



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

Variación foliar del algodón (*Gossypium hirsutum*)
silvestre y cultivado en México

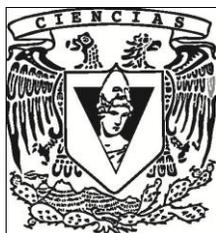
T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIÓLOGA

P R E S E N T A:

ADRIANA USCANGA CASTILLO



DIRECTOR DE TESIS:

DRA. ANA LAURA WEGIER BRIUOLO

2013



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

Datos del Jurado

1. Datos del alumno

Uscanga

Castillo

Adriana

55737467

Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Ciencias

Biología

304502237

2. Datos del asesor

Dra.

Ana Laura

Wegier

Briuolo

3. Datos del sinodal 1

Dra.

Teresa Margarita

Terrazas

Salgado

4. Datos del sinodal 2

Dra.

Mariana

Benítez

Keinrad

5. Datos del sinodal 3

Dra.

Aurora

Zlotnik

Espinosa

6. Datos del sinodal 4

M. en C.

Xitlali

Aguirre

Dugua

7. Datos del trabajo escrito

Variación foliar del algodón (*Gossypium hirsutum*) silvestre y cultivado en México

62 p.

2013

Contenido

Resumen

1. Introducción	4
1.1. Diversidad fenotípica.....	4
1.2. Variación foliar	7
1.3. Domesticación	10
1.4. <i>Gossypium hirsutum</i> , el algodón mexicano	13
1.5. Variación foliar en algodón	15
2. Planteamiento del problema	21
3. Objetivos.....	23
4. Hipótesis	24
5. Predicciones	24
6. Métodos.....	26
6.1. Trabajo en campo.....	26
6.2. Trabajo en laboratorio.....	27
6.3. Análisis de datos	28
7. Resultados.....	33
8. Discusión	43
9. Conclusiones	55
10. Perspectivas	57
11. Referencias.....	59

Resumen

México es centro de domesticación y diversidad del algodón *Gossypium hirsutum*, el cual tiene una distribución amplia en dunas costeras y en selvas bajas caducifolias. Las poblaciones silvestres de algodón habían sido desconocidas o reconocidas como ferales hasta hace algunos años que se estudió su diversidad genética, fuera de la diversidad genética neutral las poblaciones silvestres de algodón no han sido estudiadas desde un punto de vista morfológico ni funcional. En el presente trabajo se estudió la variación morfológica foliar de seis metapoblaciones de algodón silvestres y una población cultivada, con el fin de conocer la diversidad funcional que albergan las poblaciones silvestres y compararlas con el algodón domesticado.

Para cuantificar la morfología foliar se usó una técnica de morfometría geométrica con puntos de referencia, de cada hoja se hizo una configuración de forma con 15 puntos de referencia, con los que se hizo una superimposición de Procrustes. Se realizó un análisis de componentes principales (PCA) con las coordenadas de Procrustes, con estos resultados se realizaron análisis de varianza para comparar la variación foliar de todas metapoblaciones y la población cultivada. Finalmente se realizaron regresiones lineales del componente principal que explicó mayor variación en la forma con variables ambientales, como latitud geográfica, longitud geográfica, precipitación media pluvial y temperatura.

A partir de estos análisis se obtuvo que las poblaciones silvestres de algodón se estructuran en dos grupos, presentando una gran variación en las metapoblaciones silvestres de algodón, la cual se distribuye de manera heterogénea en cada una. Aunque se obtuvo que las metapoblaciones tienen distinta variación foliar ($F=12.20$, $P<0.0001$), no todas son distintas entre sí. La forma de la hoja tiene una relación estadísticamente significativa con las condiciones ambientales, dependiente a la temperatura media anual, la temperatura estacional y la precipitación anual ($R^2=-0.643$, $P<0.0001$; $R^2=0.484$, $P<0.0001$; $R^2=-0.666$, $P<0.0001$, respectivamente), sugiriendo un patrón de diferenciación morfológica por selección natural. La población de individuos cultivados presentó muy poca variación.

En conclusión existe una gran variación morfológica foliar en las seis metapoblaciones estudiadas, que se distribuye de manera heterogénea y parece estar seleccionada por un gradiente geográfico latitudinal. La población cultivada presenta menor variación morfológica foliar que los individuos silvestres, sin embargo existen accesiones que reportan distintas formas foliares que faltan ser evaluadas.

1. Introducción

1.1. Diversidad genética y fenotípica

La diversidad biológica es la variabilidad que existe en los organismos vivos, y puede describirse en tres niveles conceptuales: diversidad de ecosistemas, diversidad de especies y diversidad genética (Glowka et al. 1994).

Los individuos de una población tienden a variar genéticamente en ciertos loci que determinan características particulares, al efecto combinado de todos esos loci, incluyendo las posibles interacciones de y entre *loci* (dominancia y epistasia), se le conoce como valor genotípico; cuando este valor es distinto entre los individuos de una población se habla de variación genética (Wray 2008). La diversidad genética es por lo tanto, la variación en el contenido genético entre individuos de una población y entre poblaciones de una especie (Glowka et al. 1994), esta diversidad determina la capacidad de adaptación ante cambios ambientales y la adecuación de una población (Rocha & Gasca 2007; Reed & Frankham 2003).

Toda variación surge a partir de mutaciones, para que una nueva variación evolucione tanto el contexto genético como las condiciones ambientales deben ser aptas (Blackman 2007). El estudio de la morfología es una de las aproximaciones para estudiar la variación en una población; otra forma de describir la diversidad es con marcadores moleculares, las características fenotípicas tienen la ventaja de que pueden estar directamente relacionadas con la adecuación de la población (Gepts & Papa 2003) y por tanto pueden ser caracteres selectivos. De hecho, la diversidad que es resultado de la evolución adaptativa se mide preferentemente con la variación fenotípica, ya que en pocas ocasiones los análisis moleculares con pocos genes pueden predecir la variación en la adecuación total (Rocha & Gasca 2007).

Dentro de cada población existen múltiples fuentes potenciales de variación fenotípica, la fuente particular de un caso de variación fenotípica determina si el carácter tiene la habilidad de responder a la selección natural o artificial, es decir, si tiene potencial evolutivo, así como si el carácter puede responder ante cambios ambientales; en resumen, la variación fenotípica siempre procede de variación genética y/o variación ambiental (Byers 2008).

La variación fenotípica que es explicada por variación en los valores genéticos es definido como heredabilidad . Estimar la (Wray 2008) heredabilidad puede servir para

indicar la respuesta a la selección y a su vez el potencial evolutivo de las poblaciones, ya que la correlación entre heredabilidad y adecuación es muy alta (Reed & Frankham 2003).

También existe variación fenotípica que no es explicada por variación genética, sino que es resultado de la variación ambiental general o de la interacción entre el ambiente y el genotipo, es decir por plasticidad fenotípica (Byers 2008). La plasticidad fenotípica es la propiedad que tiene un mismo genotipo de producir distintos fenotipos en ambientes diferentes (Beldade et al. 2011).

Cómo surge y se mantienen las variaciones ha sido un tema de debate desde las primeras teorías evolutivas. Para Darwin la variación entre seres vivos se debía a que cada uno estaba adaptado a condiciones distintas, el conflicto intraespecífico que surgía de la lucha por los mismos recursos era el mecanismo por excelencia que hacía aparecer nuevas variedades y especies; y por la supervivencia del más apto se iban seleccionando las mejores variedades (Barahona 1999).

El debate sobre los mecanismos por lo cuales se mantiene la variación sigue vigente, incluso posterior a la síntesis moderna, en donde se sintetizan las ideas darwinistas de evolución por adaptación y la herencia mendeliana, se cuestionaba si las poblaciones acumulaban poca o mucha variación y qué tipo de selección actuaba con mayor incidencia en las poblaciones. Finalmente, con el desarrollo de nuevas tecnologías se demostró (por medio de electroforesis de proteínas) que las poblaciones están llenas de variación genética (Tonsor 2012); además, surgieron modelos en donde se empezó a cuestionar a la selección como principal fuerza evolutiva, siendo la más relevante la teoría neutral de Kimura (Duret 2008; Eguiarte 1999).

Ahora se sabe que la evolución y el mantenimiento de la variación puede ser más compleja y distintas fuerzas evolutivas intervienen para moldear la diversidad genética de una población. La evolución de los organismos vivos es consecuencia de dos procesos: primero, depende de la generación de variabilidad genética por mutaciones; segundo, depende de los cambios en las frecuencias alélicas de las poblaciones en el tiempo (Duret 2008) □, que resulta en una diversidad genética poblacional dada.

Las frecuencias alélicas de una población pueden cambiar por azar (deriva génica), siendo ésta más importante entre más pequeña sea la población; pueden cambiar por selección natural, si algún alelo es más competente que otros; y pueden cambiar por la llegada de nuevos alelos a la población, ya sea por migración o por mutaciones (Eguiarte 1999). Algunas de estas fuerzas evolutivas tienden a aumentar la variación genética, mientras que otras tienden a disminuirla. Por ejemplo, la selección

natural, que favorece la adaptación local en diferentes condiciones ambientales locales, tenderá a actuar en favor de alelos diferentes en un locus genético, si dichos alelos causan adaptaciones locales. Si entre esas localidades no existe flujo genético, habrá diferentes alelos en diferentes localidades, sin embargo, si existe flujo genético las diferencias genéticas entre poblaciones locales se reducen; sólo en los casos en que la tasa de inmigrantes sea menor a la intensidad de selección habrá adaptaciones locales (Slatkin 1999).

La selección natural puede actuar de tres formas distintas, de forma positiva o direccional, cuando un alelo confiere mayor adecuación en una población entonces su frecuencia aumenta; puede actuar de forma negativa, o purificadora, si se disminuye la adecuación; y de forma balanceadora cuando cierto alelo es ventajoso sólo en los individuos heterocigos, en este caso los alelos son mantenidos en una frecuencia intermedia. Cuando las mutaciones no afectan la adecuación de los individuos (son neutrales) entonces su frecuencia es determinada básicamente por deriva génica, aunque el impacto de la deriva génica no se limita a secuencias neutrales (Duret 2008). Las poblaciones suelen perder variación genética como consecuencia de la deriva génica, además entre más pequeñas sean las poblaciones, los niveles de endogamia (apareamiento no azaroso) incrementan, aumentando la cantidad de homocigos en las poblaciones (Reed & Frankham 2003; Eguiarte 1999).

Cuando el apareamiento se da entre individuos genéticamente distintos y hay recombinación, entonces la diversidad genética puede aumentar. En este caso, no se inventan nuevos alelos pero sí nuevas combinaciones. La recombinación del DNA implica el intercambio de material genético entre distintos cromosomas o entre distintas regiones de un mismo cromosoma; el resultado es asegurar que cada gameta tenga información genética tanto materna como paterna, de forma que la descendencia herede genes de ambos abuelos, adquiriendo la mayor cantidad de diversidad genética (Clancy 2008).

Así como la reproducción sexual puede unir diferentes alelos de un escenario genético común para facilitar la adaptación, la hibridación entre especies permite que alelos de distintos escenarios genéticos se integren si la unión es favorecida por la selección; la hibridación es el proceso en el cual especies distintas intercambian genes rompiendo la barrera genética que se supone divide a una especie de otra (Stevinson 2008). La hibridación es un proceso recurrente y de importancia evolutiva entre las plantas, en el cual genes de una especie o raza se añaden al pool genético de otra especie o raza por hibridación y retrocruzamiento o “hibridación introgresiva”;

alternativamente, nuevas combinaciones genéticas híbridas pueden establecerse por medio de la alopoloidización, reproducción clonal o asexual, autopolinización o especiación híbrida diploide (Rieseberg et al. 2008).

La poliploidización es un fenómeno común en la evolución de las plantas, los poliploides pueden ser divididos en dos categorías: autopoliploides, que es la duplicación del mismo genoma; y alopoliploides, que es la unión en un mismo núcleo de dos genomas distintos (Jackson & Z. J. Chen 2010; Vaughan et al. 2007). La ocurrencia tan común de la poliploidización sugiere que tener múltiples conjuntos de material genético confiere ventajas adaptativas (Z. J. Chen 2007).

Además de expresar el fenotipo parental, la poliploidización puede dar origen a fenotipos intermedios y fenotipos nuevos que no existan en los padres o que excedan algún carácter parental (Z. J. Chen 2007; Vaughan et al. 2007).

La poliploidía puede ser un medio de fijación permanente del vigor híbrido, esta puede ser la razón de que muchos cultivos (como algodón, trigo, avena, papa, cacahuate, café, caña de azúcar y fresa) tienen un origen poliploide (Z. J. Chen 2007).

1.2. Variación foliar

Las estructuras morfológicamente más diversas en las plantas son las hojas; son los órganos de las plantas más plásticos evolutivamente, muchos tipos de hojas han surgido en respuesta a diferentes tipos de presiones selectivas, por lo que brindan información muy valiosa en el estudio de la diversidad de las plantas con flor (Gifford & Foster 1989; Mauseth 1988); la forma de las hojas varía entre grupos taxonómicos, entre individuos de la misma especie e incluso en el desarrollo de un mismo individuo (Dengler & Tsukaya 2001; Dolan & R Scott Poethig 1991; Ashby 1948). En muchas plantas las hojas de los diferentes nodos de un tallo son diferentes, las hojas de los nodos superiores pueden ser diferentes a las de los nodos inferiores, o puede existir una transición gradual de una forma a la otra, como ocurre en algunas especies de *Gossypium* (Ashby, 1948).

Las hojas son órganos generalmente planos que se producen en la superficie de meristemas apicales en el desarrollo de una planta (Dolan y Poethig, 1991) y existen generalmente como estructuras fotosintéticas y de transpiración (Santamarina et al. 2009; R S Poethig 1997). Otras funciones de las hojas son: protección de yemas vegetativas, de inflorescencias y flores (como escamas, brácteas y sépalos), y almacenamiento de nutrientes (cotiledónes; Mauseth 1988). Además, evolutivamente, las hojas presentan

variaciones en su forma y función, tales como espinas, zarcillos, glándulas, trampas para insectos y bulbos (Dickison 2000).

A pesar de la gran variación que existe, la mayoría de las hojas de follaje comparten una serie de atributos: 1) posición lateral en el tallo; 2) un patrón de crecimiento determinado; 3) asociación con una yema axilar en la parte adaxial de la base de la hoja; 4) presencia de subregiones a lo largo del eje longitudinal, generalmente representado por el pecíolo, base de la hoja y lámina (y en dado caso estípulas); 5) simetría dorsiventral con el plano transversal achatado; y 6) asimetría entre la porción basal y la porción apical de la hoja (Dengler & Tsukaya 2001; Poethig 1997).

La lámina madura de una hoja típica de angiosperma, en términos generales, consiste en una epidermis adaxial y abaxial, que contienen varias capas de mesófilo intercaladas con una red de haces vasculares (Rudall 1994). Sin embargo, la disposición de estos componentes depende del ambiente físico, disponibilidad de agua, intensidad luminosa, nicho ecológico e interacción con herbívoros; por medio de las presiones de selección, estos parámetros conducen la evolución de la estructura foliar (Cutler et al. 2007).

La forma de la hoja de una especie es el resultado de su historia ecológica y evolutiva. Existen muchas teorías que buscan explicar las causas principales de la forma de las hojas, como: termorregulación (especialmente en ambientes áridos y calientes), restricciones hidráulicas, restricciones mecánicas, adaptaciones para evitar herbivoría, adaptaciones para optimizar la intercepción de luz, entre otras. También existe la posibilidad de que la variación foliar no tenga un significado funcional, y que más bien sea resultado de variaciones aleatorias en la historia filogenética de las plantas, pero, por la importancia de las hojas este caso muy poco probable (Nicotra et al. 2011).

En cuanto a la acción de termoregulación, se sabe que el tamaño y la forma de las hojas tienen efectos potenciales en la temperatura de la hoja, porque las proporciones bidimensionales de la lámina determinan la tasa de transferencia de calor; la convección en hojas pequeñas es más rápida que en hojas grandes; igualmente, se predice que la tasa de transferencia de calor es mayor en una hoja lobulada que en una hoja entera de área equivalente (Nicotra et al. 2011).

Para poder entender bien la relación de forma-temperatura bajo condiciones biológicas, se tiene que tomar en cuenta las condiciones de evaporación y la cantidad de agua en el suelo, por ejemplo, las hojas lobuladas, además de tener mayor transferencia de calor, pueden presentar mayor eficiencia hidráulica. Es poco probable que la

regulación de la temperatura sea la influencia evolutiva más importante en la diversidad foliar, de hecho, parece ser más importante la relación entre la forma de la hoja y las propiedades hidráulicas (Nicotra et al. 2011).

