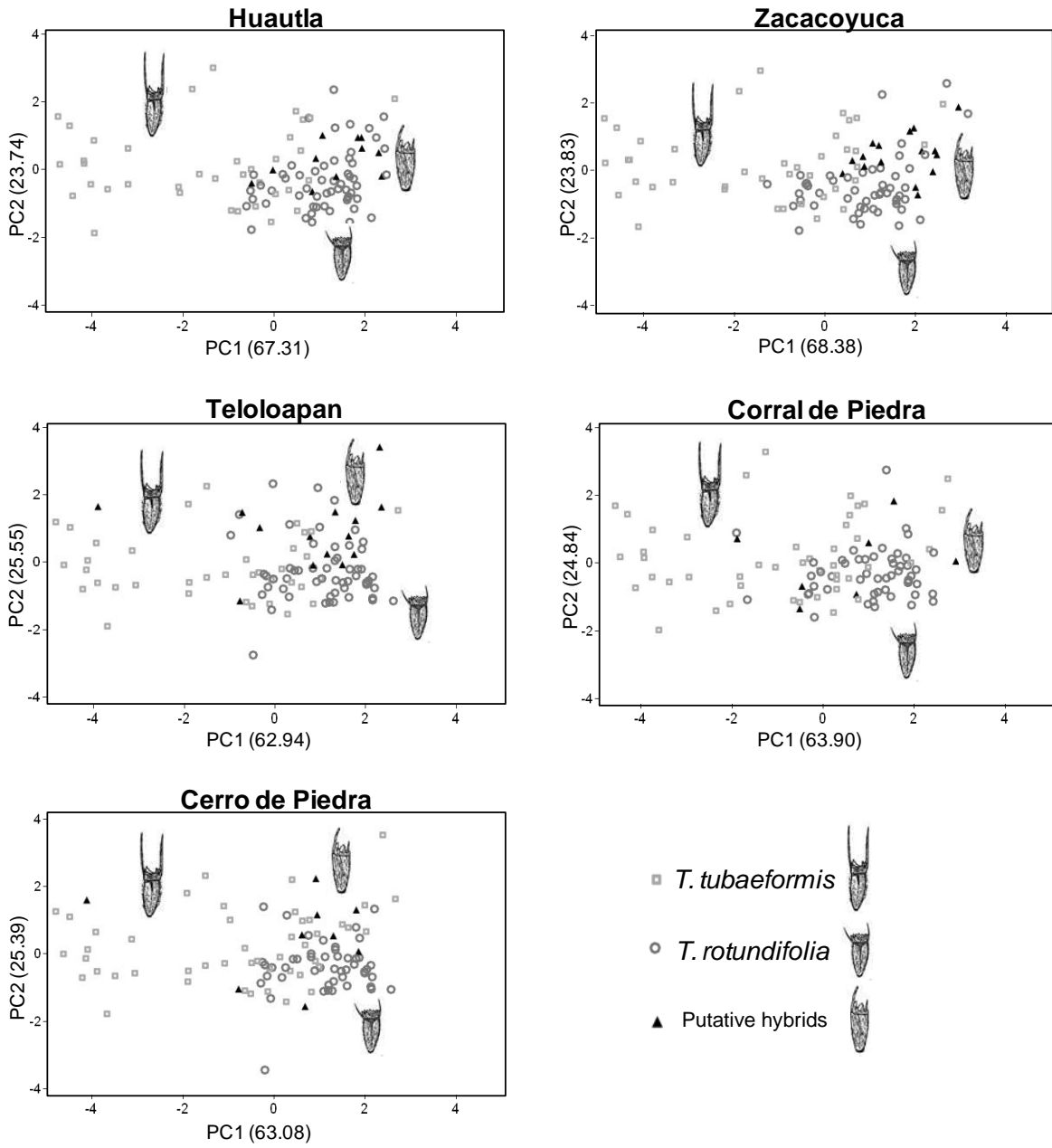


Fig. 9

Appendices 1. Phenotypic characterization (Schwarzbach et al. 2001) of the five putative hybrid zones of the *Thitonia tubaeformis* and *T. rotundifolia* complex in Mexico (mean \pm S.D.). Abbreviations of characters are described in Table 2. Asterisk indicate significant differences among taxa (one way ANOVA test; *= P<0.05, **P= <0.01, ***= P<0.001, n.s.= no significant differences). Mean values with the same letter for each taxa did not differ at P<0.05 after a multiple comparison test (Tukey's test).

Character	<i>T. rotundifolia</i>	Hybrid	<i>T. tubaeformis</i>	Hybrid phenotype
HUAUTLA				
<i>Foliar</i>				
TLL	204.13 ± 70.97 ^a	262.72 ± 89.53 ^b	207.40 ± 48.50 ^f	*** pos. transgressive
LL	149.97 ± 46.43 ^a	179.21 ± 54.76 ^b	154.53 ± 37.07 ^b	** pos. transgressive
LWP	60.32 ± 25.84 ^a	88.45 ± 39.4 ^b	59.59 ± 22.49 ^c	*** pos. transgressive
PLBW	36.38 ± 13.81 ^a	50.10 ± 22.09 ^a	33.74 ± 13.70 ^b	*** pos. transgressive
MWP	8.82 ± 3.69 ^a	13.36 ± 5.90 ^b	10.32 ± 3.64 ^c	** pos. transgressive
PW	2.35 ± 0.85 ^a	2.58 ± 0.80 ^b	2.19 ± 0.57 ^c	** pos. transgressive
MW	0.81 ± 0.28 ^a	0.97 ± 0.39 ^b	0.82 ± 0.26 ^a	*** pos. transgressive
MWL	105.65 ± 42.39 ^a	131.69 ± 55.93 ^b	98.60 ± 29.71 ^c	*** pos. transgressive
LWA	58.72 ± 20.00 ^a	71.92 ± 28.15 ^b	48.98 ± 14.35 ^c	** pos. transgressive
LWB	100.42 ± 41.73 ^a	125.46 ± 52.72 ^b	94.16 ± 28.09 ^c	*** pos. transgressive
NVL	8.68 ± 1.26 ^a	9.34 ± 1.53 ^b	8.90 ± 1.23 ^b	** tubaeformis-like
NLL	2.29 ± 1.06 ^a	1.30 ± 0.93 ^b	1.13 ± 0.48 ^b	* tubaeformis-like
LA	90.65 ± 65.61 ^a	131.77 ± 93.02 ^b	77.61 ± 37.67 ^c	*** pos. transgressive
WPA	2.16 ± 1.58 ^a	3.56 ± 2.22 ^b	2.94 ± 1.51 ^c	** pos. transgressive
<i>Ligule</i>				
LiL	33.89 ± 4.45 ^a	34.34 ± 5.70 ^b	42.31 ± 6.41 ^c	* intermediate
NVLi	23.75 ± 4.16 ^a	15.98 ± 4.94 ^b	14.59 ± 1.57 ^c	** intermediate
NDL	2.41 ± 0.64 ^a	2.28 ± 0.69 ^a	2.02 ± 0.35 ^b	** rotundifolia-like
MLiW	15.15 ± 1.93 ^a	11.96 ± 2.93 ^b	14.30 ± 2.78 ^c	*** neg. transgressive
LiWA	13.78 ± 2.95 ^a	10.83 ± 2.66 ^b	12.56 ± 2.46 ^c	*** neg. transgressive
LiWB	12.35 ± 1.60 ^a	10.08 ± 2.59 ^b	12.12 ± 2.57 ^c	*** neg. transgressive
<i>Disk floret</i>				
TLF	14.13 ± 1.09 ^a	12.12 ± 1.57 ^b	11.26 ± 0.86 ^c	*** intermediate
CTL	8.30 ± 0.95 ^a	7.18 ± 0.91 ^b	6.57 ± 0.53 ^c	*** intermediate
CTW	2.05 ± 0.25 ^a	1.84 ± 0.28 ^b	1.84 ± 0.22 ^b	*** tubaeformis-like
<i>Inflorescence</i>				
TIW	66.14 ± 11.23 ^a	74.32 ± 12.63 ^b	91.45 ± 14.52 ^c	*** intermediate
DW	20.52 ± 4.06 ^a	20.61 ± 4.25 ^a	22.15 ± 4.18 ^b	*** rotundifolia-like
PW	9.08 ± 2.27 ^a	6.98 ± 2.12 ^b	8.09 ± 1.77 ^c	*** neg. transgressive
NIP	12.63 ± 2.43 ^a	13.63 ± 2.37 ^b	10.42 ± 2.42 ^c	** pos. transgressive
NOP	6.26 ± 1.62 ^a	9.06 ± 2.24 ^b	11.22 ± 2.25 ^c	*** intermediate
NRF	12.83 ± 1.21 ^a	14.12 ± 1.92 ^b	13.93 ± 1.75 ^b	*** tubaeformis-like
IH	17.33 ± 2.84 ^a	15.76 ± 2.98 ^b	14.25 ± 2.84 ^c	*** intermediate
PL	18.93 ± 7.71 ^a	14.60 ± 4.30 ^b	22.23 ± 6.54 ^c	*** neg. transgressive
<i>Phyllary</i>				
IPL	15.40 ± 2.16 ^a	16.71 ± 2.95 ^b	20.08 ± 4.27 ^c	** intermediate
IPW	5.51 ± 1.15 ^a	4.68 ± 1.23 ^b	4.39 ± 1.24 ^c	*** intermediate
IPAW	4.66 ± 1.01 ^a	4.08 ± 1.19 ^b	3.66 ± 1.03 ^c	*** intermediate
IPBW	4.98 ± 1.11 ^a	3.97 ± 1.10 ^b	3.50 ± 0.82 ^c	* intermediate
OPL	21.45 ± 3.05 ^a	22.63 ± 2.66 ^a	29.85 ± 3.90 ^c	*** intermediate
OPW	7.01 ± 1.33 ^a	4.89 ± 1.58 ^b	4.98 ± 1.01 ^b	*** tubaeformis-like
OPAW	4.57 ± 0.99 ^a	3.81 ± 0.87 ^b	4.38 ± 0.87 ^c	*** neg. transgressive
OPBW	6.13 ± 1.37 ^a	4.00 ± 1.76 ^b	3.51 ± 0.69 ^c	*** intermediate
<i>Pale</i>				
NPaA	2.61 ± 0.64 ^a	2.61 ± 0.61 ^a	2.10 ± 0.74 ^b	** rotundifolia-like
PaL	13.91 ± 1.36 ^a	14.34 ± 1.94 ^b	11.91 ± 1.68 ^c	*** pos. transgressive
MWPa	5.58 ± 0.89 ^a	6.31 ± 0.81 ^b	5.98 ± 1.07 ^c	*** pos. transgressive
<i>Achene</i>				
NAA	1.47 ± 0.59 ^a	1.52 ± 0.53 ^a	1.23 ± 0.76 ^b	*** rotundifolia-like
AwL	4.96 ± 1.16 ^a	4.95 ± 1.17 ^a	3.20 ± 2.02 ^b	*** rotundifolia-like
AL	11.47 ± 1.69 ^a	11.73 ± 1.78 ^a	8.90 ± 2.37 ^b	*** rotundifolia-like
MAW	2.48 ± 0.38 ^a	2.65 ± 0.24 ^b	2.54 ± 0.39 ^c	** pos. transgressive