Debido a que las hojas tienen varias funciones, la gran variación que presentan tiene implicaciones mucho más amplias que solamente la productividad fotosintética y el intercambio gaseoso, por ejemplo en la regulación de agua, el patrón de ramificación, el crecimiento de la planta y las interacciones bióticas, sobre todo de herbivoría (Givnish 2008) □ □. Todas estas funciones son importantes en la determinación de la forma de una hoja en su historia evolutiva, funciones y presiones similares en distintas poblaciones han resultado en convergencias evolutivas de la morfología foliar. Sin embargo, no todas las hojas son iguales ante situaciones similares, muchos caracteres foliares, la forma incluida, reflejan *trade-offs* o compensaciones funcionales que han sido resueltos en distintas formas por especies diferentes dependiendo de su escenario ecológico, atributos fisiológicos, desarrollo o su historia evolutiva. Las compensaciones de caracteres requeridos para el éxito funcional de las hojas genera, más que restricciones, oportunidades ecológicas y evolutivas (Nicotra et al. 2011). Es decir que las compensaciones entre las distintas funciones de las hojas han dado como resultado la plasticidades morfológica foliar que se observa en la naturaleza.

Algunas compensaciones de caracteres funcionales suelen presentar un patrón entre muchas especies, por ejemplo, la relación entre el área superficial de la hoja y el promedio de masa foliar tiende a presentar una relación alométrica con una pendiente menor a uno; es decir, que la inversión de masa foliar no aumenta de manera proporcional al área superficial (Nicotra et al. 2011). La convergencia evolutiva en la morfología foliar, dentro de un hábitat y entre hábitats, es una gran evidencia de que el patrón observado es el resultado de la selección, más que de deriva, efectos fundadores, pleiotropía, epistasia o la disponibilidad histórica de variación genética (Givnish 2008).

Estudios comparativos demuestran la existencia de un patrón ecológico en varios aspectos de la forma de la hoja y su fisiología, por ejemplo, el tamaño efectivo de la hoja tiende a incrementarse de acuerdo al aumento en el gradiente de lluvias, humedad y/o fertilidad del suelo, y tiende a decrecer con el aumento de la intensidad luminosa; las hojas tienden a ser más glaucas (más reflejantes) en sitios más soleados, áridos o infértiles; las hojas perennes son comunes en hábitats con suelos pobres en nutrientes y/o poca variación estacional; las hojas lobuladas son más comunes en árboles de ambientes templados y en árboles tropicales de sucesión temprana; las hojas con ápices muy

acuminados suelen ser comunes en bosques lluviosos y nublados; las hojas con bases cordadas son más comunes en hábitos herbáceos rastreros o trepadores y acuáticos, entre otros (Givnish 2008).

La tendencia de caracteres foliares en ciertos hábitats no se reduce a la forma de la lámina foliar, sino que abarca otros caracteres anatómicos como disposición y cantidad de estomas y tricomas, grueso de cutícula, grueso de mesófilo, entre otros. Por ejemplo, las hojas xeromórficas (aquellas que muestran adaptaciones a ambientes muy áridos) suelen tener paredes celulares más gruesas, cutículas anchas, aumento en la densidad de tricomas, presencia de estomas sólo en la parte abaxial de la hoja; por otro lado, las hojas de plantas halófitas suelen tener tricomas glandulares que remueven la sal del tejido de la hoja; y las hojas hidrófitas se caracterizan por tener mayor cantidad de aerénquima (Dickison 2000).

La morfología de las hojas se encuentra regulado genéticamente durante el desarrollo de la planta, sin embargo, puede verse afectada por factores ambientales (Dolan & R Scott Poethig 1991)□. En algunos grupos de plantas, modificaciones en las condiciones ambientales disparan cambios en la forma de las hojas, este fenómeno se conoce como heterofilia inducida ambientalmente (Dengler & Tsukaya 2001).

1.3. Domesticación

Los primeros intentos de domesticación ocurrieron hace 10,000 años, en ese tiempo, un episodio de calentamiento global marcó el final de la última era de hielo; más o menos simultáneamente, en varios lugares del mundo, se dio el cambio de una economía con base en la caza y la recolección a una con base en la agricultura; la agricultura surgió en distintas partes del mundo (Gepts & Papa 2003).

La domesticación es un proceso de selección genética, ejercido (consciente o inconscientemente) por los humanos con el fin de adaptar a plantas y animales silvestres al cultivo y el pastoreo (Gepts & Papa 2003)□ generando una nueva forma de planta o animal (domesticado) en beneficio del humano (Doebley et al. 2006)□. La relación que se desarrolla entre la población humana y la población de plantas o animales es favorable para ambas partes, confiriendo a ambas poblaciones ventajas selectivas; la particularidad de esta relación mutualista recae en el manejo (propagación y cuidado) sostenido por parte del humano dentro de un contexto antropogénico de domesticación (Zeder et al. 2006).

Este proceso inicia con la explotación de plantas silvestres, continúa por el cultivo de plantas seleccionadas de las poblaciones silvestres pero aún no distintas genéticamente, y termina con la fijación, debido a la selección artificial de características morfológicas y por tanto genéticas, que hacen distinguible a las plantas cultivadas de sus parientes silvestres (Pickersgill 2007).

La domesticación es un proceso evolutivo que puede generar en las poblaciones de plantas un gradiente morfológico de las características que se pretenden seleccionar, formando un continuo desde los fenotipos silvestres hasta los domesticados (Gepts 2004)□. El manejo del humano puede ir desde coleccionar sistemáticamente algunos productos de especies silvestres, mantener en los ambientes naturales la planta de interés, procurar su crecimiento sobre otras especies, protegerla de la competencia de otras especies, hasta cultivarla. Por tanto, el manejo de plantas es una condición necesaria pero insuficiente para decir que una planta está domesticada (Gepts 2004)□ y la domesticación actúa tanto en plantas semidomesticadas y con domesticación incipiente como en plantas completamente domesticadas (Casas et al. 2007).

La selección artificial ejercida sobre las plantas cultivadas ocasiona una relación mutualista, de tal forma que ambas poblaciones se convierten cada vez más interdependientes (Casas et al. 2007; Zeder et al. 2006), adquiriendo características que les permiten su adaptación a los ambientes de cultivos, y que aumenten su productividad para beneficio de los agricultores. Estas características suelen ser comunes en todos los cultivos, y constituyen el síndrome de domesticación, que provoca la distinción entre las poblaciones cultivadas y sus progenitores silvestres (Gepts & Papa 2003). El síndrome de domesticación se caracteriza por causar en las plantas cultivadas menor capacidad de sobrevivir en estado silvestre, por tanto generan mayor dependencia del humano para crecer y reproducirse. Los cambios más notables en el síndrome de domesticación son la pérdida de dispersión y de dormancia de las semillas; otras características incluyen: aumento de tamaño (especialmente en la parte de interés), incremento de autopolinización o reproducción vegetativa, y pérdida de protección química o mecánica contra herbívoros (Pickersgill 2007; Gepts & Papa 2003).

Durante el proceso de domesticación, la diversidad genética de la población de interés se ve reducida como consecuencia de la selección artificial, la extensión del cuello de botella depende tanto del número de individuos de la población fundadora como de la duración del proceso; la reducción en la diversidad es más marcada en los genes relacionados con la característica de interés (seleccionada) que en los genes neutrales

(Vaughan et al. 2007; Zeder et al. 2006). Un segundo cuello de botella puede estar asociado a la dispersión del cultivo desde su origen hacia otras partes del mundo (Zeder et al. 2006). El cuello de botella implica que en los progenitores silvestres de las plantas cultivadas exista una reserva de diversidad genética que no ha sido modificada por el humano (Gepts & Papa 2003).

A pesar del efecto fundador que ocurre en el proceso de domesticación, uno de los cambios asociados a la domesticación es el aumento en la variabilidad morfológica, que es especialmente notable en el órgano de interés humano, incluso se han identificado algunos genes que contribuyen al mantenimiento y diferenciación de variedades de algunos cultivos (Pickersgill 2007; Doebley et al. 2006). La variación en los cultivos es generalmente mantenida por los campesinos por medio de sistemas de cultivo tradicionales (como la milpa), sin embargo, la homogeneización genética en los cultivos se ve brutalmente aumentada con la producción en monocultivo que desde la década de 1960 ha ido remplazando el modo de producción tradicional (Engels et al. 2006).

El área geográfica en donde se domestica a una población silvestre se reconoce como el centro de domesticación; los progenitores silvestres tuvieron un proceso de especiación también en un área geográfica determinada, reconocida como centro de origen; generalmente las especies cultivadas pertenecen a la misma especie que su progenitor silvestre, por lo tanto, es común que puedan formar híbridos (Gepts & Papa 2003)□. Es común que en donde se domesticó una especie, coexistan los progenitores silvestres y los parientes silvestres cercanos, además de los híbridos que puedan formarse, esto aunado a la actividad del humano por generar y mantener variedades cultivadas, desemboca en una mayor diversidad genética en el cultivo y/o en los parientes silvestres, conformando un centro de diversidad (Gepts 2011). Por lo tanto, los centros de origen, de domesticación y de diversidad se caracterizan por tener un amplio espectro fenotípico en sus cultivos, en sus progenitores silvestres y en las especies cercanamente emparentadas; esta diversidad genética es el capital para el mejoramiento actual y futuro de los cultivos (Gepts & Papa 2003).

A pesar de la dificultad metodológica y conceptual en delimitar dichas regiones, todos los autores reconocen que Mesoamérica es un área en donde se originó la agricultura independientemente, y constituye el centro de domesticación, diversidad y origen de una gran cantidad de plantas cultivadas (Pickersgill 2007; Casas et al. 2007; Gepts 2004; Vavilov 1994; Harlan 1971), entre ellas el algodón.

1.4. *Gossypium hirsutum*, el algodón mexicano

Gossypium es uno de los ocho géneros que conforman la tribu *Gossypieae*, que se diferencia de otros miembros de la familia Malvaceae por presentar glándulas con gossypol en todos los tejidos de la planta, además se distingue por algunos caracteres morfológicos del embrión, y anatomía de la madera y de la testa de las semillas (Wendel & Cronn 2003; Fryxell 1979). Dentro de la tribu *Gossypieae*, el género *Gossypium* se distingue por la presencia de una combinación de caracteres, y no por un carácter único del género, estas especies presentan: un estilo sin divisiones, cápsula coriácea que contiene varias semillas por lóculo, número cromosómico somático de 26, y la presencia de tres brácteas involucras en cada flor (Wendel & Cronn 2003).

Durante la radiación del género surgió una gran diversidad genómica y citogenética; las observaciones del comportamiento de apareamiento, los tamaños cromosómicos, y la fertilidad relativa entre híbridos interespecíficos, condujo a la clasificación del género en ocho conjuntos de especies diploides (n=13) identificándolas con símbolos de una letra (A-G y K; Wendel & Cronn 2003; Endrizzi 1985).

La historia evolutiva del género incluye varios episodios de dispersiones transoceánicas, invasión de nuevos nichos ecológicos, y una frecuencia bastante alta de hibridación interespecífica entre linajes que actualmente están geográficamente aislados y son interestériles, el caso de la alopoliploidización es uno de estos episodios. Existen cinco especies alopoliploides que diversificaron en América, tres con distribuciones geográficas pequeñas (*G. darwinii*, *G. tomentosum*, y *G. mustelinum*) y dos con distribuciones amplias (*G. hirsutum* y *G. barbadense*). La alopoloidización se formó por la hibridación del genoma D (americano) y el genoma A (africano), posterior a la hibridación se dio la diversificación en tres linajes que contienen a las cinco especies alotetraploides, aparentemente el origen de estas especies sucedió en el Pleistoceno, esta datación sugiere un proceso de diversificación rápido (Wendel et al. 2010; Wendel & Cronn 2003).

Cuatro especies del género *Gossypium* han sido domesticadas, dos diploides en África-Asia (*G. arboreum* y *G. herbaceum*), y dos alotetraploides en América (*G. hirsutum* y *G. barbadense*; Wendel et al. 2010; Wendel & Cronn 2003)□; sin embargo es *G. hirsutum* el actualmente dominante en el comercio mundial, de hecho más del 95% de algodón que se vende en el mundo proviene de cultivos de dicha especie (Wendel et al. 2010; C. L. Brubaker & Wendel 1994).

El caso de la domesticación del algodón es muy particular ya que ha sido domesticado independientemente en diferentes lados del mundo debido a una misma característica: los tricomas o fibra que produce la semilla (Wendel et al. 2010; Wendel & Cronn 2003).

Es bien reconocido que en México se dio el proceso de especiación de *G. hirsutum*, por lo que es reconocido como centro de origen. Sin embargo, la delimitación de la región o regiones en donde se domesticó y en dónde existe mayor diversidad (centro de domesticación y centro de diversidad, respectivamente) es aún poco clara (Wegier 2013).

Fryxell (1979) reconoció la existencia de dos hábitos o tipos de plantas, las que denominó realmente silvestres y las que denominó escapadas. Según Fryxell la selección artificial durante el proceso de domesticación ha provocado que los algodones cultivados presenten pérdida de dormancia de la semilla, reducción del tamaño de la planta, aumento de productividad incrementando tanto el tamaño como el número de frutos por planta, aumento de la cantidad de fibra en cada semilla, y desarrollo del hábito anual. En cambio, las plantas silvestres existen como arbustos en dunas costeras, cuyas hojas están continuamente expuestas a la brisa salina, estos individuos se distribuyen en playas a lo largo del Golfo de México y en el Caribe y se extiende a algunas localidades en Polinesia. Generalmente se trata de arbustos perennes de lento crecimiento, usualmente formando grandes agrupaciones, presentan frutos pequeños, y fibra fina y escasa. También existen individuos que crecen en asociación a asentamientos humanos, en jardines de traspatio, a lo largo de caminos, o en estado feral, generalmente confinados a áreas con disturbio. Estas plantas no muestran diferencias morfológicas de las silvestres de litoral, pero difieren en términos ecológicos, por lo que han sido consideradas como plantas ferales o cimarronas (Fryxell, 1979).

Estudios posteriores apoyan esta hipótesis; de acuerdo a Wendel (2010) el centro de diversidad morfológica es Mesoamérica, en donde se puede encontrar un continuo de morfologías muy diversas desde las formas cultivadas a los silvestres; mientras que existen dos centros de diversidad genética, uno en el Caribe y otro en el Sur de México y Guatemala, además indica que el único lugar en donde existen algodones silvestres es la Península de Yucatán, pues presentan las características que Fryxell determinó propias de los individuos silvestres. Por la presencia de las poblaciones silvestres, la Península de Yucatán se ha propuesto como probable centro de domesticación (Wendel et al. 2010; Brubaker & Wendel 1994; Wendel & Albert 1992). Sin embargo ahora sabemos que el

estudio se llevó a cabo utilizando plantas domesticadas y que para llegar a esa conclusión se necesita valorar la diversidad de las poblaciones silvestres (Wegier 2013).

Recientemente, Wegier y colaboradores (2011), con base en la distribución potencial del nicho y análisis de la estructura genética, han propuesto la existencia de poblaciones de algodón silvestre en ocho diferentes zonas costeras de México, las cuales presentan una dinámica ecológica metapoblacional; además analizando la diversidad genética con microsatélites de cloroplasto encontraron 46 diferentes haplotipos de los cuales más del 70% resultaron únicos de alguna metapoblación. Con este análisis, Wegier *et al.* (2011) comprueban que las poblaciones asociadas a disturbio humano, distribuidas a lo largo del Golfo de México, de la Península de Yucatán, en Baja California y a lo largo del Océano Pacífico Mexicano también pertenecen a poblaciones silvestres (inferido por la alta diversidad genética encontrada en las metapoblaciones silvestres en comparación con la baja diversidad encontrada en plantas domesticadas). El hecho de que exista un continuo morfológico entre las plantas silvestres y las cultivadas reafirma que no hay una delimitación clara entre una planta de algodón cultivado y uno silvestre cuando se trata del centro de origen y de diversidad. Estos resultados cuestionan las propuestas anteriores sobre los centros de domesticación y de diversidad de *G. hirsutum*.

1.5. Variación foliar en algodón

El algodón presenta una gran variación morfológica, y las hojas no son la excepción, la forma de la hoja y la lobulación varía mucho entre especies y razas (Percy & Kohel 1999). Las hojas del género *Gossypium* suelen ser ovadas y cordadas, enteras, acuminadas, algunas ligeramente lobadas a profundamente palmada, con tres a siete lóbulos (trifoliada en una especie), y nervación palmada o con lóbulos divididos con tres a siete venas, la mayoría de las especies presentan de uno a cinco nectarios foliares (Fryxell, 1979).

Particularmente *G. hirsutum* presenta hojas con tres a cinco lóbulos, siendo el lóbulo central de triangular a ovado, usualmente de uno a 1.5 veces tan largo como ancho. También existen individuos con hojas profundamente lobadas, presentando cinco lóbulos lanceolados y angostos (Fryxell, 1979).

De acuerdo a Stephens (1939) la forma de la hoja de *G. hirsutum* se determina por una serie de cuatro alelos, que denomina: I, L^O, L^S, L^E. A estos tipos de hojas también se les ha denominado *Normal* o *Amplia*, *Okra* o *Angosta*, *Superokra* o *Muy angosta* y

Subokra o *Angosta intermedia*, respectivamente (Jiang et al. 2000). En los cultivos y accesiones se encuentra con mayor frecuencia el tipo de hoja *Normal*, luego la *Okra* y finalmente la *Superokra*, la presencia de *Subokra* es poco documentada (Stephens 1939b).

La morfología de *Okra* es tan distinta a la *Normal* que ha sido propuesta como otra especie del género *Gossypium*, *G. lanceolatum*, sin embargo las últimas revisiones clasifican a estos individuos como una variedad de *G. hirsutum*, denominada raza palmeri (Wendel & Cronn 2003; Fryxell 1979)□. Apoyando los estudios de Fryxell, en donde expresa que *G. lanceolatum* sólo existe en México con una distribución restringida a cultivos de traspatio, Wendel y Cronn (2003) publicaron que esta no es una especie si no una variedad cultivada.

La característica que diferencia cada tipo de hoja es la profundidad del seno entre los lóbulos, mientras que la hoja *Normal* presenta cinco lóbulos apenas diferenciables, el tipo *Okra* presenta cinco lóbulos muy marcados, y las otros tipos de hoja presentan formas intermedia entre la *Normal* y *Okra* (Figura 1). Es decir, las variantes alélicas alteran el número de lóbulos, incrementan la profundidad del seno, y decrecen el área de la lámina (Percy & Kohel 1999). El hecho de que el híbrido de *Normal* x *Okra* exprese una forma intermedia entre los dos fenotipos, indica un patrón hereditario de dominancia incompleta (Nawab et al. 2011). De acuerdo a Hammond (1941) el tipo de hoja *Okra* tanto en *G. hirsutum* como en *G. arboreum* está bajo el control de genes aditivos y no aditivos (M. Hussain et al. 2008)□.

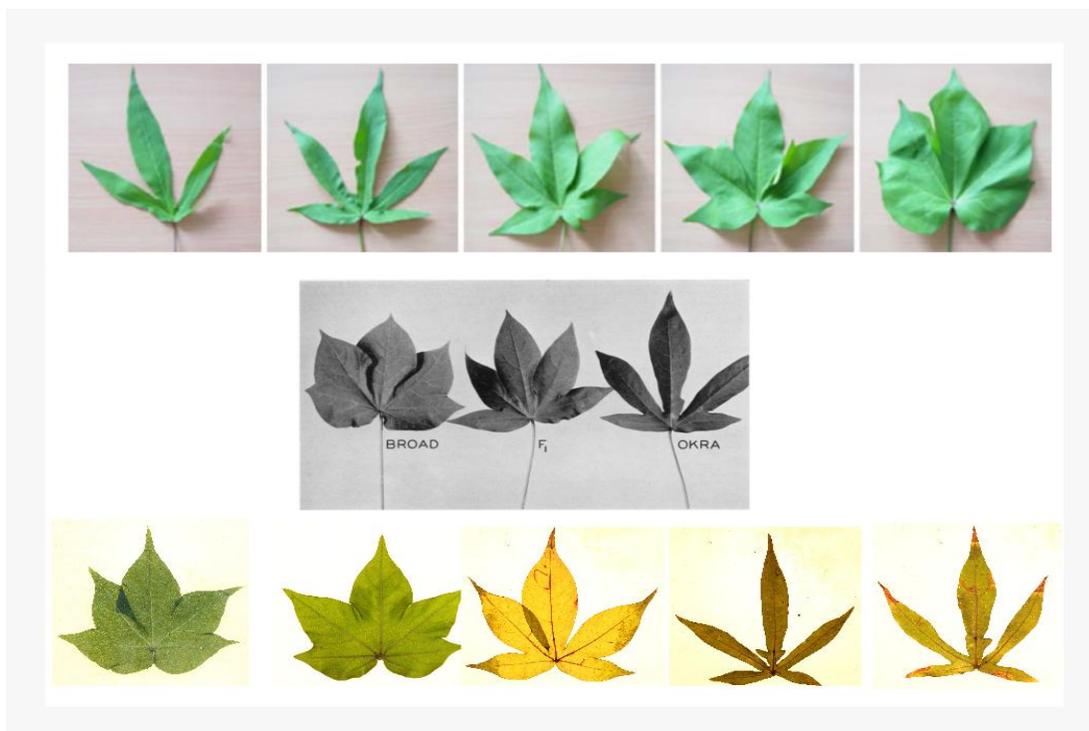


Figura 1. Ejemplos de hojas *Okra* y *Normal*. Arriba: Forma de hojas de algodones híbridos cultivados, de izquierda a derecha representan a la hoja *Superokra*, *Okra*, *Semiokra*, *Subokra* y *Normal*, usadas en un estudio sobre productividad en relación a la forma de la hoja (tomado de Zhu et al., 2008) □. En medio: hojas típicas de *G.hirsutum* de forma *Normal* y *Okra*, y su híbrido F1 (tomado de Hammond, 1941) □. Abajo: hojas de *G.hirsutum* colectadas en campo en distintas metapoblaciones para esta investigación.

Desde los primeros estudios realizados por Hutchinson se propuso que la forma de la hoja es determinada por un locus, y generalmente se reconocen cuatro alelos. La hoja amplia, l_2 , es recesivo a varios alelos del locus l_2 , incluyendo hoja *Okra* (L_2^0), *Subokra* (L_2^u) y *Superokra* (L_2^s ; Percy & Kohel 1999). Algunos investigadores han puesto a prueba esta hipótesis, y varios han encontrado que efectivamente la forma de la hoja se trata de un carácter monogénico de dominancia incompleta (Nawab et al. 2011; Niles 1980). Adicionalmente, se han hecho mapeos genéticos para conocer en qué cromosoma se encuentra el locus que determina la forma de la hoja, encontrando un grupo de genes ligados al cual denominaron II localizado en el cromosoma 15; tanto el grupo II (del subgenoma D) como el grupo VII (en cromosoma 1 del genoma A) se caracterizan por tener, entre otros, los pares de genes homólogos que determinan la forma de la hoja (L_1^l y L_2^0 ; Percy & Kohel 1999).

Recientemente se han realizado análisis de *loci* de caracteres cuantitativos o QTLs (*quantitative trait loci*) con el fin de encontrar los *loci* que determinan la forma de la hoja, en esos estudios se reporta un QTL que afecta el largo y el ancho del lóbulo principal en la parte inferior del cromosoma 15, que corresponde a la locación del alelo *Okra* reportado en el mapa cromosómico clásico por Endrizzi (1984) y retomado por Percy y Kohel (1999) □ (Jiang et al. 2000).

Sin embargo hoy en día no se conoce un gen que podría determinar los cuatro alelomorfos propuestos por Hutchinson y Stephens. Por otro lado, en el mismo estudio, Stephens (1939) no encontró el radio de segregación esperado en la F₂ de la cruce *Superokra* x *Okra*, y afirma que controlando el largo de las plantas previo a la floración, la hoja *Okra* puede ser convertida en una fenocopia de la hoja *Superokra* y al revés. Adicionalmente, en algunos estudios se ha encontrado que la expresión fenotípica en condición heterociga se ve afectada por otros genes o por el bagaje genético (Hafeez-ur-Rahman & W. S. Khan 1998) □ □. En el estudio de QTLs previamente mencionado se encontró que el efecto de los alelos parentales en ese locus varía para distintos lóbulos, sugiriendo que este locus debe tratarse de un agrupamiento de genes (Jiang et al. 2000) □. En otro estudio de QTLs sí encontraron un locus que determina el ancho de lóbulos, sobre todo secundarios y terciarios, asociado al cromosoma 15, sin embargo encontraron otros 10 QTLs en distintos cromosomas asociados a seis parámetros morfológicos foliares (Song et al. 2005).

Además de mostrar distintos tipos de hojas, *G. hirsutum* presenta un fenómeno conocido como heteroblastia, que se refiere a que durante el desarrollo de la planta la forma de las hojas va cambiando paulatinamente hasta llegar a una forma que algunos autores llaman hoja clímax u hoja madura, correspondientes a los tipos de forma de hoja antes mencionados (Hammond 1941; Stephens 1939a).

La forma de la hoja puede tener un efecto sustancial en las características fisiológicas y del dosel, la habilidad de interceptar la luz es uno de los factores más importantes en el crecimiento de las plantas (Hafeez-ur-Rahman et al. 2005). Por ejemplo, los genotipos que poseen morfología *Okra* y *Superokra* presentan valores de área foliar menores que las contrapartes isogénicas con hoja *Normal*, esta característica puede provocar una capacidad menor de interceptar la luz, sin embargo, también puede provocar que las hojas inferiores reciban mayor luz, incrementando la radiación fotosintéticamente activa (Wells & Stewart 2010).

También se ha asociado una tasa mayor de intercambio de CO₂ y de eficiencia de agua, además de menor conductancia estomática en hojas *Okra* comparadas con hojas de tipo *Normal* (Pettigrew et al. 1993). Estas características hacen de los algodones con hoja *Okra* individuos potencialmente tolerantes a la sequía (Hafeez-ur-Rahman et al. 2005)□.

Los individuos con hoja *Okra* generalmente son asociados a una maduración temprana, mientras que siguen teniendo la misma productividad que los individuos con hoja *Normal* (Ulloa 2006). Por otro lado, la forma de la hoja también se ha visto relacionada con la resistencia a herbívoros, aparentemente los insectos tienen menor preferencia por la forma *Okra* que por la hoja *Normal*, sobretodo la mosquita blanca (Nawab et al. 2010)□□. También se ha visto menores niveles de infección por hongos en cultivos de hoja *Okra*, probablemente porque incrementa las corrientes de aire entre el dosel (Andries et al. 1969) y cierta resistencia al gusano rosado o lagarta rosada (*Pectinophora gossypiella*; Ulloa 2006).

Por estas características, se han realizado varios estudios desde un punto de vista agronómico, en donde se relaciona la morfología foliar con la productividad y calidad de fibra, tasa fotosintética, resistencia a plagas, retención de flores y cápsulas, entre otros (por ejemplo (Ulloa 2006; Sassenrath-Cole 1995; Thomson et al. 1987; Longstreth & Nobel 1979)□. La morfología foliar de *G. hirsutum* ha sido estudiada sobre todo desde una aproximación genética, ya sea para conocer cómo se hereda esa característica (Stephens 1945b; Stephens 1945a; Hutchinson 1934; Peebles & Kearny 1928) o para estudiar su desarrollo (Dolan & R Scott Poethig 1991; Dolan & R. Scott Poethig 1998; Rhyne 1960; Ashby 1948)□. Actualmente se estudian caracteres que pueden conferir a las hojas mejor productividad o menor índices de herbivoría (por ejemplo J-M Lacape & Nguyen 2005; Jiang et al. 2000)□. La idea es alcanzar un balance entre la capacidad de interceptación luminosa, mayor movimiento de aire y penetración de luz en los estratos inferiores del dosel, mayor productividad y menores pérdidas por herbívoros (Wells & Stewart 2010).

La variación en la forma de la hoja de *G. hirsutum* ha sido estudiada cualitativamente, con base en la clasificación de las distintas formas observadas (por ejemplo (Nawab et al. 2011; W. Zhu et al. 2008; Stephens 1939a); y cuantitativamente, con medidas morfométricas clásicas, como son el largo de los lóbulos, la distancia del lóbulo a la base y del seno de la hoja a la base, el ancho de los lóbulos, el número de

lóbulos, e incluso índices relacionando esas medidas (Song et al. 2005; Jiang et al. 2000; Hammond 1941b; Stephens 1939a).

Los antecedentes hasta aquí descritos se han realizado estudiando plantas domesticadas de la especie *G. hirsutum*, por lo que resulta de particular interés conocer la variación foliar de las metapoblaciones silvestres de México y en esa variación se enfoca esta investigación.

2. Planteamiento del problema

La capacidad de adaptación ante cambios ambientales y la adecuación de las poblaciones dependen de su diversidad. El estudio de la morfología es una de las aproximaciones para estudiar la variación en una población, dicha variación morfológica estará determinada por variación genética o por plasticidad fenotípica. Es por esto que los centros de diversidad pueden determinarse por la existencia de una gran variación genética, por una gran variación morfológica, o por ambas (Rocha & Gasca 2007; LBOGM-DOF 2005; Gepts & Papa 2003).

La variación morfológica y genética funcional en las poblaciones silvestres de algodón no ha sido estudiada, de hecho, el conocimiento sobre la variación morfológica foliar se sustenta en los estudios con plantas cultivadas. Esto supone dos problemas: en primera existe una falta de conocimiento de la situación actual de las poblaciones silvestres en cuanto a variación fenotípica y potencialmente adaptativa, lo que coloca en desventaja cualquier tipo de manejo y plan de conservación que se quiera aplicar en las poblaciones silvestres de algodón; esto conlleva al segundo problema, la falta de información no permite que la diversidad que albergan las poblaciones silvestres pueda ser utilizada en el mejoramiento del algodón cultivado.

Los estudios que existen sobre la frecuencia de los distintos tipos de formas de hojas de *G. hirsutum* reportan la existencia de algunos *morfos* sólo en cultivos, sin embargo, la falta de conocimiento de varias de las poblaciones silvestres pone en tela de juicio esta aseveración. Adicionalmente, la variación foliar de *G. hirsutum* ha sido analizada con métodos cualitativos, en donde designan categorías de forma por observación, o con métodos cuantitativos de morfometría clásica, en donde se toman medidas de largo y ancho de las estructuras foliares y luego se intentan relacionar; en este sentido, no existen estudios que hayan descrito cuantitativamente la forma de la hoja de *G. hirsutum* en su totalidad, esta descripción puede representar un gran paso en los análisis de genética cuantitativa de la especie.

Respecto a las consecuencias que tiene cierto tipo de hoja en los individuos, se ha estudiado desde una concepción agronómica con el fin de conseguir mayor productividad en cultivos de algodón, sin embargo, no se sabe qué consecuencias puede tener la existencia de un tipo de hoja en particular en las poblaciones silvestres, describir primero las formas existentes en estado silvestre es el primer paso para realizar estudios

posteriores que relacionen la forma de la hoja con la adecuación de los individuos silvestres.

Por otro lado existen muy pocos estudios sobre la pérdida de diversidad durante el proceso de domesticación en órganos con menor presión de selección que el carácter perseguido, como serían las hojas en el caso del algodón. Comparar la diversidad foliar de las poblaciones silvestres con las poblaciones cultivadas puede ser de utilidad para el mayor entendimiento del proceso de domesticación y la variación morfológica, así como del síndrome de domesticación. Además, la comparación morfológica de poblaciones silvestres y cultivadas puede ayudar a definir si existen características del proceso de domesticación claramente diferenciables en esta especie, es decir, si es fácilmente reconocible un fenotipo cultivado, uno escapado y uno silvestre. Esta información puede ser relevante en cuestiones de bioseguridad, ya que contribuirá al diseño de estrategias para evitar el flujo génico e introgresión de la plantas genéticamente modificadas a sus parientes silvestres.

El análisis de la variación foliar es importante como parte de la descripción de la diversidad que existe en las poblaciones silvestres de *G. hirsutum*. Este estudio contribuye en dos áreas de conocimiento de la especie, por un lado, por la generación de evidencia biológica para describir los centros de diversidad de *G. hirsutum*, lo cual es información relevante para diseñar estrategias de conservación de la especie. Por otro lado, aporta conocimiento básico sobre la variación foliar y sus causas, lo cual puede ser aplicado en sentido agronómico, pues la variación de las poblaciones silvestres puede ser aprovechada en el fitomejoramiento del algodón cultivado (Gepts 2004). En este trabajo se pretende hacer un estudio cuantitativo de la variación morfológica foliar de *G. hirsutum* utilizando técnicas que permiten estudiar a la forma en su totalidad y no en medidas segmentadas.