Character	<i>T. rotundifolia</i>	Hybrid	<i>T. tubaeformis</i>	Hybrid phenotype
ZACAOYUCA				
<i>Foliar</i>				
TLL	201.21 ± 70.97 ^a	207.18 ± 57.75 ^a	205.98 ± 49.43 ^a	n.s.
LL	145.50 ± 46.43 ^a	148.62 ± 35.71 ^{a,b}	153.05 ± 37.69 ^b	n.s.
LWP	61.82 ± 25.84 ^a	61.65 ± 27.56 ^a	59.34 ± 22.71 ^a	n.s.
PLBW	37.22 ± 13.81 ^a	30.67 ± 13.93 ^a	33.48 ± 13.52 ^a	n.s.
MWP	8.22 ± 3.69 ^a	9.22 ± 3.39 ^b	10.25 ± 3.67 ^c	** intermediate
PW	2.37 ± 0.85 ^a	2.36 ± 0.66 ^{a,b}	2.19 ± 0.57 ^b	n.s.
MW	0.81 ± 0.28 ^a	0.73 ± 0.23 ^b	0.81 ± 0.26 ^c	*** neg. transgressive
MWL	104.94 ± 42.39 ^a	105.42 ± 36.26 ^a	98.13 ± 30.13 ^a	n.s.
LWA	55.94 ± 20.00 ^a	50.26 ± 15.46 ^b	48.74 ± 14.38 ^b	** tubaeformis-like
LWB	99.42 ± 41.73 ^a	98.19 ± 35.63 ^a	93.81 ± 28.42 ^a	n.s.
NVL	8.76 ± 1.26 ^c	9.75 ± 1.48 ^b	8.90 ± 1.23 ^c	*** pos. transgressive
NLL	2.50 ± 1.06 ^c	1.11 ± 0.92 ^b	1.11 ± 0.45 ^b	** tubaeformis-like
LA	84.18 ± 65.61 ^a	86.20 ± 47.4 ^a	77.16 ± 38.77 ^a	n.s.
WPA	2.12 ± 1.58 ^a	2.59 ± 1.60 ^b	2.90 ± 1.53 ^b	** rotundifolia-like
<i>Ligule</i>				
LiL	33.89 ± 4.45 ^d	34.80 ± 6.46 ^b	42.31 ± 6.41 ^c	** intermediate
NVLi	23.75 ± 4.16 ^c	14.51 ± 3.65 ^b	14.59 ± 1.57 ^b	*** tubaeformis-like
NDL	2.41 ± 0.64 ^d	2.02 ± 0.47 ^b	2.02 ± 0.35 ^b	*** tubaeformis-like
MLiW	15.15 ± 1.93 ^a	11.68 ± 2.02 ^b	14.30 ± 2.78 ^c	*** neg. transgressive
LiWA	13.78 ± 2.95 ^d	10.30 ± 1.95 ^b	12.56 ± 2.46 ^c	*** neg. transgressive
LiWB	12.35 ± 1.60 ^d	10.08 ± 1.83 ^b	12.12 ± 2.57 ^c	*** neg. transgressive
<i>Disk floret</i>				
TLF	14.29 ± 1.09 ^d	11.39 ± 1.70 ^b	11.27 ± 0.86 ^b	*** tubaeformis-like
CTL	8.43 ± 0.95 ^a	6.58 ± 1.34 ^b	6.59 ± 0.53 ^b	*** tubaeformis-like
CTW	2.02 ± 0.25 ^a	1.66 ± 0.21 ^b	1.82 ± 0.22 ^c	*** neg. transgressive
<i>Inflorescence</i>				
TIW	66.29 ± 11.23 ^a	75.59 ± 13.25 ^b	90.21 ± 14.52 ^c	*** intermediate
DW	20.19 ± 4.06 ^c	19.69 ± 3.38 ^a	21.98 ± 4.18 ^b	*** rotundifolia-like
PW	8.84 ± 2.27 ^a	3.88 ± 1.90 ^b	7.76 ± 1.77 ^c	*** neg. transgressive
NIP	12.51 ± 2.43 ^a	12.61 ± 2.13 ^a	10.67 ± 2.42 ^b	*** rotundifolia-like
NOP	6.21 ± 1.62 ^d	8.81 ± 1.71 ^b	10.99 ± 2.25 ^c	*** intermediate
NRF	12.95 ± 1.21 ^a	13.12 ± 0.98 ^a	13.92 ± 1.75 ^b	** rotundifolia-like
IH	17.33 ± 2.84 ^d	15.86 ± 3.47 ^b	14.46 ± 2.84 ^c	*** intermediate
PL	19.10 ± 7.71 ^a	9.43 ± 3.07 ^b	20.93 ± 6.54 ^c	*** neg. transgressive
<i>Phyllary</i>				
IPL	15.36 ± 2.21 ^a	14.17 ± 2.15 ^a	19.62 ± 4.38 ^b	*** neg. transgressive
IPW	5.58 ± 1.14 ^d	3.82 ± 0.85 ^b	4.39 ± 1.21 ^c	*** neg. transgressive
IPAW	4.61 ± 0.98 ^a	3.30 ± 0.79 ^b	3.67 ± 1.02 ^b	*** neg. transgressive
IPBW	5.05 ± 1.13 ^a	3.07 ± 0.69 ^b	3.50 ± 0.83 ^b	*** neg. transgressive
OPL	20.82 ± 3.07 ^d	19.05 ± 2.91 ^b	28.95 ± 4.69 ^c	*** neg. transgressive
OPW	6.90 ± 1.46 ^c	3.73 ± 0.81 ^b	4.89 ± 1.03 ^c	*** neg. transgressive
OPAW	4.98 ± 12.54 ^a	3.23 ± 0.69 ^b	4.30 ± 0.88 ^c	*** neg. transgressive
OPBW	5.99 ± 1.44 ^a	2.92 ± 0.78 ^b	3.36 ± 0.73 ^c	*** neg. transgressive
<i>Pale</i>				
NPaA	2.49 ± 0.72 ^a	1.92 ± 0.85 ^b	2.08 ± 0.75 ^c	*** neg. transgressive
PaL	13.64 ± 1.38 ^d	13.93 ± 1.98 ^b	12.03 ± 1.78 ^c	* pos. transgressive
MWPa	5.50 ± 0.92 ^d	6.00 ± 0.72 ^b	6.15 ± 1.38 ^c	*** intermediate
<i>Achene</i>				
NAA	1.47 ± 0.59 ^a	1.94 ± 0.25 ^b	1.23 ± 0.76 ^c	*** pos. transgressive
AwL	4.96 ± 1.16 ^a	5.04 ± 0.92 ^a	3.20 ± 2.02 ^c	*** rotundifolia-like
AL	11.47 ± 1.69 ^d	11.47 ± 1.33 ^a	8.90 ± 2.37 ^c	*** rotundifolia-like
MAW	2.48 ± 0.38 ^d	2.70 ± 0.28 ^b	2.54 ± 0.39 ^c	*** pos. transgressive

Character	<i>T. rotundifolia</i>	Hybrid	<i>T. tubaeformis</i>	Hybrid phenotype
TEOLOAPAN				
<i>Foliar</i>				
TLL	200.87 ± 70.97 ^a	184.32 ± 52.07 ^b	207.40 ± 48.50 ^c	*** neg. transgressive
LL	145.19 ± 46.43 ^a	134.90 ± 33.37 ^a	154.53 ± 37.07 ^b	* rotundifolia-like
LWP	62.01 ± 25.84 ^a	51.65 ± 22.65 ^b	59.60 ± 22.49 ^a	*** neg. transgressive
PLBW	37.64 ± 13.81 ^a	33.78 ± 14.49 ^a	33.75 ± 13.70 ^a	n.s.
MWP	8.10 ± 3.69 ^a	7.70 ± 3.44 ^a	10.32 ± 3.64 ^b	*** rotundifolia-like
PW	2.23 ± 0.85 ^a	1.90 ± 0.58 ^b	2.19 ± 0.57 ^c	*** neg. transgressive
MW	0.79 ± 0.28 ^a	0.56 ± 0.21 ^b	0.83 ± 0.26 ^c	*** neg. transgressive
MWL	101.95 ± 42.39 ^a	90.60 ± 31.16 ^a	98.60 ± 29.71 ^a	n.s.
LWA	54.81 ± 20.00 ^a	49.26 ± 16.57 ^b	48.98 ± 14.35 ^b	** tubaeformis-like
LWB	96.98 ± 41.73 ^a	88.98 ± 30.47 ^b	94.16 ± 28.09 ^a	n.s.
NVL	8.80 ± 1.26 ^a	9.35 ± 1.63 ^b	8.90 ± 1.23 ^c	*** pos. transgressive
NLL	2.17 ± 1.06 ^a	1.41 ± 0.64 ^b	1.13 ± 0.48 ^c	* intermediate
LA	81.83 ± 65.61 ^a	71.80 ± 40.30 ^a	77.61 ± 37.67 ^a	n.s.
WPA	2.16 ± 1.58 ^a	1.81 ± 1.11 ^a	2.94 ± 1.51 ^b	* rotundifolia-like
<i>Ligule</i>				
LiL	33.89 ± 4.45 ^a	37.57 ± 4.78 ^b	42.31 ± 6.41 ^c	*** intermediate
NVLi	23.75 ± 4.16 ^a	16.58 ± 4.49 ^b	14.59 ± 1.57 ^c	*** intermediate
NDL	2.41 ± 0.64 ^a	1.77 ± 0.77 ^b	2.02 ± 0.35 ^c	*** neg. transgressive
MLiW	15.15 ± 1.93 ^a	14.20 ± 2.48 ^b	14.30 ± 2.78 ^c	* neg. transgressive
LiWA	13.78 ± 2.95 ^a	12.55 ± 2.29 ^b	12.56 ± 2.46 ^b	** tubaeformis-like
LiWB	12.35 ± 1.60 ^a	11.88 ± 2.09 ^b	12.12 ± 2.57 ^c	*** neg. transgressive
<i>Disk floret</i>				
TLF	13.80 ± 1.09 ^a	12.24 ± 1.99 ^b	11.26 ± 0.86 ^c	*** intermediate
CTL	8.23 ± 0.95 ^a	7.45 ± 1.39 ^b	6.57 ± 0.53 ^c	*** intermediate
CTW	2.00 ± 0.25 ^a	1.67 ± 0.24 ^b	1.84 ± 0.22 ^c	*** neg. transgressive
<i>Inflorescence</i>				
TIW	68.23 ± 11.23 ^a	76.00 ± 11.84 ^b	91.45 ± 14.52 ^c	*** intermediate
DW	20.52 ± 4.06 ^a	20.92 ± 4.04 ^{a,b}	22.15 ± 4.18 ^b	n.s.
PW	8.48 ± 2.27 ^a	6.17 ± 2.97 ^b	8.09 ± 1.77 ^c	*** neg. transgressive
NIP	12.41 ± 2.43 ^a	12.11 ± 2.03 ^a	10.42 ± 2.42 ^b	** rotundifolia-like
NOP	6.57 ± 1.62 ^a	7.77 ± 1.68 ^b	11.22 ± 2.25 ^c	** intermediate
NRF	13.08 ± 1.21 ^a	12.86 ± 1.42 ^a	13.93 ± 1.75 ^b	*** rotundifolia-like
IH	17.18 ± 2.84 ^a	16.19 ± 3.74 ^b	14.25 ± 2.84 ^c	*** intermediate
PL	18.51 ± 7.71 ^a	12.58 ± 5.56 ^b	22.23 ± 6.54 ^c	*** neg. transgressive
<i>Phyllary</i>				
IPL	15.45 ± 2.33 ^a	14.85 ± 2.57 ^a	20.08 ± 4.27 ^b	*** neg. transgressive
IPW	5.31 ± 1.28 ^a	4.04 ± 1.07 ^b	4.39 ± 1.24 ^c	*** neg. transgressive
IPAW	4.41 ± 1.07 ^a	3.51 ± 0.97 ^b	3.66 ± 1.04 ^c	** neg. transgressive
IPBW	4.78 ± 1.26 ^a	3.54 ± 0.91 ^b	3.50 ± 0.82 ^b	** tubaeformis-like
OPL	21.47 ± 2.96 ^a	22.30 ± 3.31 ^b	29.85 ± 3.90 ^c	*** intermediate
OPW	6.70 ± 1.64 ^a	5.01 ± 1.79 ^b	4.98 ± 1.01 ^b	** tubaeformis-like
OPAW	4.48 ± 1.01 ^a	3.53 ± 0.65 ^b	4.38 ± 0.87 ^c	*** neg. transgressive
OPBW	5.76 ± 1.69 ^a	4.11 ± 1.83 ^b	3.39 ± 0.69 ^c	*** intermediate
<i>Pale</i>				
NPaA	2.52 ± 0.73 ^a	2.64 ± 0.88 ^b	2.10 ± 0.74 ^c	*** pos. transgressive
PaL	13.89 ± 1.68 ^a	14.94 ± 2.14 ^b	11.91 ± 1.68 ^c	** pos. transgressive
MWPa	5.50 ± 0.88	6.41 ± 0.90	6.06 ± 1.07 ^c	*** pos. transgressive
<i>Achene</i>				
NAA	1.47 ± 0.59 ^a	1.39 ± 0.68 ^a	1.23 ± 0.76 ^b	** rotundifolia-like
AwL	4.96 ± 1.16 ^a	4.21 ± 1.70 ^b	3.20 ± 2.02 ^c	*** intermediate
AL	11.47 ± 1.69 ^a	11.06 ± 1.62 ^b	8.90 ± 2.37 ^c	*** intermediate
MAW	2.48 ± 0.38 ^a	2.81 ± 0.33 ^b	2.54 ± 0.39 ^c	*** pos. transgressive