3. Objetivos

El objetivo general de este trabajo es analizar la variación morfológica intra e interpoblacional de las hojas de *G. hirsutum* silvestre y compararla con la variación de las plantas domesticadas.

Los objetivos particulares de este trabajo son:

- Analizar la variación morfológica foliar existente en las poblaciones silvestres de algodón.
- Comparar la variación morfológica foliar de las poblaciones silvestres con la variación presente en las plantas domesticadas analizando el efecto del proceso de domesticación.
- Analizar la aportación de los resultados sobre las estrategias de manejo para la conservación y medidas de bioseguridad de la especie en México.

4. Hipótesis

Bajo el supuesto de que el proceso de domesticación implica una merma en la diversidad de las plantas debido a la selección artificial dirigida a un carácter de interés, entonces, podríamos esperar que exista menor variación foliar en las plantas cultivadas que en las silvestres (aunque las hojas no sean el órgano de interés de la domesticación).

Hipótesis nula. Si la variación foliar está más correlacionada con el ambiente que con la diversidad genética entonces no habrá diferencias antagónicas entre cultivadas y silvestres.

5. Predicciones

A pesar de que pueda existir mayor variación en las poblaciones silvestres que en las cultivadas debido al cuello de botella del proceso de domesticación, existen otros procesos que pueden estar determinando la presencia de ciertos morfotipos en las poblaciones cultivadas:

a) en el proceso de domesticación se pueden formar híbridos y reproducir individuos que a lo mejor en las poblaciones silvestres no tienen contacto unos con otros, esto puede generar nuevas variantes que en las poblaciones silvestres sean inexistentes.

b) alternativo al cuello de botella, durante la domesticación existe un proceso de diversificación que sobre todo es observado en el órgano de interés (por ejemplo todas las razas de maíz existentes en México o todas las variedades de papa en Perú), las hojas, aunque no son el órgano de interés, son vitales en el crecimiento y productividad de las plantas de algodón, podrían estar también bajo cierta presión selectiva que desemboque en una diversificación de formas similar a la que vemos en otros cultivos.

c) por otro lado, debido al cuidado intensivo que se le da a la planta en cultivo, podría ser que la forma de las hojas en las plantas cultivadas no presente una presión selectiva fuerte, la falta de selección en este órgano podría resultar en que todas las variaciones que surjan entre las cultivadas sobrevivan y existan más tipos de hojas entre los cultivos que entre las poblaciones silvestres.

Respecto a las poblaciones silvestres, se ha encontrado una estructura genética en ocho metapoblaciones, por lo que se podría esperar que, si la herencia de la forma de la hoja tiene un componente mayoritariamente genético, exista un patrón de formas de hojas que concuerde con esta estructura genética. Sin embargo, si la forma de las hojas

se encuentra más determinada por variación ambiental entonces no se encontrará un patrón definido, o este patrón dependerá de constantes ambientales.

6. Métodos

6.1. Trabajo en campo

Especie de estudio: *G. hirsutum* es una especie de la familia Malvaceae originaria de México y ahora con distribución cosmopolita en forma de cultivo. Se distribuye a lo largo de las costas mexicanas del Golfo de México, la Península de Yucatán, el Océano Pacífico y el extremo Sur del Golfo de California, y en algunos parches de selva baja caducifolia cercanos a estas zonas litorales. Es común encontrarla en asociación con disturbios humanos, en terrenos baldíos, como plantas de traspatios y a los bordes de caminos y carreteras. El algodón *G. hirsutum* muestra una gran variación morfológica a lo largo de su distribución, se pueden encontrar desde plantas rastreras a arbustos pequeños, hasta árboles con un eje principal de cinco metros de altura. En cuanto a la hojas también presenta una gran variación morfológica, desde hojas amplias ligeramente lobuladas hasta hojas profundamente lobuladas con lóbulos delgados y largos. Las localidades en donde se han encontrado algodones silvestres están estructuradas genética y geográficamente en ocho grandes metapoblaciones por su dinámica ecológica de colonización, extinción y recolonización característico de un comportamiento metapoblacional (Wegier 2013).

Sitio de estudio: Las localidades de *G. hirsutum* estudiadas se encuentran distribuidas en seis de las ocho metapoblaciones reportadas por Wegier et al (2011). Éstas son: metapoblación Baja California (BC) en el estado de Baja California Sur, metapoblación Pacífico Norte (PN) en Sinaloa, metapoblación Bahía de Banderas (Bb) en Nayarit, metapoblación Pacífico Centro (PC) en Jalisco, Colima, Michoacán y Guerrero, metapoblación Pacífico Sur (PS) en Oaxaca y metapoblación Península de Yucatán (PY) en el estado de Yucatán.

Colecta: Durante el año 2011 se colectaron diez hojas de 20 individuos en seis metapoblaciones, escogiendo aquellas que presentaban cinco lóbulos definidos. Se escogieron las hojas con cinco lóbulos porque todos los individuos con distintos tipos de hojas durante el desarrollo pasan por ese estadio, en la mayoría (excepto en el tipo *Superokra*) representan la forma madura o forma clímax del desarrollo de la planta. Las hojas se mantuvieron en refrigeración hasta el laboratorio en donde cada hoja se aisló con

papel absorbente alrededor, se asperjó un poco de fungicida KAPTAN® BASF (2 g/L) en cada paquete de hojas y se mantuvo en congelación hasta su procesamiento. De cada punto de colecta se anotó la georeferencia.

6.2. Trabajo en laboratorio

Jardín común: con semillas de colectas anteriores se formó un jardín común, en donde se establecieron 20 individuos de las ocho metapoblaciones. Las plantas se mantuvieron en macetas de plástico de aproximadamente 2 litros de capacidad, con un sustrato de agrolita, *peat moss* (musgo *Sphagnum* descompuesto y comprimido) y vermiculita (1:1:1), y en condiciones de temperatura y humedad constantes (20-30°C y 30% de humedad relativa).

De los individuos crecidos en el jardín común se colectaron las hojas cuando alcanzaron la forma de cinco lóbulos, en total se obtuvieron 54 hojas de cinco lóbulos correspondientes a 18 individuos. No se obtuvieron hojas de jardín común de la metapoblación PN, ni de individuos cultivados.

Fotografías: Se tomaron fotografías de las hojas colectadas con una cámara digital Canon Rebel T3i 600D con ayuda de un tripié, y una fuente de luz debajo de la hoja, de forma que se evidenciaran las venas de la hoja, capturando la forma de lámina completa. Las imágenes de cada hoja indicaban el individuo al que pertenecían y una escala. En total se obtuvieron fotografías de tres hojas de cada individuo (réplicas), logrando un total de 311 hojas fotografiadas (Tabla 1). En algunos casos los individuos no tuvieron suficientes hojas de cinco lóbulos, por lo que el número de individuos analizados por cada población varía.

Tabla 1. Número de individuos analizados por población.

Población	Número de individuos
Baja California	15
Bahía de Banderas	11
Pacífico Norte	4
Pacífico Centro	20
Pacífico Sur	14

Península de Yucatán	15
Cultivadas	10
Jardín común	18
Total	107

6.1. Análisis de datos

Morfometría geométrica: Se realizó un análisis de morfometría geométrica con el fin de cuantificar las diferencias de forma de hojas de distintos individuos pertenecientes a distintas poblaciones.

La morfometría geométrica (MG) es un conjunto de técnicas que tienen como propósito analizar estadísticamente las diferencias en la forma usando una descripción cuantitativa de la geometría de la forma (Viscosi & Cardini 2011; Viscosi et al. 2010)□. El concepto de forma en MG es definido como toda la información geométrica que queda cuando se eliminan los efectos de rotación, escala y locación de un objeto (Kendall 1977; Zelditch et al 2004).

En esta técnica se abstrae la forma de un objeto usando puntos homólogos localizados en unidades anatómicamente discretas (*landmarks* o puntos de referencia), de manera que los objetos se analizan como conjuntos de coordenadas o configuraciones de puntos de referencia. Todos los *landmarks* deben estar representados en cada espécimen estudiado, y deben representar la misma localidad anatómica en todos ellos, al final el análisis arroja la variación existente en el espacio contenido entre los puntos. Por esta razón, la selección de puntos de referencia es crucial en el estudio, y deben cumplir las siguientes características:

1. Ser homólogos anatómicamente.
2. Que no se altere su posición topográfica en relación a otros puntos.
3. Que proporcionen una cobertura adecuada de la morfología del objeto.
4. Que puedan encontrarse fácilmente, repetidas veces, y de forma confiable.
5. Que estén en el mismo plano.

(Zelditch et al 2004).

Una vez escogidos los puntos de referencia se debe determinar la escala geométrica, para esto debe calcularse la localidad del centro de la forma (el centroide) y calcular la distancia entre cada punto y el centroide. Luego se calcula la distancia elevada

al cuadrado de cada punto al centroide, esas distancias se suman, y se obtiene la raíz cuadrada, la cantidad resultante es el tamaño centroide. Esta variable de tamaño permite calcular el cambio isométrico de todos los puntos de referencia a partir del centro de la forma (Zelditch et al 2004).

En este estudio se seleccionaron 15 puntos de referencia fácilmente reconocibles en todas las hojas analizadas, usando el programa TPSdig2 (Rohlf 2010; Figura 2).

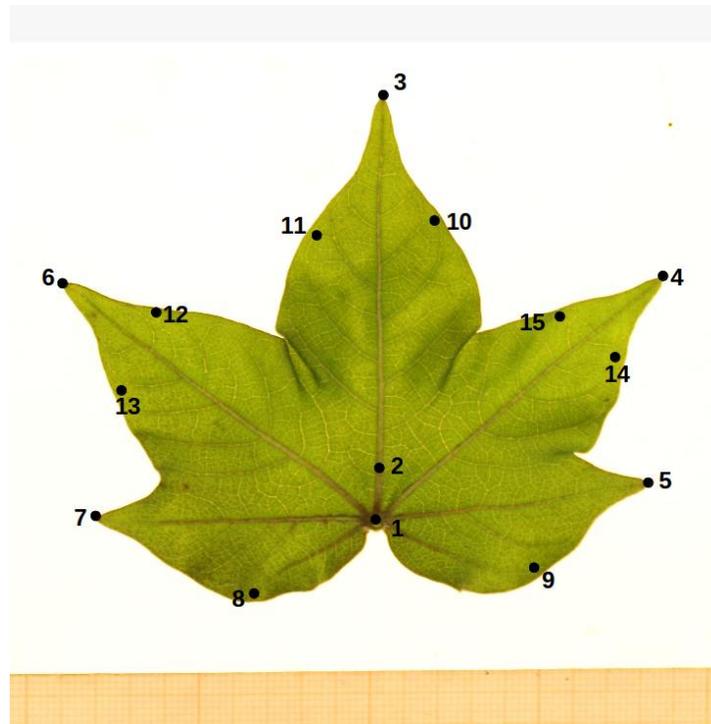


Figura 2. Posición de los 15 puntos de referencia colocados en todas las hojas estudiadas para el análisis de morfometría geométrica. 1) Inserción del peciolo. 2) Nectario extrafloral. 3)Ápice del lóbulo principal. 4-7)Ápice de los cuatro lóbulos secundarios. 8 y 9) Final de la primer vena secundaria en la base de la hoja. 10 y 11) Final de la segunda vena secundaria del lóbulo principal a partir de la base. 12-15) Final de la segunda vena secundaria de los lóbulos secundarios a partir de la base.

Para determinar si existe un efecto en la forma se debe calcular la probabilidad de que la asociación entre las variables no sea mayor a la que existiría por puro azar, y para conocer cuál es ese efecto se debe describir el cambio de la formas, como se ha definido a la forma en términos de toda la configuración de puntos de referencia, el análisis debe incluir toda la configuración, por eso un análisis de forma es siempre multivariado

(Zelditch et al 2004). Para analizar las diferencias en forma primero se deben eliminar las variables de rotación, escala y locación.

Al colocar los puntos de referencia lo que se está haciendo en realidad es construyendo una matriz de configuración que representa la forma del objeto estudiado, esta matriz es de K landmarks x M dimensiones, por ejemplo, en este estudio la matriz de configuración fue de 15×2 . Al conjunto de todas las matrices $K \times M$ posibles que describen todo el conjunto de landmarks dados K y M , se le denomina espacio de configuración. La posición de la matriz de configuración es la localidad del centroide de la matriz, que es M -dimensional y se compone de los promedios de las coordenadas X y Y de los landmarks, entonces, una matriz de configuración está centrada si el promedio de todas las coordenadas es 0; esto se logra trasladando la configuración a lo largo de los ejes X y Y restando las coordenadas del centroide a cada coordenada. De esta forma se elimina la variable de locación; para eliminar la variable de escala, la matriz de configuración se ajusta a un tamaño de centroide igual a uno. Eliminando estas dos variables nos encontramos en un espacio denominado pre-forma, que puede visualizarse como una hiperesfera (Zelditch et al 2004).

En el espacio pre-forma aún no se elimina la variable de rotación, para esto se debe buscar la distancia más corta entre las pre-formas; al conjunto de puntos en el espacio pre-forma que se pueden obtener rotando una pre-forma particular centrada se le denomina fibra. La distancia más corta entre fibras corresponde a la rotación óptima, el arco que une a las fibras se conoce como distancia Procrustes. Esta distancia se cuantifica determinando el ángulo entre el radio que conecta el centro de la hiperesfera al punto en el que las fibras se aproximan más entre ellas. Al seleccionar el punto de mayor aproximación, se reduce cada fibra de la pre-forma a un solo punto que representa la forma, entonces se elimina la variable de rotación (Zelditch et al 2004).

Este nuevo espacio que se construye al eliminar la escala, la locación y la rotación es el espacio de la forma, en donde la distancia entre las configuraciones de forma se conoce como la distancia completa de Procrustes. Si se relaja un poco la condición del tamaño del centroide igual a uno, entonces se puede encontrar una distancia aún menor entre configuraciones, a este espacio se le denomina espacio de Kendall (Zelditch et al 2004).

Para determinar el ángulo de rotación requerido para localizar una pre-forma a una distancia mínima de Procrustes de una segunda pre-forma, es suficiente con rotar la primera forma para minimizar la suma al cuadrado de la distancia entre ambas. Esta

distancia que se está minimizando es la distancia parcial de Procrustes, y se dice que las configuraciones se encuentran en superimposición parcial de Procrustes. Debido a que la distancia de Procrustes es una función monótonica de la distancia parcial de Procrustes, al minimizar la distancia parcial de Procrustes, también se está minimizando la distancia Procrustes. Todos los espacios de la forma son espacios no Euclidianos, pero es posible proyectar localidades en el espacio de Kendall a un espacio Euclidiano tangente al espacio Kendall. (Zelditch et al 2004).

Existen varios métodos para realizar las superimposiciones de la forma, el más utilizado actualmente es el Procrustes de mínimos cuadrados generalizados (GLS por sus siglas en inglés). En éste método se centra cada configuración de puntos de referencia al origen restando las coordenadas del centroide a las coordenadas (X y Y) de cada punto, trasladando a todos los centroides al origen (0,0); después se escala la configuración de *landmarks* a un tamaño de centroide igual a uno, dividiendo cada coordenada de cada punto por el tamaño del centroide de su configuración; luego se escoge una configuración de referencia, este es el punto en el que los distintos métodos se diferencian, finalmente las configuraciones se rotan para minimizar la distancia Procrustes parcial entre todas las configuraciones respecto a la configuración de referencia. Durante el proceso de superimposición de formas se pierden cuatro grados de libertad: se pierden dos grados de libertad al centrar la matriz, se pierde uno más al escalar el tamaño de centroide a uno, y se pierde otro más al rotar la configuración (Zelditch et al 2004).

Se realizó una superimposición GLS en el programa MorphoJ (Klingenberg 2011) □ de tres hojas da cada individuo muestreado por cada metapoblación, incluidos los individuos cultivados y los individuos crecidos en jardín común. Una vez hecha la superimposición de formas, en el mismo programa, se buscaron valores atípicos con la función "*find outliers*", la cual presupone una distribución normal de los datos; esta función te permite ver los individuos que tienen una variación que sobresale de la distribución normal, en varias ocasiones esto se debe a errores de digitalización. Cada individuo fue analizado y se corrigieron los errores que generaban valores atípicos en la distribución de los datos.