Character	<i>T. rotundifolia</i>	Hybrid	<i>T. tubaeformis</i>	Hybrid phenotype
CORRAL DE PIEDRA				
<i>Foliar</i>				
TLL	196.72 ± 70.97 ^a	189.62 ± 56.00 ^b	206.18 ± 47.96 ^b	n.s.
LL	142.54 ± 46.43 ^a	128.65 ± 35.86 ^b	151.40 ± 36.30 ^c	** rotundifolia-like
LWP	60.34 ± 25.84 ^a	61.90 ± 23.05 ^a	59.86 ± 21.92 ^a	n.s.
PLBW	36.80 ± 13.81 ^a	33.04 ± 10.72 ^a	34.25 ± 13.19 ^a	n.s.
MWP	8.14 ± 3.69 ^b	10.80 ± 4.50 ^b	10.42 ± 3.71 ^b	*** tubaeformis-like
PW	2.28 ± 0.85 ^a	2.17 ± 0.61 ^{a,b}	2.19 ± 0.56 ^b	n.s.
MW	0.79 ± 0.28 ^a	0.65 ± 0.23 ^b	0.79 ± 0.26 ^c	** neg. transgressive
MWL	104.13 ± 42.39 ^a	98.59 ± 33.69 ^a	99.46 ± 29.71 ^a	n.s.
LWA	56.33 ± 20.00 ^b	47.95 ± 15.83 ^a	49.80 ± 14.54 ^a	** tubaeformis-like
LWB	98.92 ± 41.73 ^a	92.55 ± 33.03 ^a	95.32 ± 28.24 ^a	n.s.
NVL	8.55 ± 1.26 ^a	8.95 ± 1.42 ^a	8.94 ± 1.27 ^a	n.s.
NLL	2.21 ± 1.06 ^a	1.04 ± 0.34 ^b	1.11 ± 0.45 ^b	*** tubaeformis-like
LA	82.36 ± 65.61 ^a	82.10 ± 46.65 ^a	77.61 ± 38.50 ^a	n.s.
WPA	2.12 ± 1.58 ^a	3.50 ± 2.11 ^b	2.94 ± 1.61 ^b	* tubaeformis-like
<i>Ligule</i>				
LiL	33.89 ± 4.45 ^b	35.38 ± 6.84 ^b	42.31 ± 6.41 ^c	*** intermediate
NVLi	23.75 ± 4.16 ^a	17.82 ± 3.86 ^b	14.59 ± 1.57 ^c	*** intermediate
NDL	2.41 ± 0.64 ^a	2.33 ± 0.52 ^a	2.02 ± 0.35 ^b	** rotundifolia-like
MLiW	15.15 ± 1.93 ^a	14.06 ± 1.69 ^b	14.30 ± 2.78 ^c	** neg. transgressive
LiWA	13.78 ± 2.95 ^a	12.35 ± 1.54 ^b	12.56 ± 2.46 ^b	*** tubaeformis-like
LiWB	12.35 ± 1.60 ^b	11.78 ± 1.53 ^b	12.12 ± 2.57 ^c	*** neg. transgressive
<i>Disk floret</i>				
TLF	14.32 ± 1.09 ^a	12.07 ± 2.29 ^b	11.65 ± 0.86 ^c	*** intermediate
CTL	8.52 ± 0.95 ^a	7.26 ± 1.65 ^b	6.87 ± 0.53 ^c	*** intermediate
CTW	1.96 ± 0.25 ^a	1.49 ± 0.20 ^b	1.74 ± 0.22 ^c	*** neg. transgressive
<i>Inflorescence</i>				
TIW	66.39 ± 11.23 ^a	75.16 ± 10.43 ^b	88.44 ± 14.52 ^c	*** intermediate
DW	19.78 ± 4.06 ^b	18.90 ± 3.54 ^b	21.61 ± 4.18 ^c	* neg. transgressive
PW	9.14 ± 2.27 ^a	8.11 ± 2.91 ^b	7.87 ± 1.77 ^b	n.s.
NIP	12.21 ± 2.43 ^a	11.69 ± 2.36 ^{a,b}	10.76 ± 2.42 ^b	n.s.
NOP	6.26 ± 1.62 ^a	7.64 ± 1.87 ^b	10.61 ± 2.25 ^c	** intermediate
NRF	12.94 ± 1.21 ^a	13.38 ± 1.10 ^{a,b}	13.80 ± 1.75 ^b	n.s.
IH	17.38 ± 2.84 ^a	14.91 ± 3.10 ^b	14.59 ± 2.84 ^b	** tubaeformis-like
PL	20.98 ± 7.71 ^a	15.57 ± 7.63 ^c	21.49 ± 6.54 ^c	*** neg. transgressive
<i>Phyllary</i>				
IPL	15.31 ± 2.52 ^a	14.63 ± 3.55 ^a	18.97 ± 4.65 ^b	** rotundifolia-like
IPW	5.38 ± 1.30 ^a	3.98 ± 1.34 ^b	4.26 ± 1.22 ^b	*** tubaeformis-like
IPAW	4.39 ± 1.13 ^a	3.35 ± 1.12 ^b	3.55 ± 1.02 ^b	*** tubaeformis-like
IPBW	4.91 ± 1.24 ^a	3.44 ± 1.32 ^b	3.47 ± 0.86 ^b	*** tubaeformis-like
OPL	22.37 ± 4.42 ^a	23.04 ± 4.13 ^a	28.83 ± 4.79 ^b	*** rotundifolia-like
OPW	6.99 ± 1.57 ^a	4.96 ± 2.23 ^b	4.96 ± 1.31 ^b	*** tubaeformis-like
OPAW	4.34 ± 1.17 ^a	2.99 ± 0.68 ^b	4.09 ± 1.00 ^c	*** neg. transgressive
OPBW	6.09 ± 1.54	4.19 ± 2.19 ^b	3.51 ± 1.16 ^c	*** intermediate
<i>Pale</i>				
NPaA	2.50 ± 0.68 ^a	2.36 ± 0.71 ^b	2.14 ± 0.74 ^c	*** intermediate
PaL	13.64 ± 1.67 ^a	13.05 ± 2.00 ^b	12.15 ± 1.94 ^c	* intermediate
MWPa	5.32 ± 0.90 ^b	5.36 ± 1.15 ^a	5.98 ± 1.03 ^b	** rotundifolia-like
<i>Achene</i>				
NAA	1.47 ± 0.59 ^a	1.66 ± 0.53 ^a	1.23 ± 0.76 ^b	*** pos. transgressive
AwL	4.96 ± 1.16 ^a	4.13 ± 1.56 ^b	3.20 ± 2.02 ^c	*** intermediate
AL	11.47 ± 1.69 ^a	10.10 ± 2.37 ^b	8.90 ± 2.37 ^c	*** intermediate
MAW	2.48 ± 0.38 ^a	2.53 ± 0.30 ^b	2.54 ± 0.39 ^b	n.s.

Character	<i>T. rotundifolia</i>	Hybrid	<i>T. tubaeformis</i>	Hybrid phenotype
CERRO DE PIEDRA				
<i>Foliar</i>				
TLL	201.43 ± 70.97 ^a	191.17 ± 38.59 ^b	205.28 ± 46.18 ^a	*** neg. transgressive
LL	149.05 ± 46.43 ^a	137.46 ± 24.93 ^b	154.53 ± 37.07 ^b	*** neg. transgressive
LWP	60.32 ± 25.84 ^a	55.60 ± 15.24 ^b	57.52 ± 23.11 ^b	*** tubaeformis-like
PLBW	36.24 ± 13.01 ^a	35.72 ± 10.56 ^{ab}	32.15 ± 13.73 ^b	** parent-like
MWP	8.21 ± 3.04 ^a	8.00 ± 2.34 ^a	11.04 ± 4.16 ^b	*** rotundifolia-like
PW	2.36 ± 0.81 ^a	1.93 ± 0.44 ^b	2.62 ± 0.34 ^c	*** neg. transgressive
MW	0.76 ± 0.17 ^a	0.61 ± 0.12 ^b	0.78 ± 0.21 ^a	** neg. transgressive
MWL	105.65 ± 42.39 ^a	93.74 ± 21.43 ^b	96.41 ± 29.04 ^b	*** tubaeformis-like
LWA	55.64 ± 18.42 ^a	48.17 ± 12.43 ^b	46.35 ± 13.43 ^b	*** tubaeformis-like
LWB	102.35 ± 41.12 ^a	89.38 ± 22.04 ^b	94.16 ± 28.09 ^c	*** neg. transgressive
NVL	8.48 ± 1.26 ^a	9.57 ± 1.20 ^b	8.90 ± 1.23 ^c	** pos. transgressive
NLL	2.34 ± 1.44 ^a	1.30 ± 0.54 ^b	1.10 ± 0.48 ^c	*** intermediate
LA	87.52 ± 58.41 ^a	72.01 ± 26.49 ^b	75.12 ± 37.00 ^b	*** tubaeformis-like
WPA	2.06 ± 1.33 ^a	2.09 ± 0.77 ^b	3.06 ± 1.14 ^c	* rotundifolia-like
<i>Ligule</i>				
LiL	33.89 ± 4.45 ^a	37.39 ± 3.44 ^b	42.31 ± 6.41 ^c	*** intermediate
NVLi	23.98 ± 4.07 ^a	16.33 ± 4.48 ^b	13.76 ± 1.41 ^c	*** intermediate
NDL	2.63 ± 0.62 ^a	1.78 ± 0.42 ^b	2.13 ± 0.34 ^c	*** neg. transgressive
MLiW	15.63 ± 1.84 ^a	14.07 ± 2.01 ^b	13.30 ± 2.23 ^c	*** intermediate
LiWA	13.64 ± 2.08 ^a	12.09 ± 1.94 ^b	12.14 ± 2.02 ^c	*** neg. transgressive
LiWB	12.61 ± 1.53 ^a	11.98 ± 1.53 ^b	11.45 ± 2.14 ^c	** intermediate
<i>Disk floret</i>				
TLF	14.13 ± 1.09 ^a	12.09 ± 1.84 ^b	11.15 ± 0.81 ^c	*** intermediate
CTL	8.30 ± 0.95 ^a	7.43 ± 1.11 ^b	6.33 ± 0.36 ^c	*** intermediate
CTW	2.18 ± 0.25 ^a	1.68 ± 0.13 ^b	1.84 ± 0.22 ^c	*** neg. transgressive
<i>Inflorescence</i>				
TIW	64.17 ± 11.08 ^a	77.77 ± 9.38 ^b	91.33 ± 14.02 ^c	*** intermediate
DW	20.32 ± 4.11 ^a	21.21 ± 3.23 ^a	23.63 ± 4.17 ^b	*** rotundifolia-like
PW	9.17 ± 2.13 ^a	5.92 ± 2.85 ^b	8.34 ± 1.15 ^c	*** neg. transgressive
NIP	11.46 ± 2.27 ^a	12.43 ± 1.38 ^b	10.11 ± 2.13 ^c	*** pos. transgressive
NOP	6.17 ± 1.52 ^a	7.99 ± 1.31 ^b	10.25 ± 2.16 ^c	*** intermediate
NRF	12.31 ± 1.17 ^a	13.20 ± 1.07 ^b	13.42 ± 1.33 ^b	*** tubaeformis-like
IH	17.06 ± 2.81 ^a	16.33 ± 3.09 ^b	13.22 ± 2.37 ^c	*** intermediate
PL	19.22 ± 7.31 ^a	11.82 ± 4.49 ^b	22.23 ± 6.54 ^a	*** neg. transgressive
<i>Phyllary</i>				
IPL	15.15 ± 2.13 ^a	14.88 ± 1.69 ^b	19.15 ± 4.53 ^c	*** neg. transgressive
IPW	5.60 ± 1.11 ^a	3.96 ± 0.76 ^b	4.43 ± 1.15 ^c	*** neg. transgressive
IPAW	4.87 ± 1.01 ^a	3.99 ± 0.66 ^b	3.36 ± 0.97 ^c	*** intermediate
IPBW	4.66 ± 1.07 ^a	3.53 ± 0.64 ^b	3.24 ± 0.63 ^c	*** intermediate
OPL	21.00 ± 3.14 ^a	22.64 ± 2.05 ^b	27.24 ± 3.08 ^c	*** intermediate
OPW	6.89 ± 1.33 ^a	5.29 ± 1.84 ^b	4.06 ± 0.96 ^c	*** intermediate
OPAW	4.04 ± 0.93 ^a	5.01 ± 6.81 ^b	4.37 ± 0.85 ^c	*** pos. transgressive
OPBW	6.13 ± 1.37 ^a	4.22 ± 1.70 ^b	3.67 ± 0.61 ^c	*** intermediate
<i>Pale</i>				
NPAA	2.47 ± 0.64 ^a	2.57 ± 0.63 ^b	1.97 ± 0.70 ^b	*** rotundifolia-like
PaL	13.46 ± 1.08 ^a	14.71 ± 1.94 ^b	11.06 ± 1.68 ^c	*** pos. transgressive
MWPa	5.58 ± 0.89 ^a	6.24 ± 0.66 ^b	5.78 ± 1.04 ^c	*** pos. transgressive
<i>Achene</i>				
NAA	1.47 ± 0.59 ^a	1.37 ± 0.48 ^b	1.18 ± 0.76 ^c	*** intermediate
AwL	5.08 ± 1.18 ^a	4.39 ± 0.99 ^b	3.20 ± 2.02 ^c	*** intermediate
AL	11.97 ± 1.69 ^a	10.15 ± 1.10 ^b	8.90 ± 2.37 ^c	*** intermediate
MAW	2.48 ± 0.38 ^a	2.75 ± 0.31 ^b	2.43 ± 0.39 ^c	*** pos. transgressive

V. Discusión

Barreras a la hibridación introgresiva entre Tithonia tubaeformis y T. rotundifolia

Un requisito para que exista el fenómeno de hibridación es el solapamiento espacial de las especies. Es decir, que ambas especies coexistan en la misma localidad. Sin embargo, es importante notar que el hecho de que dos especies ocurran en simpatria no derivará necesariamente en un fenómeno de hibridación debido a la presencia de barreras precigóticas y postcigóticas.

Tithonia tubaeformis y *T. rotundifolia* muestran un amplio intervalo de distribución geográfica. Sin embargo, existe una divergencia parcial en la preferencia de hábitat de cada especie, presentando *T. tubaeformis* una preferencia por ambientes templados, mientras que *T. rotundifolia* prefiere ambientes xéricos, principalmente en bosques tropicales (La Duke, 1982). A pesar de mostrar una divergencia en las preferencias de hábitat, actualmente estas especies se encuentran en simpatria en un buen número de localidades. Esto puede deberse en parte a los constantes disturbios causados por las prácticas agrícolas que favorecen la eliminación de la cobertura forestal. Debido a que estas especies se establecen en ambientes con algún tipo de disturbio, estas prácticas favorecen la expansión de su área de distribución, aumentando la posibilidad de que *T. tubaeformis* y *T. rotundifolia* entren en simpatria.

Sin embargo, aun cuando existen localidades simpátricas de *T. tubaeformis* y *T. rotundifolia*, la hibridación no ocurre en todos los sitios (Tovar-Sánchez, observación en campo). La ausencia de individuos híbridos en estos sitios puede explicarse por diferencias fenológicas florales que muestran una variación espacial y temporal (La Duke, 1982). De acuerdo con observaciones en campo, existen sitios en los que no existe un solapamiento de las épocas de floración de estas especies, presentándose en primer lugar la floración de *T. tubaeformis* y posteriormente la de *T. rotundifolia*. En algunas especies de compuestas, existe evidencia de algunos factores ambientales que pueden afectar la fenología floral (Weber y Schmid, 1998; Calle et al., 2009; Hülber et al., 2010). En este sentido, las observaciones para *T. tubaeformis* y *T. rotundifolia* pueden explicarse por el inicio de la

temporada de lluvias, ya que ésta puede afectar diferencialmente la fenología de estas especies.

En este sentido, la variación temporal en las épocas de floración parece actuar como una barrera reproductiva en *T. tubaeformis* y *T. rotundifolia*. Sin embargo, ya que se ha demostrado hibridación entre estas especies (Rodríguez-Carmona, 2010), es claro que existen sitios en los que existe un solapamiento en las épocas de floración. Como ya se ha mencionado, el inicio de la temporada de lluvias puede ser un factor importante en este sentido. Debido a que el inicio de la temporada de lluvias varía tanto espacial como temporalmente en México, la floración de *T. tubaeformis* y *T. rotundifolia* estará en función del inicio ésta, por lo tanto la fenología floral actúa como una barrera reproductiva parcial entre estas especies.

Por otro lado, es interesante abordar el tema de la fertilidad de los híbridos. La Duke (1982) reporta en una revisión del género *Tithonia* que los híbridos entre *T. tubaeformis* y *T. rotundifolia* exhiben una importante reducción en la fertilidad (viabilidad de polen de 23%) con respecto a las especies parentales. Debido a esto, La Duke considera que existe esterilidad híbrida y que ésta actúa como una fuerte barrera postcigótica. Bajo la perspectiva de La Duke, se plantea un escenario en el cual la selección natural actuaría en contra de los individuos híbridos, favoreciendo el desarrollo de fuertes barreras reproductivas entre *T. tubaeformis* y *T. rotundifolia*. Sin embargo, actualmente existe hibridación introgresiva entre *T. tubaeformis* y *T. rotundifolia* (Rodríguez-Carmona, 2010). Si bien, los híbridos entre estas especies presentan una reducción en cuanto a la viabilidad de polen con respecto a individuos de las especies parentales (La Duke, 1982), es importante mencionar que no todos los individuos híbridos son uniformes en este aspecto (McKenzie et al., 2008; Mooring, 2008). En este sentido, pueden existir individuos híbridos con mayor viabilidad de polen con respecto a la media de la población híbrida, abriendo la posibilidad de que exista hibridación introgresiva. Incluso, si todos los individuos híbridos exhibieran la misma viabilidad de polen (23%) la probabilidad para generar retrocruzas viables es baja, pero existe. Por ejemplo, en un complejo de especies cercanas a *Tithonia* sp. conformado por *Helianthus annuus* y *H. petiolaris* se encontró que la fertilidad de los híbridos era de 10% (Heiser, 1947; Rieseberg et al., 1998). Con estos bajos niveles de

viabilidad de polen, se ha encontrado un extenso fenómeno de hibridación introgresiva e incluso se han generado especies híbridas a partir de las especies de este complejo (Schwarzbach et al., 2001; Lexer et al., 2003).

*Zonas híbridas del complejo *Tithonia tubaeformis* × *Tithonia rotundifolia**

En una gran cantidad de trabajos existe cierta dificultad para asignar casos específicos de zonas híbridas a algunos de los modelos descritos. Incluso se ha propuesto que cada zona híbrida posee sus particularidades, por lo que la asignación a un modelo en específico resulta difícil (Arnold, 1997). Más aún, muchos de los modelos han sido derivados a partir de casos de hibridación en animales, por lo que la comparación con zonas híbridas de plantas resulta difícil debido a las diferencias en las historias de vida entre estos grupos. Sin embargo, aún con estas dificultades podemos hacer una propuesta sobre el modelo de zona híbrida que se ajusta mejor al caso de *Tithonia tubaeformis* y *T. rotundifolia*.