Posteriormente se realizó una matriz de covarianza para poder realizar un análisis de componentes principales (PCA por sus siglas en inglés). El PCA es una herramienta para simplificar la descripción de la variación entre individuos, y funciona reemplazando las variables originales con unas nuevas (los componentes principales), que son combinaciones lineales de las variables originales y son independientes entre sí (Zelditch

et al 2004). El PCA de coordenadas de Procrustes o residuales de Procrustes es lo mismo que un análisis de *relative warp*, pero sin ponderar la energía de flexión e incluyendo los componentes uniformes de la variación de la forma (Klingenberg 2013). La variación explicada por los componentes principales puede ser visualizada en gradillas de deformación, las cuales proveen de una descripción visualmente interpretable de la deformación usando la métrica de la distancia Procrustes (Zelditch et al 2004).

El PCA es sólo un método de ordenación, no es un método para probar hipótesis, para saber si las hojas entre individuos de distintas metapoblaciones son diferentes significativamente, se realizaron análisis múltiples de varianza (MANOVA), en donde se utilizaron los valores del PCA para evaluar la variación en la forma, las poblaciones fueron los factores y los individuos los niveles del factor (Zar 1999). Posteriormente se realizaron análisis de varianza de una vía (ANOVA) para analizar qué componente principal (CP) era el que causaba la diferencia entre metapoblaciones. Se realizó una prueba de Tukey para conocer la variación entre las poblaciones.

Con el programa MorphoJ (Klingenberg 2011) se realizó un análisis de variables canónicas (CVA), en donde se pone a prueba la pertenencia de individuos, debido a su configuración de forma, a grupos conocidos *a priori*.

Posteriormente se realizó un análisis múltiple de varianza por cada población, con los tres CP que explicaron la mayor variación en la forma. De las poblaciones que se obtuvo una diferencia significativa en la forma de las hojas se realizó un análisis de varianza de una vía con los dos primeros CP, el tercero no resultó significativo.

Finalmente se realizaron regresiones lineales probando la relación de la forma con distintas variables ambientales: Latitud geográfica, Longitud geográfica, Temperatura media anual, Temperatura estacional, Intervalo anual de Temperatura y Precipitación media anual. Las coordenadas geográficas se referenciaron en campo en el momento de coleccionar, y las variables climáticas se obtuvieron a partir de las capas climáticas de Bioclim (Hijmans et al. 2005).

Todos los análisis de varianza (ANOVAs, MANOVAs y pruebas *post-hoc*) y las regresiones lineales se realizaron en el programa Rstudio (Rstudio 2012).

7. Resultados

Variación entre poblaciones

Se realizó un análisis de componentes principales con las coordenadas Procrustes que arrojó la superimposición de Procrustes (Figura 3), en donde se obtuvieron los componentes principales de la variación de la forma. La mayor cantidad de variación puede ser explicada por la expansión que se da entre los ápices de los lóbulos y la base de la hoja, es decir el primer componente principal (CP1) explica la variación en el alargamiento de los lóbulos de las hojas, y corresponde al 70.65% de la variación. El segundo y tercer CP se deben al cambio en la dirección de los ápices, y explican el 8.9% y 3.3% de la variación, respectivamente (Figura 4).

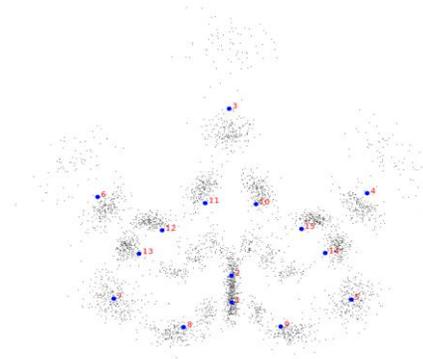


Figura 3. Superimposición Procrustes de mínimos cuadrados generalizados de todos los individuos analizados. Los puntos azules indican la configuración promedio de puntos de referencia, los 15 puntos de referencias son explicados en la Figura 1.

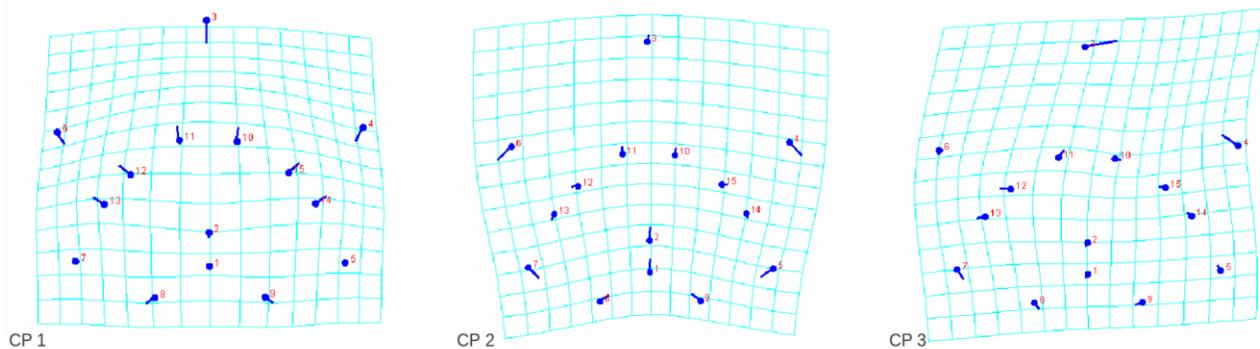


Figura 4. Variación de forma en hojas de todos los individuos colectados (seis metapoblaciones e individuos domesticados) explicada en 70.65% por el primer CP

(izquierda), 8.9% por el segundo CP (en medio) y 3.3% por el tercer CP (derecha), representados en mallas de deformación.

Al representar en una gráfica la dispersión de individuos a lo largo de los dos primeros CP se observa una diferenciación en dos grupos debido al CP1. Algunas poblaciones se mantienen en el grupo de la derecha, que se caracterizan por tener lóbulos cortos, pero otras tienen individuos repartidos en ambos grupos, como Pacífico Centro, Bahía de Banderas y Pacífico Sur (Figura 5).

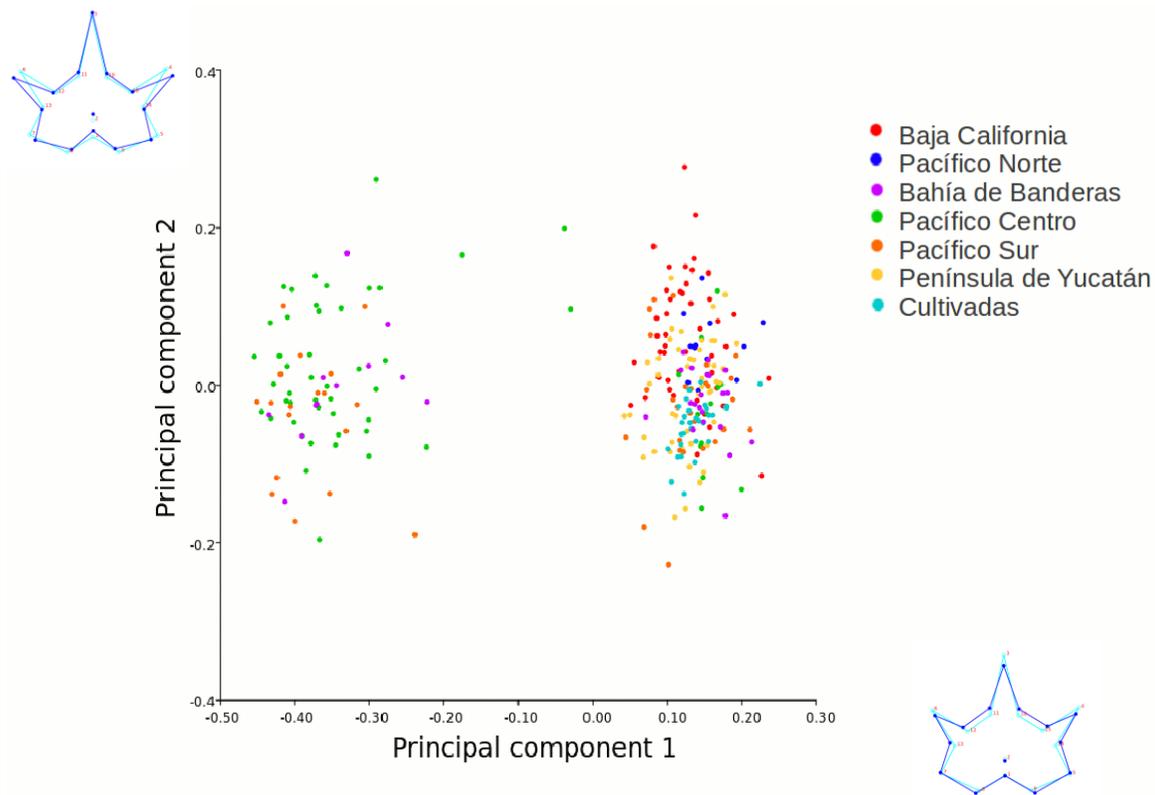


Figura 5. Gráfica de dispersión de individuos de *G. hirsutum* colectados en campo debido a la variación en la forma de sus hojas explicada por los dos primeros componentes principales del PCA, los cuales se muestran en figuras de contorno de alambre en el eje respectivo.

Para probar si las diferencias de forma entre las distintas poblaciones son estadísticamente significativas, se realizó un análisis múltiple de varianza (MANOVA) con los tres componentes principales que explicaron mayor variación en la forma, en donde resultó que la forma de las hojas de individuos de distintas poblaciones son distintas entre sí ($F=12.20$, $P<0.0001$). Sin embargo la variación dentro de algunas poblaciones es mayor

que la variación entre poblaciones ($SS_{\text{error}} > SS_{\text{población}}$), indicando que las diferencias significativas se deben a variación intrapoblacional, mientras que otras poblaciones son más similares entre sí. De las pruebas de ANOVA de cada CP resultó que sólo los primeros dos CP son estadísticamente significativos (Tabla 2).

Aunque sí existen diferencias significativas en la forma de las hojas entre las distintas poblaciones, no todas las poblaciones son distintas entre sí, el análisis *post-hoc* calculado a partir del ANOVA del CP1 indica que las poblaciones de Baja California, Pacífico Norte, Península de Yucatán y los individuos cultivados no son significativamente diferentes, mientras que las poblaciones de Bahía de Banderas y Pacífico Sur son distintas a las primeras, pero similares entre sí, la población Pacífico Centro resultó ser distinta a todas las poblaciones (Figura 6).

Tabla 2. ANOVA de todas los individuos agrupados en poblaciones debido a los tres primeros componentes principales.

Variable	Factor	SS	MS	g.l.	F	P
CP1	Población	6.379	1.063	6	36.350	<2e ^{-16***}
	Error	7.604	0.029	260		
CP2	Población	0.331	0.055	6	10	6.1 ^{e-10***}
	Error	1.436	0.005	260		
CP3	Población	0.007	0.001	6	0.503	0.806
	Error	0.655	0.002	260		

Estas dos agrupaciones debido al largo de los lóbulos de las hojas (CP1) representan dos configuraciones principales de forma, que, en los algodones domesticados han sido clasificadas como *Okra* y *Normal*. Estos tipos de hojas no se encuentran distribuidos homogéneamente entre las poblaciones, de hecho, la forma *Okra* está representada únicamente en las metapoblaciones Bahía de Banderas, Pacífico Centro y Pacífico Sur, mientras que existen individuos con hojas tipo *Normal* en todas las poblaciones.

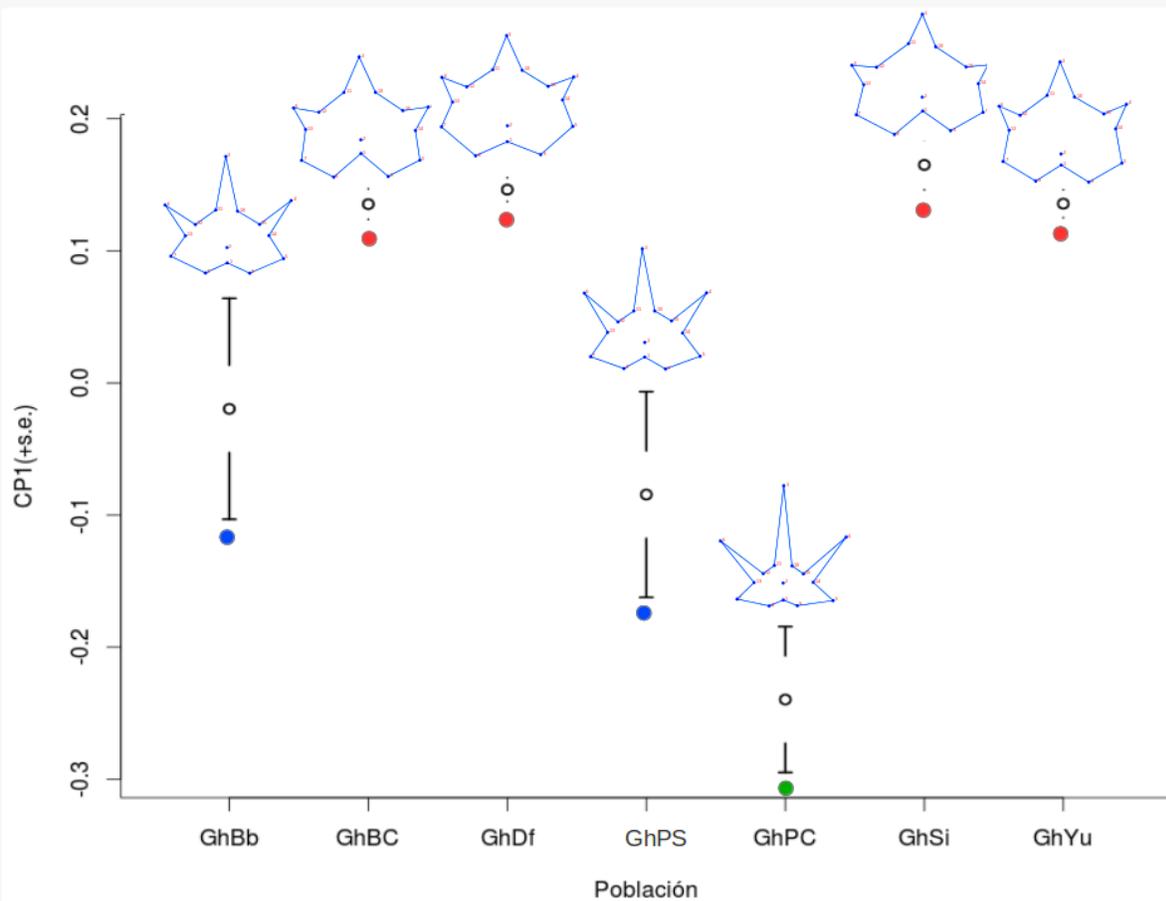


Figura 6. Valores medios del primer componente principal por población con intervalos de confianza al 95%. Los puntos de colores debajo de cada valor indican las diferencias significativas ($\alpha=0.05$) resultantes de la prueba de Tukey. Arriba de cada valor se muestra la forma promedio de cada población. Poblaciones: GhBb (Bahía de Banderas), GhBC (Baja California), GhDf (individuos cultivados), GhPS (Pacífico Sur), GhPC (Pacífico Centro), GhSi (Pacífico Norte), GhYu (Península de Yucatán).

El hecho de que dos morfotipos se encuentren distribuidos en las siete poblaciones diferencialmente, pero sin un tipo de hoja representativo de cada población, provoca que sea imposible distinguir de qué población proviene un individuo que presenta cierto tipo de hoja. Este fenómeno puede observarse al representar en una gráfica el resultado del Análisis Canónico, en donde, no se agrupan los individuos por su procedencia (Figura 7).