Tithonia tubaeformis y *T. rotundifolia* son especies que se distribuyen principalmente en zonas abiertas que presentan algún tipo de disturbio, como áreas de cultivo y caminos. La distribución en forma de parches que presentan estas especies refleja la discontinuidad espacial que existe en cuanto a recursos y condiciones. Al igual que los sitios alopátridos, las zonas híbridas de estas especies se encuentran distribuidas en forma de parches. Por lo anterior, el modelo que se ajusta para las zonas híbridas de *T. tubaeformis* y *T. rotundifolia* es el modelo de mosaico (Harrison, 1986). Asimismo, otra observación que apoya esta propuesta es la ausencia de una transición morfológica gradual de una especie a otra, la cual es una característica diagnóstica para otros modelos (ej., modelo de zonas de tensión). Por otro lado, el modelo de mosaico propuesto por Harrison (1986) es un modelo dependiente del ambiente. Dicho modelo supone que existe una selección endógena (i.e, factores genéticos) en contra de los híbridos, mientras que la selección exógena (i.e., presiones ambientales) puede actuar tanto positiva como negativamente para los genotipos híbridos. En este sentido, en el caso de los individuos híbridos entre *T. tubaeformis* y *T. rotundifolia* existe evidencia de una selección endógena en contra de los híbridos, la cual está expresada por una reducción en la viabilidad del polen en híbridos putativos (La Duke, 1982). Sin embargo, debido a que en el presente estudio no se evaluaron los componentes de adecuación de los híbridos, no es posible

conocer si existe una selección exógena a favor o en contra de los genotipos híbridos. Futuros estudios deberán evaluar la adecuación de los híbridos bajo condiciones controladas en el laboratorio.

Por otro lado, en numerosos estudios se ha encontrado que los individuos híbridos exhiben una mayor similitud morfológica con la especie cuyo sitio alopátrido se encuentra más próximo (Tovar-Sánchez y Oyama, 2004). O bien, si la zona híbrida ocurre en el hábitat preferente para una de las especies parentales, los híbridos tendrán una mayor similitud morfológica con ésta. Este patrón raramente discutido puede explicarse por i) la presencia de una selección exógena en contra de individuos híbridos morfológicamente similares a la especie cuyo sitio alopátrido se encuentra lejos de la zona híbrida (Arnold, 1997) o bien, ii) por una elevada plasticidad fenotípica de los híbridos que les permita exhibir morfologías similares a alguna de las especies parentales (ej. Carney et al., 2000).

El caso de las zonas híbridas entre *T. tubaeformis* y *T. rotundifolia* se ajusta al patrón mencionado. Las cinco zonas híbridas estudiadas se encuentran en ambientes típicos de *T. rotundifolia* (xéricos), por lo que los individuos híbridos mostraron una mayor similitud morfológica con esta especie. Sin embargo, debido a que no se encontraron zonas híbridas en ambientes propios de *T. tubaeformis* (mésicos) no se puede confirmar que el patrón se cumpla en el sentido opuesto. Por lo tanto, futuros estudios deberían emplear híbridos derivados de cruzas controladas y llevar a cabo transplantes a sitios xéricos y mésicos para conocer las causas del patrón observado.

Formación y mantenimiento de zonas híbridas entre Tithonia tubaeformis y T. rotundifolia
Los resultados indican que *Tithonia tubaeformis* y *T. rotundifolia* forman híbridos en las cinco localidades estudiadas en el presente trabajo. Sin embargo resulta interesante preguntarnos ¿qué factores favorecen la formación y la permanencia de las zonas híbridas entre estas especies? En una gran cantidad de trabajos el disturbio provocado por actividades humanas ha sido señalado como un prerequisite para la formación de zonas híbridas (Anderson, 1949; Rieseberg y Gerber, 1995). Esto debido a que los sitios con algún tipo de disturbio crean condiciones nuevas en las cuales los híbridos podrían

presentar una mayor adecuación que los individuos de las especies parentales (Anderson, 1949). Sin embargo, debido a que *T. tubaeformis* y *T. rotundifolia* se distribuyen preferentemente en ambientes con algún tipo de disturbio, éste parece tener un papel menor en la formación de zonas híbridas.

Ya que los factores ambientales parecen tener un papel poco importante en la formación y establecimiento de zonas híbridas, las características de historia de vida de estas especies deberán tener un papel importante en este sentido. La poliploidía espontánea en la progenie híbrida ha sido propuesta como un factor importante para el mantenimiento de zonas híbridas. Sin embargo, la poliploidía generalmente aparece cuando las especies parentales poseen números cromosómicos distintos (Rieseberg, 1997). Para el caso de *T. tubaeformis* y *T. rotundifolia* la poliploidía parece poco probable que exista, ya que ambas especies parentales son diploides y presentan el mismo número cromosómico ($n=17$; La Duke, 1982). Por último, en la literatura se señalan algunas características de historia de vida que pueden favorecer el número efectivo de individuos híbridos en la población. Dentro de estas características el crecimiento clonal es recurrentemente mencionado en algunos grupos (Vilà y D'antonio, 1998). De nuevo, el crecimiento clonal no se presenta en *T. tubaeformis* ni en *T. rotundifolia*, por lo que éste no tiene un papel en la formación y mantenimiento de las zonas híbridas. Debido a que ni las características ambientales (disturbio) ni algunas de las características intrínsecas más mencionadas en la literatura (poliploidía, crecimiento clonal) parecen tener un papel en el establecimiento y formación de zonas híbridas entre *T. tubaeformis* y *T. rotundifolia* discutiremos un argumento para este caso.

Para el caso de *T. tubaeformis* y *T. rotundifolia* proponemos que un rompimiento parcial en el patrón de auto incompatibilidad en los híbridos puede favorecer la formación y el mantenimiento de las zonas híbridas. En general, se considera que la auto incompatibilidad es un carácter ancestral de la familia Asteraceae (Lane, 1996). Sin embargo, se ha encontrado que la auto compatibilidad puede aparecer en formas herbáceas anuales (Ferrer et al., 2004). Asimismo, el número de especies que presentan algún grado de auto compatibilidad es mayor bajo condiciones de estrés hídrico o en ambientes xéricos, ya que en estos ambientes puede haber una baja disponibilidad de polinizadores (Ferrer et

al., 2004). A pesar de que las especies de *Tithonia* son especies auto incompatibles, proponemos que los híbridos pueden presentar un rompimiento parcial de esta barrera. Bajo este escenario, aun cuando los híbridos exhiben una reducción en los niveles de fertilidad del polen (La Duke, 1982), éstos pueden establecerse y generar semillas híbridas a partir de su propio polen. De esta manera, no solo se favorecería la formación de zonas híbridas, sino que el número individuos híbridos se mantendría para la siguiente generación, llevando al mantenimiento de la zona híbrida.

Hibridación entre especies invasoras

Actualmente se reconoce que las especies invasoras tienen efectos importantes sobre la comunidad y los ecosistemas que invaden (Vitousek et al., 1997). A nivel comunidad las especies invasoras pueden ocasionar la extinción de especies con distribución restringida por competencia o bien, por medio de la asimilación genética de la especie rara (Rhymer y Simberloff, 1996). Por su parte, a nivel ecosistema las especies pueden afectar la circulación de nutrientes al modificar las tasas de descomposición (Driebe y Whitham, 2000). Si bien las especies invasoras tienen un efecto importante sobre los ecosistemas, éstas pueden sufrir algún tipo de cambio genético que puede maximizar sus efectos en dichos ecosistemas. Recientemente, se ha propuesto como una fuente de cambio a la hibridación interespecífica, ya que ésta introduce una gran cantidad de variación genética en las poblaciones participantes (Anderson, 1949; Ellstrand y Schierenbeck, 2000). En este sentido, el fenómeno de hibridación introgresiva entre *Tithonia tubaeformis* y *T. rotundifolia* puede maximizar sus efectos negativos en los ecosistemas que se incorporan.

En primer lugar, la hibridación introgresiva unidireccional hacia *T. rotundifolia* puede dotar a esta especie de nueva variación genética que le permita colonizar ambientes en los que previamente no se encontraba. Esto traería como consecuencia que esta especie entrara en simpatria con otras especies de compuestas, pudiendo causar la extinción de especies con distribución restringida por dos vías principalmente, i) por exclusión competitiva o bien ii) por asimilación genética vía hibridación introgresiva. Consideramos que esta última es probable, ya que existen reportes de hibridación de *T. tubaeformis* con otras especies como *Helianthus annuus* (Reyes-Valdés et al., 2005). Ya sea que *T. rotundifolia* sea un mejor competidor que las especies con distribución restringida o que

forme híbridos con estas especies, una gran cantidad de compuestas podrían estar amenazadas. Lo anterior debido a que México es un centro de diversificación de Asteraceae, en donde una gran cantidad de especies son endémicas con una distribución altamente restringida (Villaseñor et al., 1998).

Asimismo, la presencia de caracteres transgresivos en los híbridos puede amplificar el efecto negativo de las especies individuales en el ecosistema (Ellstrand y Schierenbeck, 2000). En este sentido, la presencia de caracteres transgresivos en los híbridos puede facilitar su incorporación a ambientes extremos para los individuos de las especies parentales (Rieseberg et al., 2003). La incorporación de híbridos a nuevos hábitats puede traer varias consecuencias en cuanto a la conservación de especies. En primer lugar, los híbridos pueden presentar una mayor capacidad competitiva y desplazar a las especies que se encontraban en dicho ambiente. Un ejemplo esto es el caso de la hibridación entre *Spartina alternifolia* y *S. maritima* en las islas británicas. Estas especies formaron un híbrido estéril que sufrió una duplicación cromosómica para originar a la especie *S. anglica*. Esta especie híbrida presenta una mayor capacidad competitiva que las especies parentales, por lo que ha invadido áreas extensas en donde antes solo se encontraban individuos de *S. alternifolia* y *S. maritima* (Ayres y Strong, 2001).