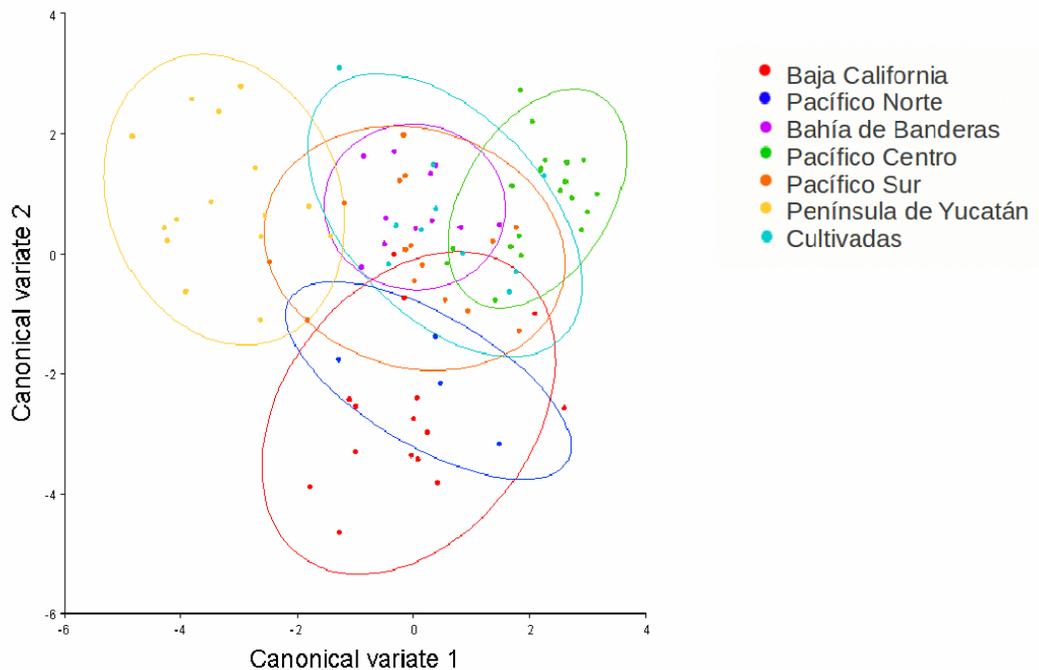


Figura 7. Gráfica de dispersión de todos los individuos colectados, a lo largo de las primeras dos variables canónicas. Se muestran elipses de confianza al 95% en cada población.

Al incorporar los datos de individuos del jardín común a los datos de hojas colectadas en campo, se observa que algunos se localizan completamente dentro de la distribución de individuos colectados en campo, los que representan el tipo de hoja Normal, mientras que otros se encuentran entre ambos grupos, ningún dato del jardín común se encuentra agrupado con los individuos tipo *Okra* (Figura 8).

La prueba para analizar si las medias entre los datos del jardín común y los datos colectados en campo son significativamente distintas, arrojó que sí existían diferencias significativas entre ambos grupos ($F=8.792, P=0.003$), sin embargo, esas diferencias están dadas sobre todo por la variación dentro de cada grupo (97% de la variación).

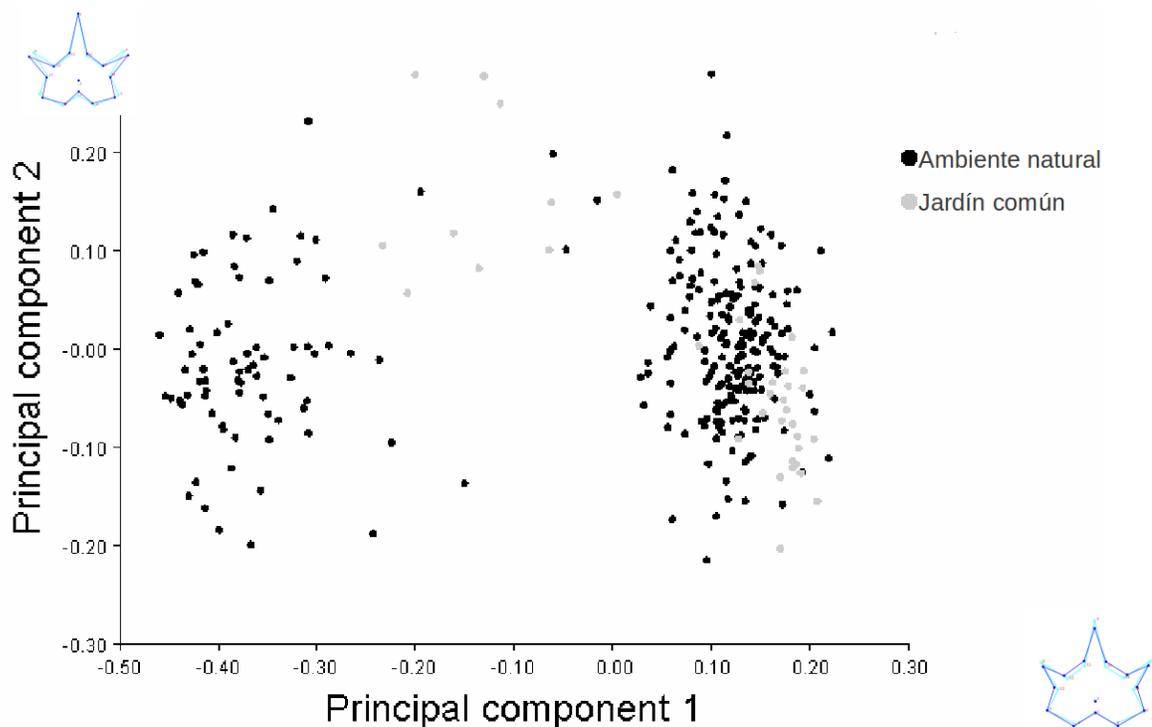


Figura 8. Dispersión de individuos colectados en campo (puntos negros) y crecidos en jardín común (puntos grises), a lo largo de los primeros dos CP de variación morfológica foliar.

Variación en las poblaciones

Dentro de las poblaciones de algodón existe una gran variación en la forma de las hojas, incluso en algunas poblaciones es mayor la variación intrapoblacional que al compararlas con otras poblaciones. La variación evaluada para los tres primeros CP es estadísticamente significativa en cinco de las siete poblaciones evaluadas (individuos domesticados incluidos). En la población PN y en los individuos cultivados no existieron diferencias significativas ($F=0.992$, $P=0.471$ y $F=1.415$, $P=0.132$, respectivamente). En las otras cinco poblaciones se realizaron análisis de varianza por cada CP, a continuación se muestran los resultados para los dos primeros CP, el tercero no fue estadísticamente significativo en ninguna de las poblaciones (Tabla 3).

Tabla 3. ANOVAs de cada población evaluando los primeros dos CP de variación morfológica foliar.

Población	Variable	Factor	SS	MS	g.l.	F	P
Baja	CP1	Población	0.043	0.003	14	3.721	0.001**

California		Error	0.025	0.0008	30		
	CP2	Población	0.154	0.011	14	2.723	0.010*
		Error	0.121	0.004	30		
Bahía de Banderas	CP1	Población	1.868	0.186	10	79.21	<0.0001***
		Error	0.051	0.002	22		
	CP2	Población	0.043	0.004	10	1.333	0.274
		Error	0.071	0.003	22		
Pacífico Centro	CP1	Población	2.750	0.144	19	95.83	<0.0001***
		Error	0.060	0.001	40		
	CP2	Población	0.255	0.011	19	1.64	0.09
		Error	0.289	0.007	40		
Pacífico Sur	CP1	Población	2.671	0.205	13	128.4	<0.0001***
		Error	0.044	0.001	18		
	CP2	Población	0.143	0.011	13	2.377	0.02*
		Error	0.130	0.004	28		
Península de Yucatán	CP1	Población	0.047	0.003	14	9.886	<0.0001***
		Error	0.010	0.0003	30		
	CP2	Población	0.134	0.009	14	3.985	0.0007***
		Error	0.072	0.002	30		

El CP2 también resultó ser significativo en todas las metapoblaciones, lo que implica que existe una fuerte variación en la amplitud de los lóbulos, aunque es más significativo en las poblaciones con hoja tipo *Normal*.

Distribución geográfica de la variación foliar

Se realizó un mapa de la distribución de todos los individuos colectados en campo, en donde se diferencia las localidades con hojas tipo *Okra* y hojas tipo *Normal*; se puede observar que el tipo de hoja *Okra* se encuentra distribuido sólo en las costas del Océano Pacífico, y la metapoblación más norteña que presenta este tipo de hoja es Bahía de

Banderas. La metapoblación Pacífico Centro también presenta individuos con este tipo de hoja, sin embargo su distribución es a partir de las localidades de Michoacán hacia el Sur, es decir, existe un intervalo entre las localidades de Michoacán y las de Bahía de Banderas en donde el tipo de hoja es *Normal*, y no *Okra*. A partir de Michoacán y hasta Oaxaca existen sólo individuos con tipo de hoja *Okra*, y en el sureste de la metapoblación Pacífico Sur el tipo de hoja Normal vuelve a aumentar en frecuencia (Figura 9).

Al evaluar si existe alguna relación entre la forma de la hoja y la distribución geográfica de los individuos, resultó que sí existe una relación estadísticamente significativa entre la forma de la hoja y la latitud ($R^2=0.58$, $P<0.0001$), sin embargo, la regresión lineal entre la forma de la hoja y la longitud geográfica no resultó ser significativa ($R^2=-0.04$, $P=0.684$; Figura 10).

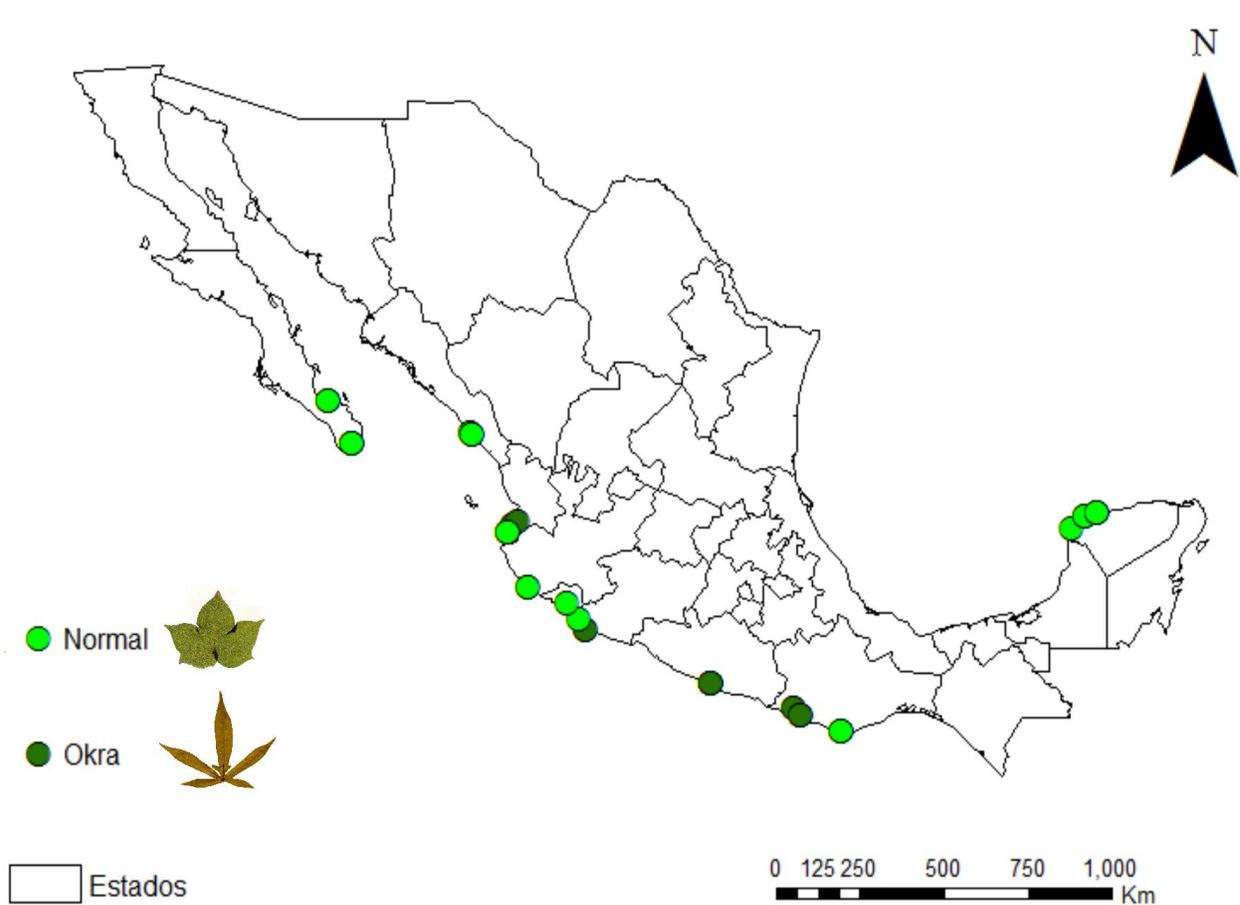


Figura 9. Mapa de distribución geográfica de individuos colectados en seis metapoblaciones de *G. hirsutum* en donde se diferencian los individuos con hojas tipo

Okra (puntos verde oscuro) y los que presentan hojas de tipo *Normal* (puntos verde claro).

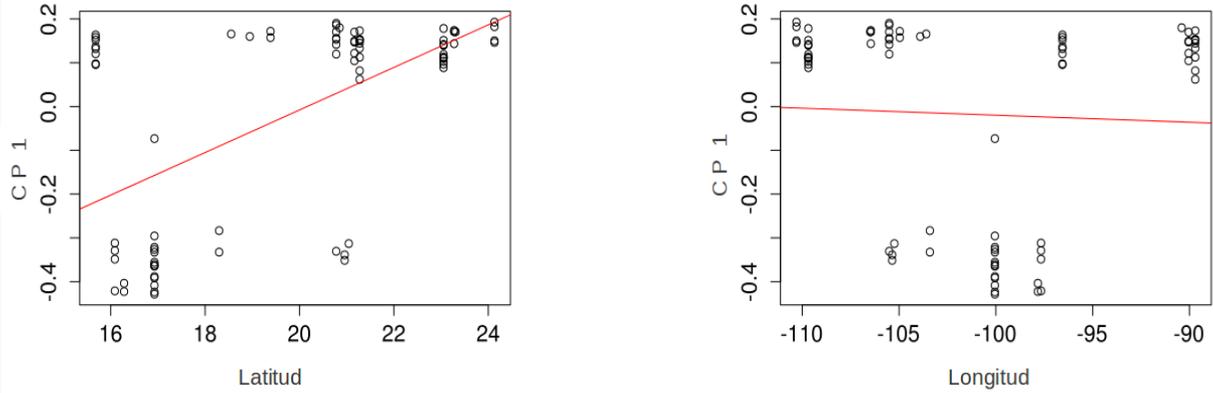


Figura 10. Regresión lineal entre forma de la hoja (CP 1) y latitud ($R^2=0.58$, $P<0.0001$) del lado izquierdo, y forma de la hoja (CP 1) y longitud ($R^2=-0.04$, $P=0.684$), del lado derecho.

Adicionalmente se evaluó la relación entre la forma de la hoja y algunas variables climáticas; la forma de la hoja resultó dependiente a la temperatura media anual, la temperatura estacional y la precipitación anual ($R^2=-0.643$, $P<0.0001$; $R^2=0.484$, $P<0.0001$; $R^2=-0.666$, $P<0.0001$, respectivamente), siendo la precipitación anual la variable más relacionada con la forma de las hojas; el intervalo anual de temperatura parece no afectar la forma de la hoja (Figura 11).

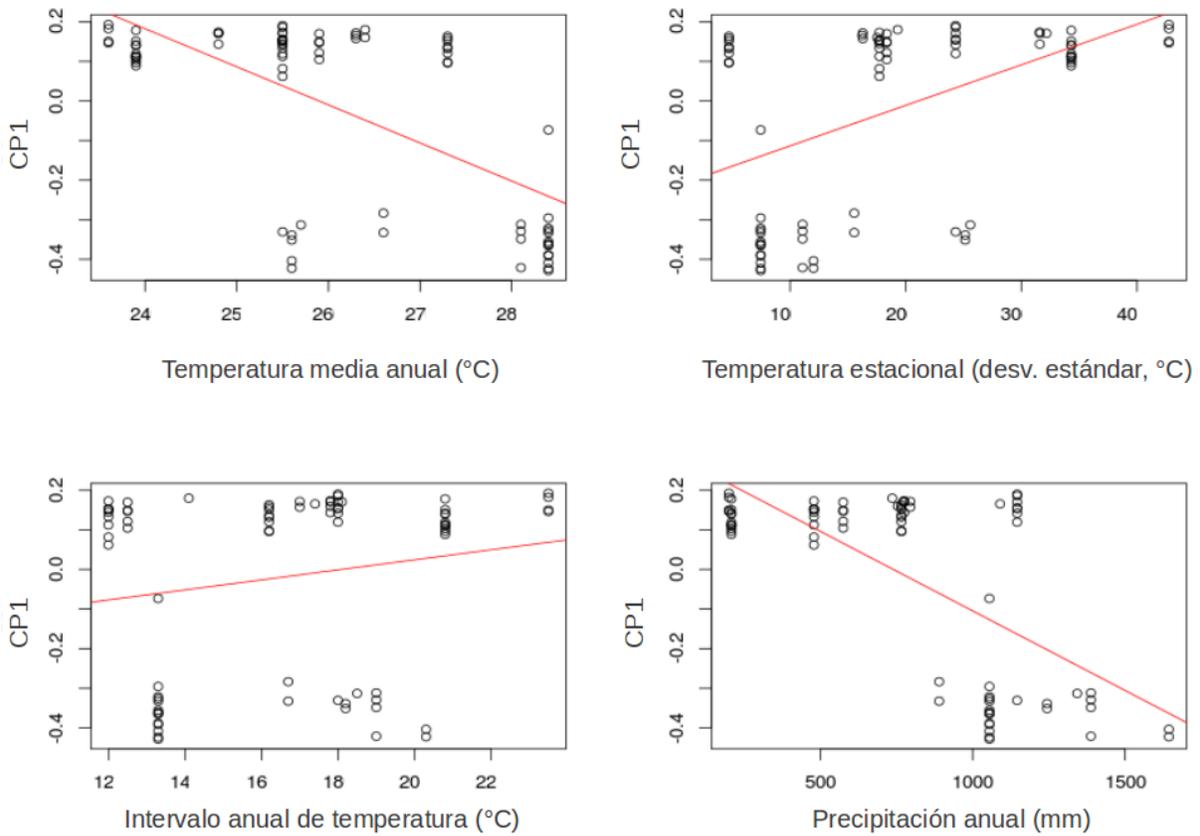


Figura 11. Regresiones lineales de la forma de la hoja (CP 1) y variables climáticas: Temperatura media anual ($R^2=-0.643$, $P<0.0001$) arriba a la izquierda; Temperatura estacional ($R^2=0.484$, $P<0.0001$) arriba a la derecha, Intervalo anual de temperatura ($R^2=0.182$, $P=0.107$) abajo a la izquierda; Precipitación anual ($R^2=-0.666$, $P<0.0001$) abajo a la derecha. Las líneas rojas son las líneas de tendencia.

8. Discusión

Variación foliar entre metapoblaciones de *G. hirsutum* en México

El algodón silvestre *G. hirsutum* se distribuye en dunas costeras y selvas bajas caducifolias de las costas del Océano Pacífico, el Mar de Cortés y el Golfo de México, con una dinámica poblacional de colonización, extinción y recolonización típica de metapoblaciones; la estructura genética poblacional y la distribución potencial del nicho indican que esta especie se agrupa en ocho metapoblaciones (Wegier et al. 2011)□. Por otro lado, los cultivos de *G. hirsutum* tienen una distribución cosmopolita, actualmente esta especie representa más del 90% del algodón cultivado a nivel mundial (Wendel & Cronn 2003)□.

Siendo México el centro de domesticación de *G. hirsutum*, es el lugar en donde las poblaciones silvestres tienen contacto y cierta cantidad de flujo genético con las poblaciones domesticadas, dando como resultado un continuo morfológico entre los individuos cultivados y los silvestres (Wegier et al. 2011; Wendel et al. 2010). La plasticidad morfológica y ecológica de la especie, aunado a la continuidad de formas entre los silvestres y los cultivados, ha generado dudas sobre cuáles son los individuos silvestres y cuáles escapados de cultivos (también llamados cimarrones o ferales), anteriormente se reconocía a los individuos de la Península de Yucatán como únicos silvestres (Wendel et al. 1992; Fryxell 1979)□; los estudios realizados por Wegier et al. (2011) sobre diversidad genética y estructura poblacional revelaron que los individuos que habitan en costas del resto del país también forman poblaciones silvestres, y que efectivamente existe una proporción alta de individuos escapados.

La diversidad morfológica se ha estudiado solamente en plantas domesticadas de *G. hirsutum* por lo que en este trabajo se buscó estudiar la diversidad morfológica foliar de los individuos silvestres y comparar estos resultados con lo conocido sobre el algodón cultivado. Se escogió a las hojas como objeto de estudio por varias razones: 1) existe una amplia gama de formas de hojas en los algodones cultivados, por lo que resultó interesante saber si en los algodones silvestres existía la misma diversidad; 2) las hojas no son órganos de interés en el proceso de domesticación del algodón, por lo tanto, este modelo brinda la posibilidad de conocer cómo actúa la disminución de la diversidad del proceso de domesticación debido a selección artificial en órganos no blanco u objetivo de la misma; 3) las hojas por ser órganos vitales es posible que tengan una fuerte presión de selección, y por lo tanto, por lo que puede ser un buen modelo para estudiar

procesos de diversidad funcional y adaptación en las poblaciones silvestres. Adicionalmente, en las visitas al campo que forman parte del proyecto general de conservación de las poblaciones silvestres de algodón, se había observado una gran variación morfológica, y resultaba importante poder cuantificar esa diversidad.

El método que se escogió para cuantificar la variación morfológica fue el de morfometría geométrica con base en puntos de referencia, en donde se puede abstraer la forma de un objeto a partir de puntos anatómicamente homólogos generando una configuración de puntos de referencia de la forma, que funcionan como coordenadas, de manera que el cambio entre las distintas configuraciones de puntos puede ser cuantificada y evaluada con métodos estadísticos. Esto brinda una gran ventaja sobre los métodos cualitativos de descripción de formas: se puede cuantificar la variación y poner a prueba con hipótesis estadísticas. Y también brinda una gran ventaja sobre los métodos cuantitativos de morfometría clásica: se analiza la forma en su totalidad y no por partes (Zelditch 2004).

Se colectaron tres hojas por individuo en seis metapoblaciones y en individuos cultivados, y se seleccionaron 15 puntos de referencia en cada hoja. Los resultados confirmaron la existencia de una gran variación morfológica foliar, la cual fue cuantificada por medio de coordenadas Procrustes analizadas a partir de la varianza que arrojó el PCA.

La cuantificación de la variación foliar resultó en dos agrupaciones morfológicas debido al CP1, el cual explica la variación en el cambio de longitud de los lóbulos (Figuras 4 y 5). El grupo que presentó valores negativos en el CP1 se caracteriza por tener lóbulos muy largos, mientras que el grupo con valores positivos en el CP1 se caracteriza por tener una lobulación menos marcada. Estas dos formas de hojas se denominaron *Okra* y *Normal*, respectivamente, como se le llama a las dos formas principales que existen en los algodones cultivados (Stephens 1945a; Hammond 1941b; Hutchinson 1934)□. El segundo CP también representó diferencias significativas, sin embargo, en la mayoría de los casos es muy similar la variación dentro de los grupos que entre los grupos (Tabla 3), por lo que es una característica muy variable entre todas las hojas independientemente de a qué individuo pertenecen, es decir, probablemente es muy dependiente a las condiciones ambientales y al desarrollo de cada hoja y no existe un patrón diferenciable entre metapoblaciones.

Las dos formas principales de hojas se distribuyen heterogéneamente entre las metapoblaciones: el tipo *Okra* se distribuye solamente en las metapoblaciones Pacífico

Centro, Bahía de Banderas y Pacífico Sur, mientras que el tipo de hoja *Normal* se distribuye (en mayor o menor frecuencia) en todas las metapoblaciones. La frecuencia del tipo *Okra* en Pacífico Centro es bastante alta (80%) mientras que en Pacífico Sur y Bahía de Banderas la frecuencia de ambos morfotipos es semejante. Fryxell (1979) ya había encontrado un patrón de distribución diferencial entre individuos con formas de hojas distintas, en donde clasificó a los individuos con forma *Okra* como una especie distinta (*G. lanceolatum*), la cual consideró una especie feral por estar asociada a disturbios humanos y traspatios, reconocer que *G. hirsutum* (forma de hoja *Normal*) y *G. lanceolatum* (forma de hoja *Okra*) presentaban una distribución geográfica casi alopátrica daba sustento a la diferenciación en dos especies. Posteriormente se reconoció que no se trataba de dos especies, sino de una misma especie con varias morfologías foliares. Sin embargo, la concepción de que los individuos con el tipo de hoja *Okra* eran ferales se fue heredando a todos los estudios sobre algodón que subsiguieron a aquellos de Fryxell, y las poblaciones silvestres no fueron estudiadas hasta hace unos años, por lo que este trabajo es el primero en demostrar que la forma de hoja tipo *Okra* sí existe en individuos silvestres y presenta una distribución geográfica particular.

La variación foliar presenta diferencias significativas entre las metapoblaciones, Pacífico Centro, Pacífico Sur y Bahía de Banderas presentaron una mayor variación que las demás metapoblaciones y que los individuos cultivados (Figura 6). Al analizar qué metapoblaciones son distintas entre sí, se encontró una estructura de tres grupos, en donde Baja California, Península de Yucatán y Pacífico Norte forman una unidad, Bahía de Banderas y Pacífico Sur forman otra, y Pacífico Centro forma la tercer unidad, resultado de la frecuencia fenotípica diferencial entre las tres unidades. Esta distribución de la diversidad es diferente a la encontrada con datos de microsatélites de cloroplastos analizados por Wegier *et al.* (2011), en donde la diversidad genética neutral se estructura en ocho grupos.

Aunque la estructura genética neutral y la estructura de diversidad morfológica foliar son distintas, expresan el mismo patrón evolutivo: las metapoblaciones más cercanas no son las más semejantes, en cambio, metapoblaciones muy distantes (como Península de Yucatán y Baja California) son más similares entre sí, esta distribución de la variación coincide con un modelo de diversificación por migración a larga distancia (Wegier *et al.* 2011; 2013).

Por otro lado, existe una fuerte relación de la forma de la hoja con la latitud geográfica, y las regresiones de condiciones ambientales con el CP1 demuestran una

relación con la precipitación anual y la temperatura (tanto anual como estacional). De acuerdo a la literatura, las hojas más lobuladas tienen mayor capacidad de respuesta hídrica y la tasa de transferencia de calor es mayor en hojas lobuladas que en hojas enteras, además las propiedades hidráulicas parecen ser determinantes en la evolución de la morfología foliar (Nicotra et al. 2011), es probable que las propiedades hidráulicas han ejercido un papel importante en la evolución de la morfología foliar en *G. hirsutum*.

En las regresiones realizadas en este estudio se puede observar que efectivamente existe una fuerte dependencia de la forma de la hoja a la precipitación pluvial, y justo las localidades que presentan mayor precipitación pluvial son las que se caracterizan por tener una mayor frecuencia de hojas de forma *Okra* (Figura 10).

Adicionalmente altas temperaturas han sido asociadas a formas de hojas más pequeñas y con menor área foliar, efectivamente, en las regresiones realizadas en este estudio se encontró que las hojas de forma más lobulada (que presentan una menor área foliar) se asocian a ambientes con mayores temperaturas y con intervalos de temperatura más extremos entre las estaciones (Figura 11), esto coincide con la característica de que la tasa de transferencia de calor es mayor en una hoja lobulada que en una hoja entera de área equivalente (Nicotra et al. 2011; Wells & Stewart, 2010).

La morfología foliar de *G. hirsutum* parece mostrar varios *trade-offs* de acuerdo a las características ambientales en donde vive, por ejemplo, el patrón general es que el tamaño efectivo de la hoja tiende a incrementarse de acuerdo al aumento en el gradiente de lluvias, fenómeno que no ocurre en las hojas de algodón silvestre, pues el área foliar disminuye al aumentar la precipitación, por otro lado las hojas con ápices acuminados suelen ser comunes en lugares más lluviosos, que sí coincide con la relación de precipitación y morfología foliar de este estudio (Givnish 2008), y al aumentar la temperatura la forma lobulada brinda una mejor transferencia de calor. Congruente con estos resultados, en estudios anteriores se ha asociado a la forma *Okra* características como: mayor eficiencia hidráulica (lo que la hace potencialmente más resistente a la sequía que el tipo *Normal*), mayor intercambio de CO₂ y menor ataque de herbívoros, entre otras (Wells & Stewart 2010; Hafeez-ur-Rahman et al. 2005; Pettigrew et al. 1993).

El hecho de que la diversidad fenotípica presente una estructura distinta a la diversidad genética neutral y que exista una relación fuerte con las condiciones ambientales en donde se desarrolla la especie, son evidencias de que existe un proceso evolutivo distinto al neutral, es decir, selectivo. La adaptación local se da cuando la selección natural provoca que poblaciones locales desarrollen caracteres fenotípicos

divergentes (Le Corre & Kremer 2012). Si las presiones de selección son endógenas, entonces se forman zonas de tensión, mientras que los gradientes son mantenidos por el equilibrio entre el movimiento de los individuos parentales y la selección en contra de los genotipos híbridos (Peñaloza-Ramírez et al. 2010; Barton & Gale, 1993). La diversificación morfológica debido a selección natural ha sido reportado ampliamente en distintos organismos, sobre todo en gradientes latitudinales (por ejemplo (Campitelli & Stinchcombe 2013; Toju & Sota 2006; Gockel et al. 2001; Malhotra & Thorpe 2000)□. Campitelli y Stinchcombe (2013) estudiaron un caso de polimorfismo foliar en donde las localidades en el norte de la distribución de su especie de estudio, *Ipomea hederacea*, presentan un tipo de hoja y las localidades en el sur presentan el otro fenotipo, con las localidades intermedias presentando frecuencias fenotípicas intermedias; al comparar este patrón con la diversidad genotípica neutral de la especie, en el mismo intervalo de distribución, encontraron que no presenta el mismo patrón, y lo explican por efecto de selección natural.

Aunque la diversificación de caracteres fenotípicos con una base genética pueden implicar selección natural, procesos evolutivos como colonización aleatoria, flujo genético restringido espacialmente, y deriva génica, pueden resultar en patrones espaciales similares, especialmente en caracteres de un locus debido a su susceptibilidad a eventos estocásticos (Campitelli & Stinchcombe 2013)□. Para asegurar que la distribución diferencial de la forma *Okra* y la *Normal* en las poblaciones silvestres de algodón se debe a selección natural (histórica o presente) se tendría que analizar si las secuencias genéticas responsables de la diferencia morfológica foliar realmente cumplen con este patrón de distribución. La incorporación explícita de condiciones ambientales puede ser una prueba poderosa y simple de selección natural; para las presiones selectivas que cambian sistemáticamente a lo largo de un gradiente ambiental, se espera que las poblaciones vecinas sean más similares que las poblaciones distantes (Gockel et al 2001); en el caso de *G. hirsutum* efectivamente la forma *Okra* se presenta sólo en las metapoblaciones más cercanas (Bahía de Banderas, Pacífico Centro y Pacífico Sur). Por lo tanto, el hecho de que las hojas de forma *Okra* se distribuyan solamente en las costas del Pacífico y en un intervalo latitudinal específico son evidencias de un proceso de selección natural.

El hecho de que la diversidad foliar presente esta distribución en las metapoblaciones implica que: o existe una fuerza selectiva muy fuerte, de manera que los migrantes de hoja *Normal* de otras metapoblaciones que llegan a localidades con hojas

Okra no son suficientes para disminuir la frecuencia fenotípica de *Okra* y viceversa. O existen barreras al flujo genético muy fuertes entre las poblaciones que presentan mayor frecuencia de individuos con hojas *Normal* con aquellas que mayoritariamente presentan hojas tipo *Okra*, entonces, aunque la fuerza de selección no sea tan grande, el número de migrantes no es suficiente para homogeneizar la diversidad foliar (Slatkin, 1999). Este patrón fenotípico también podría representar colonizaciones aleatorias recientes, sabiendo que en el algodón existe flujo genético reciente y que tiene una dinámica metapoblacional, podría ser una posibilidad, sin embargo, esta distribución fenotípica es conocida desde hace casi un siglo, por lo que es poco probable que se haya mantenido tantos años debido a colonizaciones aleatorias (Campitelli & Stinchcombe 2013; Wegier et al. 2011; Hutchinson 1951)□.