Por otro lado, debido a que los híbridos poseen características nuevas en relación a las especies parentales, éstos pueden llegar a alterar algunos procesos en el ecosistema, tal como la disponibilidad de nutrientes en el ecosistema. Esto debido a que al tratarse de especies anuales, los híbridos entre *T. tubaeformis* y *T. rotundifolia* incrementarían considerablemente los niveles de hojarasca en el ecosistema, y por lo tanto un incremento en la disponibilidad de nutrientes en éste. Este incremento en los nutrientes conduciría a profundos cambios en la estructura de la comunidad de especies asociadas (ej., Driebe y Whitham, 2000).

VI. Referencias

- Aguilar-Mendiola, V. 2010. Estructura genética de poblaciones de *Tithonia tubaeformis* y *Tithonia rotundifolia* (Asteraceae) en México. Tesis de Licenciatura, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma del Estado de Morelos.
- Alcorcés, G. N., R. A. Lárez y F. Mayz. 2007. Additions to the cytogenetic knowledge of *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray (Asteraceae). *Acta Botánica Venezolana* 30: 267-275.
- Anderson, E. 1949. Introgressive hybridization. John Wiley, Nueva York, E.U.
- Aparicio, M. S., A. E. Castro-Ramírez, C. J. L. León y I. M. Ishiki. 2003. Entomofauna asociada a maíz de temporal con diferentes manejos de malezas en Chiapas, México. *Manejo integrado de plagas y agroecología*. 70: 65-73.
- Arnold, M. L. 1997. Natural hybridization and evolution. Oxford University Press. Oxford. Reino Unido.
- Ayres, D. R. y D. R. Strong. 2001. Origin and genetic diversity of *Spartina anglica* (Poaceae) using nuclear DNA markers. *American Journal of Botany* 88: 1863-1867.
- Barton, N. H y G. M. Hewitt. 1985. Analysis of hybrid zones. *Annual Review of Ecology and Systematics* 16: 113-148.
- Brochmann, C., L. Borgen y O. E. Stabbetorp. 2000. Multiple diploid hybrid speciation of the Canary Island endemic *Argyranthemum sundingii* (Asteraceae). *Plant Systematics and Evolution* 220: 77-92
- Calle, Z., A. H. Strahler y R. Borchert. 2009. Declining isolation induces synchronous flowering of *Montanoa* and *Simsia* (Asteraceae) between Mexico and the Equator. *Trees - Structure and Function* 23: 1247-1254.
- Caraway, V., G. D. Carr y C. W. Morden. 2001. Assessment of hybridization and introgression in lava-colonizing Hawaiian *Dubautia* (Asteraceae: Madiinae) using RAPD markers. *American Journal of Botany* 88: 1688-1694.
- Carney, S. E., K. A. Gardner y L. H. Rieseberg. 2000. Evolutionary changes over the fifty-year history of a hybrid population of sunflowers (*Helianthus*). *Evolution* 54: 462-474
- Castillo, A. S., O. Y. Martínez, R. M. A. Romero, C. P. Guadarrama, C. O. Núñez, G. I. Sánchez y J. A. Meave. 2007. La reserva ecológica del pedregal de San Ángel: Aspectos florísticos y ecológicos. Universidad Nacional Autónoma de México, México, 294 p.
- Catell, M. V. y S. Karl. 2004. Genetics and morphology in a *Borrchia frutescens* and *B. arborescens* (Asteraceae) hybrid zone. *American Journal of Botany* 91: 1757-1766.
- Colautti, R. I. y H. J. MacIsaac. 2004. A neutral terminology to define 'invasive' species. *Diversity and Distributions* 10: 135-141.

- Dobzhansky, T. H. 1941. *Genetics and the origin of species*. Columbia University Press. Nueva York, EU.
- Dowling, T. E. y C. L. Secor. 1997. The role of hybridization and introgression in the diversification of animals. *Annual Review of Ecology and Systematics* 28: 593-619.
- Driebe, E. M. y T. G. Whitham. 2000. Cottonwood hybridization affects tannin and nitrogen content of leaf litter and alters decomposition. *Oecologia* 123: 99-107.
- Driebe, E. M. y T. G. Whitham. 2000. Cottonwood hybridization affects tannin and nitrogen content of leaf litter and alters decomposition. *Oecologia* 123: 99-107.
- Edmunds, S. 2002. Does parental divergence predict reproductive compatibility? *Trends in Ecology and Evolution* 17: 520-527.
- Ellstrand N. C. y K. A. Schierenbeck. 2000. Hybridization as a stimulus for invasiveness in plants? *Proceedings of the National Academy of Sciences* 97: 7043-7050.
- Ellstrand, N. C. y D. R. Elam. 1993. Population genetic consequences of small population size: implications for plant conservation. *Annual Reviews of Ecology and Systematics* 24: 217-242.
- Ellstrand, N. C., R. Whitkus y L. H. Rieseberg. 1996. Distribution of spontaneous plant hybrids. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 93: 5090-5093.
- Endler, J. A. 1977. *Geographic variation, speciation and clines*. Princeton University Press. Nueva Jersey, EU.
- Espinosa-García, F. J. y Sarukhán, J. 1997. *Manual de malezas del Valle de México*. Universidad Nacional Autónoma de México. Fondo de Cultura Económica. México.
- Ferrer, M. M., Eguiarte, L. E. y Montaña, C. 2004. Genetic structure and outcrossing rates in *Flourensia cernua* (Asteraceae) growing at different densities in the South-western Chihuahuan Desert. *Annals of Botany*. 94: 419-426.
- Futuyma, D. J. 1998. *Evolutionary Biology*. Sinauer, Sunderland, Massachusetts, E. U.
- Harrison, R. G. 1986. Pattern and process in a narrow hybrid zone. *Heredity* 56: 337-349.
- Harrison, R. G. 1993. *Hybrid zones and the evolutionary process*. Oxford University Press, Oxford, Reino Unido.
- Heiser, C. B. 1947. Hybridization between the sunflower species *Helianthus annuus* and *H. petiolaris*. *Evolution* 1: 249-262.
- Holman, J. S., J. M. Hughes y R. J. Fensham. 2003. A morphological cline in *Eucalyptus*: a genetic perspective. *Molecular Ecology* 12: 3013-3025.
- Howard, D. J. 1993. Reinforcement: the origin, dynamics and fate of an evolutionary hypothesis. Pp: 46-69. En: *Hybrid zones and the evolutionary process*. Harrison, R. (ed.). Oxford University Press, EU.

- Hülber, K., M. Winkler y G. Grabherr. 2010. Intra-seasonal climate and habitat-specific variability controls the flowering phenology of high alpine plant species. *Functional Ecology* 24: 245-252.
- Judd, W. S., C. S. Campbell, E. A. Kellogg, P. F. Stevens y M. J. Donoghue. 2002. *Plant Systematics, a phylogenetic approach*. Sinauer Associates, Inc. Sunderland, Massachusetts. EU.
- LaDuke, J. C. 1982. Revision of *Tithonia*. *Rhodora* 84: 453-522.
- Lafuma, L y S. Maurice. 2007. Increase in mate availability without loss of self-incompatibility in the invasive species *Senecio inaequidens* (Asteraceae). *Oikos* 116: 201-208.
- Lane, M. A. 1996. Pollination biology of Compositae. Pp.61-80. En: Caligari, P. D. S. y D. J. N. Hind, D. J. N. (eds.). *Compositae: Biology and Utilization*. Proceedings of the International Compositae Conference, Kew, 1994. Royal Botanic Gardens, Kew.
- Larenas, P. G. 2002. Invasiones biológicas: banco de semillas del pasto cubano (*Tithonia tubaeformis*), características de los suelos y germinabilidad (Salta Capital). Tesis de licenciatura, Escuela de Biología, Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de Salta. Salta, Argentina.
- Larenas-Parada, G., M. L. Viana, T. Chafatinos y N. E. Escobar. 2004. Relación suelo-especie invasora (*Tithonia tubaeformis*) en el sistema ribereño del río Arenales, Salta, Argentina. *Ecologia Austral* 14: 19-29.
- Levin, D. A. y J. Francisco-Ortega. 1996. Hybridization and the extinction of rare plant species. *Conservation Biology* 10: 10-16.
- Lexer, C., M. E. Welch, O. Raymond y L. H. Rieseberg. 2003. The origin of ecological divergence in *Helianthus paradoxus* (Asteraceae): selection on transgressive characters in a novel hybrid habitat. *Evolution* 57: 1989-2000.
- López-Caamal, A. 2009. Hibridación natural entre *Psidium sartorianum* y *P. socorrense* en la Isla Socorro, México. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México.
- Mani, M. S. y J. M. Saravanan, J. M. 1999. Pollination ecology and evolution in Compositae (Asteraceae). Science Publishers, Inc., Enfield.
- Mayr, E. 1963. *Animal species and evolution*. Belknap Press. Massachusetts, EU.
- McKenzie, R. J., J. M. Ward y I. Breitwieser. 2008. Hybridization beyond the F1 generation between the New Zealand endemic everlasting *Anaphalioides bellidioides* and *Ewartia sinclairii* (Asteraceae, Gnaphalieae). *Plant Systematics and Evolution* 273: 13-24.
- Moore, W. S. 1977. An evaluation of narrow hybrid zones in vertebrates. *The Quarterly Review in Biology* 52: 263-277.

- Mooring, J. S. 2001. Barriers to interbreeding in the *Eriophyllum loanatum* (Asteraceae, Helenieae) species complex. *American Journal of Botany* 88: 285-312.
- Mooring, J. S. 2008. An *Eriophyllum lanatum* (Asteraceae) hybrid zone in Oregon. *Madroño* 55: 269-279.
- Muñoz, A. F. y J. A. Devesa. 2010. Revisión taxonómica del complejo de *Centaurea cyanus* L. (*Centaurea* sect. *cyanus*, Asteraceae) en la península Ibérica. *Acta Botánica Malacitana* 35: 23-55
- Muoghalu, J. I. y D. K. Chuba. 2005. Seed germination and reproductive strategies of *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) Gray and *Tithonia rotundifolia* (P. M.) Blake. *Applied Ecology and Environmental Research* 3: 39-46.
- Nikolova, L., C. Michail y S. Gerald. 2004. Interspecific hybridization between *H. pumilus* Nutt. and *H. annuus* L. and their potential for cultivated sunflower improvement. *Helia* 27: 151-162.
- Pimentel, D., L. Lach, R. Zuniga y D. Morrison. 2000. Environmental and Economic Costs of Nonindigenous Species in the United States. *BioScience* 50: 53-65.
- Randell, R. A., D. G. Howarth y C. W. Morden. 2004. Genetic analysis of natural hybrids between endemic and alien *Rubus* (Rosaceae) species in Hawai'i. *Conservation Genetics* 5: 217-230.
- Reyes-Valdés, M. H., M. Gómez-Martínez, O. Martínez y F. Hernández Godínez. 2005. Intergeneric hybrid between cultivated sunflower (*Helianthus annuus* L.) and *Tithonia rotundifolia* (Mill.) Blake. *Helia* 28: 61-68.
- Rhymer, J. M. y D. Simberloff. 1996. Extinction by hybridization and introgression. *Annual Review of Ecology and Systematics* 27: 83-109.
- Rieseberg, L. H. 1997. Hybrid origins of plant species. *Annual Review of Ecology and Systematics* 28: 359-389.
- Rieseberg, L. H. y D. Gerber. 1995. Hybridization in the Catalina island mountain mahogany (*Cercocarpus traskiae*): RAPD evidence. *Conservation Biology* 9: 199-203.
- Rieseberg, L. H. y N. C. Ellstrand. 1993. What can morphological and molecular markers tell us about plant hybridization? *Critical Reviews in Plant Sciences* 12: 213- 241.
- Rieseberg, L. H., M. A. Archer y R. K. Wayne. 1999. Transgressive segregation, adaptation, and speciation. *Heredity* 83:363-372.
- Rieseberg, L. H., O. Raymond, D. M. Rosenthal, Z. Lai, K. Livingstone, T. Nakazato, J. L. Durphy, A. E. Schwarzbach, L. A. Donovan y C. Lexer. 2003. Major ecological transitions in annual sunflowers facilitated by hybridization. *Science* 301: 1211-1216.
- Rieseberg, L. H., S. J. E. Baird y A. M. Desrochers. 1998. Patterns of mating in wild sunflower hybrid zones. *Evolution* 52: 713-726.

- Rieseberg, L. H., S. Zona, L. Abernethy y T. D. Marin. 1989. Hybridization in the island endemic, Catalina mahogany. *Conservation Biology* 3: 52-58.
- Riley, H. P. 1938. A character analysis of colonies of *Iris fulva*, *Iris hexagona* var. *giganticaerulea* and natural hybrids. *American Journal of Botany* 25: 727-738.
- Ríos, C. I. 1993. Efecto de la densidad de siembra y altura de corte sobre la producción de biomasa del botón de oro *Tithonia diversifolia* (Hemsl) Gray, evaluada en cortes sucesivos. Investigación, validación y capacitación en Sistemas Agropecuarios Sostenibles. Convenio CETEC - IMCA - CIPAV. Informe de avance. Cali, Colombia 81-83 p.
- Rodríguez-Carmona, F. 2010. Hibridación introgresiva del complejo *Tithonia tubaeformis* x *Tithonia rotundifolia* (Asteraceae) en México. Tesis de Licenciatura, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma del Estado de Morelos.
- Rostgaard, L., R. S. Cowan, H. S. Siegismund, H. Adersen, M. Philipp y M. F. Fay. 2003. Morphometric, AFLP and plastid microsatellite variation in populations of *Scalesia divisa* and *S. incisa* (Asteraceae) from the Galápagos Islands. *Botanical Journal of the Linnean Society* 143: 243-254.
- Schierenbeck, K. A. y N. C. Ellstrand. 2009. Hybridization and the evolution of invasiveness in plants and other organisms. *Biological Invasions* 11: 1093-1105.
- Schwarzbach, A. E., L.A. Donovan, and L.H. Rieseberg. 2001. Transgressive character expression in a hybrid sunflower species. *American Journal of Botany* 88:270-277.
- Shiga, T. y Y. Kadono. 2007. Natural hybridization of the two *Nuphar* species in northern Japan: homoploid hybrid speciation in progress? *Aquatic Botany* 86: 123-131.
- Stebbins, G. L. 1959. The role of hybridization in evolution. *Proceedings of the American Philosophical Society*. 103: 231-251.
- Stebbins, G. L. y K. Daly. 1961. Changes in the variation pattern of a hybrid population of *Helianthus* over an Eight-year period. *Evolution* 15: 60-71.
- Szymura, J. M., N. H. Barton. 1986. Genetic analysis of a hybrid zone between the fire-bellied toads, *Bombina bombina* and *B. variegata*, near cracow in southern poland. *Evolution* 40: 1141-1159.
- Torres, C. y L. Galetto. 2008. Importancia de los polinizadores en la reproducción de Asteraceae de Argentina central. *Acta Botánica de Venezuela* 31: 473-494.
- Tovar-Sánchez, E. y K. Oyama. 2004. Natural hybridization between *Quercus crassifolia* and *Quercus crassipes* (Fagaceae) in Mexico: morphological and molecular evidence. *American Journal of Botany* 91: 1352-1363.
- Valéry, L., H. Fritz, J. Lefeuvre y D. Simberloff. 2008. In search of a real definition of the biological invasion phenomenon itself. *Biological Invasions* 10: 1345-1351.

- Valéry, L., H. Fritz, J. Lefeuvre y D. Simberloff. 2009. Ecosystem-level consequences of invasions by native species as a way to investigate relationships between evenness and ecosystem function. *Biological Invasions* 11: 609-617.
- Vilà, M. y C. M. D'antonio. 1998. Hybrid vigor for clonal growth in *Capobrotus* (Aizoaceae) in coastal California. *Ecological Applications* 8: 1196-1205.
- Villaseñor, J. L. 1993. La familia Asteraceae en México. *Revista de la Sociedad Mexicana de Historia Natural* 44: 117-124.
- Villaseñor, J. L., G. Ibarra y D. Ocaña. 1998. Strategies for the conservation of Asteraceae in Mexico. *Conservation Biology* 12: 1066-1075.
- Vitousek, P. M., C. M. D'antonio, L. L. Loope, M. Rejmánek y R. Westbrooks. 1997. Introduced species: a significant component of human-caused global change. *New Zealand Journal of Ecology* 21: 1-16.
- Weber, E. y B. Schmid. 1998. Latitudinal population differentiation in two species of *Solidago* (Asteraceae) introduced into Europe. *American Journal of Botany* 85: 1110-1121.
- Whitney, K. D., J. R. Ahern, L. G. Campbell, L. P. Albert y M. S. King. 2010. Patterns of hybridization in plants. *Perspectives in Plant Ecology* 12: 175–182.
- Williamson, M. y A. Fitter. 1996. The varying success of invaders. *Ecology* 77: 1661-1666.
- Zavala, H. J. A., Portilla, G. E., Ayala, F. Y. y Bravo, R. M. 2003. Mala, mala, no tan mala maleza. Patrones de distribución espacial de las malezas en el campus Iztapalapa de la UAM. *Contactos*. 49: 5-14.
- Richardson, D. M., P. Pysek, M. Rejmánek, G. Barbour, F. Dane-Panetta y C. J. West. 2000. Naturalization and invasion of alien plants: concepts and definitions. *Diversity and Distributions* 6: 93-107.
- Richardson D. M. y P. Pysek. 2006. Plant invasions: merging the concepts of species invasiveness and community invasibility. *Progress in Physical Geography* 30: 409-431.
- Inderjit, S. 2005. Plant invasions: habitat invasibility and dominance of invasive plant species. *Plant and Soil* 277: 1–5.