Si la diversidad foliar está mantenida por barreras en el flujo genético, entonces se vería un patrón similar con la diversidad neutral, sin embargo, en el esquema de flujo genético entre metapoblaciones publicado por Wegier *et al.* (2011) se reporta que entre Baja California y Península de Yucatán no existe flujo genético, de hecho, la metapoblación BC está prácticamente aislada de las demás metapoblaciones, a pesar de eso muestra la misma morfología foliar (o muy similar) a los individuos de Yucatán y de Pacífico Norte. No sorprende que existan intervalos en donde un tipo de hoja está ausente y luego en otra metapoblación vuela a presentarse, porque se ha demostrado que el algodón presenta flujo genético a larga distancia, pero sí sorprende la ausencia del tipo de hoja *Okra* en tres de las seis metapoblaciones estudiadas, incluyendo metapoblaciones que tienen o han tenido flujo genético con la mayoría de las metapoblaciones (como PY). El hecho de que a los bordes de las metapoblaciones PS y Bb exista una mayor frecuencia de ambos fenotipos, respalda la hipótesis de que se trate de una diversificación morfológica debido a las presiones selectivas que representa las condiciones ambientales de esa zona geográfica en particular. Dado la importancia de las hojas para la supervivencia de las plantas, es fácil pensar que se encuentran bajo fuertes presiones selectivas (Givnish 2008).

También podría darse el caso de que la variación foliar se debe a la interacción del genotipo con el ambiente, entonces se trataría de plasticidad fenotípica (Beldade et al. 2011)□. Sin embargo, existen varias evidencias para pensar que no es un caso de plasticidad fenotípica:

- 1) En este estudio se formó un jardín común con condiciones de temperatura, luz y humedad constantes, en donde se esperaría que si la diferencia en forma de hoja del

algodón silvestre fuera un ejemplo de plasticidad fenotípica, entonces, bajo condiciones ambientales iguales se obtendría un fenotipo muy similar en todos los individuos, independientemente de su origen. Este no fue el caso, los individuos del jardín común presentaron diferencias morfológicas muy similares a lo observado en hojas colectadas en campo (Figura 8), aunque las hojas del jardín común no lograron un nivel de lobulación tan marcado como en los individuos silvestres, y varios tienen valores intermedios a los dos grupos que se forman a partir del primer componente principal, probablemente este resultado se debe a que los individuos del jardín común siguen en desarrollo y no han llegado a presentar la forma clímax. Además, sí existen diferencias significativas en la variación foliar entre individuos del jardín común e individuos del campo, pero estas diferencias son mayores dentro de cada grupo, lo que implica que también existe una diferenciación fuerte dentro de individuos del jardín común.

2) En cultivo se han hecho varios estudios de híbridos entre individuos con hojas de formas distintas y se ha propuesto que varios caracteres de las hojas (entre ellos la forma) tienen herencia mendeliana, además, si la forma de la hoja en *G. hirsutum* fuera un caso de plasticidad fenotípica entonces en los cultivos se diluiría la diferencia morfológica pues se mantienen las mismas condiciones ambientales. Además sería muy impreciso comprar semillas de individuos con forma de hojas específicas, en cambio existen varias accesiones que aseguran individuos con hojas *Okra*. Por estas razones, es muy probable que la herencia de la forma de las hojas tenga un componente mayoritariamente genético y no tanto ambiental.

Variación foliar intrapoblacional

La variación intrapoblacional es distinta en cada una de las metapoblaciones, la mayor diversidad se encontró en Bahía de Banderas, Pacífico Sur, seguidas de Pacífico Centro, mientras que Baja California, Pacífico Norte y Península de Yucatán mostraron la menor variación foliar.

Estos resultados son distintos a los reportados sobre diversidad genética neutral por Wegier et al. (2011), en donde el índice de diversidad es mayor en las metapoblaciones Península de Yucatán y Bahía de Banderas, mientras que, en comparación, la metapoblación Pacífico Centro presenta la menor diversidad genética. Tampoco coincide con los resultados de diversidad genética de Wendel et al. (1992), en donde se reconoce una mayor diversidad en la Península de Yucatán. Es decir que la variación foliar observada en *G. hirsutum* es distinta a la diversidad genética neutral de los

microsatélites de cloroplasto y, es por esto que no se localiza en una estructura de ocho metapoblaciones. Este resultado evidencia que el uso de distintos marcadores para analizar la dinámica poblacional de una especie puede arrojar distinta estructura poblacional, por lo que distintos marcadores deben ser usados para conocer la diversidad de una especie (Gepts & Papa 2003).

Variación foliar de individuos silvestres Vs. individuos cultivados

Algunas de las evidencias utilizadas para determinar un centro de domesticación es la existencia de mayor diversidad, la presencia de los progenitores silvestres o especie más emparentada, y otros datos arqueológicos. La península de Yucatán había sido propuesta como el centro de domesticación de *G. hirsutum*, sin embargo, los análisis de diversidad foliar no coinciden con esta aseveración; la metapoblación PY no presenta mayor variación y tampoco es la única que presenta individuos silvestres.

Por otro lado, los estudios de variación morfológica foliar realizados con individuos domesticados presentan una variación foliar amplia, incluyendo hojas tipo *Okra*. El hecho de que este tipo de hoja no está representado en la metapoblación PY comprueba que ha existido incorporación de germoplasma de individuos con distribución en las costas del Océano Pacífico. Ya sea que la domesticación de *G. hirsutum* se dio en diferentes puntos geográficos simultáneamente, o que se haya domesticado la especie en algún lugar más específico y luego se hayan incorporado colectas de otras localidades, cualquiera de las dos opciones implican que la domesticación del algodón no se dio solamente a partir de individuos de la Península de Yucatán. Por lo tanto la domesticación tuvo que haber ocurrido a partir de individuos de distintas metapoblaciones, o de alguna metapoblación del Pacífico, siendo el primer escenario el más probable.

Coincidente con el cuello de botella que genera la domesticación, al comparar la variación de los individuos silvestres con los domesticados, se encontró que la variación en los domesticados es notablemente menor, y éstos presentan sólo el tipo de hoja *Normal*. Sin embargo, de acuerdo a la literatura existen individuos domesticados que presentan un gradiente morfológico mayor que los algodones silvestres estudiados en esta investigación. Los individuos cultivados que se estudiaron en este análisis fueron compradas juntas y pertenecen a un mismo campo de cultivo, es evidente que cuando se tiene un monocultivo de algodón en donde se busca homogeneizar a los individuos, las hojas presentan muy poca variación. Por eso la población de algodones domesticados presentó la menor variación foliar comparada con las poblaciones silvestres.

En los estudios realizados sobre la herencia de la forma de hoja en *G. hirsutum* se propone que ésta es determinada por un locus con una serie de (entre cuatro y cinco) alelos, que en combinación generan un gradiente morfológico entre la forma *Okra* y la forma *Normal* (W. Zhu et al. 2008)□. Sin embargo los resultados que arrojan los análisis de MG para los individuos colectados en campo de distintas metapoblaciones no indican un gradiente morfológico entre dos formas, si no que resultan en la diferenciación de sólo dos formas, incluso en las localidades en donde coexisten ambos fenotipos.

La discrepancia entre la morfología foliar presente en los individuos silvestres y en los cultivados podría tener varios orígenes, por un lado, es posible que en condiciones ambientales controladas como son los cultivos de algodón puedan sobrevivir combinaciones genotípicas que presenten formas intermedias que en campo tal vez no sobrevivan; también puede ser que en los individuos silvestres la dominancia no sea incompleta como se ha reportado en los algodones domesticados sino que sea dominancia completa, por lo que sólo podemos observar a los fenotipos homocigos (Nawab et al. 2011); por otro lado el proceso de domesticación, a pesar de representar un cuello de botella en las poblaciones cultivadas a partir de las progenitoras silvestres, también presenta un fenómeno de diversificación de formas, especialmente en los órganos de interés (Doebley et al. 2006), y aunque las hojas no son el órgano de mayor interés en la domesticación en *G. hirsutum*, sí ha sido un carácter que se le ha prestado atención, sobre todo por sus características particulares de heteroblastia y polimorfismo foliar; en este sentido podría haber una diversificación de formas foliares debido al vigor híbrido generado por la domesticación; finalmente podría existir un cambio en las frecuencias alélicas que determinan la morfología foliar debido a la selección artificial de otros genes, aparentemente no relacionados con las hojas, en un proceso de *genetic hitchhiking*. No se puede descartar la posibilidad de que con este método no se haya logrado extraer toda la variación foliar presente en los individuos silvestres, sino que extrajo la característica que diferencia a las hojas de manera más evidente. Para poder concluir si el gradiente de formas que existe en los domesticados reportado en la literatura también se agruparía en dos formas principales evaluadas con morfometría geométrica, se deberían incluir en el análisis accesiones de venta en el mercado que presenten los distintos tipos de forma *Okra*.

Por otro lado, la falta de diferenciación entre los individuos domesticados y los silvestres en *G. hirsutum* evidencia que las hojas no presentan el patrón esperado por el síndrome de domesticación, a lo mejor existen otros caracteres en las individuos

silvestres que sí sean más diferenciables con los cultivados y puedan ser parte del síndrome de domesticación (por ejemplo las características explicadas por Fryxell 1979), pero no es el caso de la morfología foliar.

Respecto a la herencia de la forma de la hoja existen más evidencias que deben tomarse en cuenta, el algodón es un organismo alotetraploide, es decir presenta dos copias de un genoma (el genoma A) y dos copias de otro genoma (el genoma D) (Wendel & Cronn 2003)□. Seguido de la hibridización, en la alopoloidización, se da una serie de cambios genéticos en donde existe recombinación, regulación genética y cambios epigenéticos que resultan en una especie poliploide nueva con mayor variación fenotípica y diferencias adaptativas (Jackson & Z. J. Chen 2010)□. La herencia de la forma de la hoja en *G. hirsutum* se ha tratado siempre como si fuera una especie diploide, en donde se proponen varios alelos que en combinaciones diploides resultan en el gradiente morfológico antes mencionado. Sin embargo, las plantas alopoliploides no presentan genomas estrictamente aditivos con respecto a los genomas progenitores, en algunos casos la fusión de dos genomas distintos en un mismo núcleo es acompañado de una considerable reorganización genética y comportamientos hereditarios no mendelianos (Wendel & Cronn 2003)□. Aparentemente el contenido genético de *G. hirsutum* es aproximado a la suma genética de sus progenitores, y se encontró que la mayoría de los AFLPs estudiados por Liu et al (2001) tienen un comportamiento aditivo, estas evidencias sugieren un mecanismo de expresión tanto genética como epigenética (Z. J. Chen et al. 2007)□.

Existe una alta probabilidad de que la forma de la hoja esté determinada sólo por uno de los genomas, sin embargo, en los estudios de QTL se ha encontrado un *locus* perteneciente al genoma A que también está relacionado con la morfología foliar. Esta evidencia aunada a información de estudios de morfogénesis foliar, realizados sobre todo con *Arabidopsis thaliana*, en donde se han encontrado diversos genes que participan en el desarrollo y formación de las hojas, cuestiona la hipótesis de determinación de la morfología foliar por un locus con dominancia incompleta, y desemboca en la necesidad de hacer estudios sobre morfogénesis foliar en algodón, con el fin de elucidar cuántos genes están involucrados en determinar la forma de la hoja y cómo se heredan; sí puede ser que formen un conjunto genético que no tenga segregación independiente y funcione como un mismo locus (Jiang et al. 2000)□, pero esta hipótesis aún no ha sido probada, por lo tanto, las conclusiones sobre herencia de un locus con dominancia incompleta deben tomarse con cautela.

Conservación y bioseguridad

A partir del uso de proteínas recombinantes como marcadores para estudiar el flujo genético reciente, se ha evidenciado que el algodón silvestre ha tenido contacto e introgresión con individuos cultivados (Wegier et al. 2011). Con el fin de conservar las poblaciones silvestres de *G. hirsutum* es importante buscar marcadores, genéticos y fenotípicos, fácilmente reconocibles, que permitan diferenciar un individuo cultivado, de uno escapado y de los individuos silvestres, las hojas no resultaron ser un buen parámetro para identificar la procedencia de los individuos en campo (Figura 7). Aunque sí exista un fuerte componente hereditario en la morfología foliar, y una planta cultivada con tipo de hoja *Normal* no podría convertirse en campo en un individuo con hojas tipo *Okra*, ambos tipos de hoja se encuentran representados tanto en poblaciones cultivadas, como en las metapoblaciones de algodones silvestres y en los individuos ferales. Por lo que es imposible decir, respecto a la morfología foliar, que existe un fenotipo representativo de las poblaciones domesticadas que sea distinguible del fenotipo silvestre.

Se han encontrado proteínas recombinantes en cuatro de las ocho metapoblaciones de esta especie en México, dos tomadas en cuenta en este análisis: Pacífico Sur y Pacífico Norte. Eso quiere decir que las metapoblaciones con mayor diversidad foliar en las que no se ha reportado la presencia de proteínas recombinantes son Bahía de Banderas y Pacífico Centro. Con el fin de conservar por un lado, la diversidad necesaria para que las poblaciones tengan la capacidad de evolucionar en respuesta a cambios ambientales y evitar los efectos deletéreos debido a la exogamia (Reed & Frankham 2003), y por el otro, la posibilidad de realizar mejoramiento genético de las plantas cultivadas sin utilizar materiales con genes patentados, es sumamente importante que se realicen estrategias de manejo para la conservación de estas metapoblaciones y reducir las posibilidades de flujo génico con algodones domesticados con y sin transgenes.

Este es el primer estudio donde se explora la diversidad foliar de los algodones silvestres y en donde se observa su relevancia para la determinación de los centros de diversidad genética. Los tres grupos de metapoblaciones encontrados contribuyen a la definición de las unidades de manejo y se demuestra que todos y cada uno, son relevantes para la conservación de la especie en México

9. Conclusiones

- Existe una gran variación morfológica foliar en poblaciones silvestres de algodón en México la cual fue cuantificada con métodos de morfometría geométrica. Por medio de este método se logró diferenciar dos formas principales de hojas: *Okra* y *Normal*. Las cuales tienen una distribución heterogénea entre las metapoblaciones de *G. hirsutum* que coincide con un patrón de migración a larga distancia.
- Existe una distribución particular de la forma de hoja *Okra*, la cual se distribuye solamente en las costas del Pacífico y en un intervalo altitudinal definido; es probable que este patrón se deba a presiones de selección ejercidas por características ambientales presentes en esa zona geográfica.
- Los algodones cultivados analizados presentaron menor variación foliar que los silvestres, sin embargo, los estudios realizados con algodones domesticados reportan una variación foliar distinta a la que se encontró en las metapoblaciones silvestres. Pueden existir varias explicaciones a este fenómeno: a) que el proceso de domesticación causó la diversificación en la morfología foliar debido a selección artificial por la búsqueda de hojas que presenten mayor productividad y menores desventajas (como ataques de herbívoros); b) que en cultivo la selección natural no actúe sobre fenotipos con morfologías foliares intermedias (por ejemplo *Subokra* y *Semiokra*) y esos híbridos puedan sobrevivir; c) que el método de cuantificación de morfología foliar no sea lo suficientemente preciso para extraer las formas intermedias y solamente se haya diferenciado la variable más evidente (largo de lóbulos) y no las variables que caracterizan a los fenotipos intermedios entre *Okra* y *Normal*.
- No existe un fenotipo foliar representativo de cada metapoblación, de individuos domesticados, ni de individuos escapados, por lo que la forma de la hoja no es un carácter que pueda utilizarse para distinguir fenotipos silvestres de fenotipos domesticados o escapados. Debido a la falta de diferenciación foliar entre algodón silvestre y domesticado no se podría hablar de un síndrome de domesticación representado por la morfología foliar.
- La diversidad foliar presente en las metapoblaciones y la variación foliar reportada en individuos domesticados son evidencia de que se ha incorporado germoplasma de las metapoblaciones distribuidas en las costas del Océano Pacífico al germoplasma de *G. hirsutum* domesticado, ya sea porque existen múltiples

centros de domesticación, porque el centro de domesticación incluye otras metapoblaciones además de Península de Yucatán o porque el centro de domesticación del algodón está en las costas del Pacífico y no en Yucatán, como se tenía pensado; aunque de estos escenarios es más plausible el primero.

- La diversidad foliar es mayor en las poblaciones Pacífico Centro, Bahía de Banderas y Pacífico Sur, por lo que deben tener especial atención en los planes de manejo y estrategias de conservación de la especie.
- Con el fin de conservar la diversidad para sobrevivir ante diferentes escenarios de selección natural y la posibilidad de realizar mejoramiento genético de las plantas cultivadas sin utilizar materiales con genes patentados, se debe poner especial interés en las estrategias de conservación de las metapoblaciones Bahía de Banderas y Pacífico Centro, ya que tienen mayor diversidad foliar y no se les han encontrado proteínas recombinantes.
- La diversidad foliar de los algodones silvestres es relevante para la determinación de los centros de diversidad genética. Los tres grupos de metapoblaciones encontrados contribuyen a la definición de las unidades de manejo y se demuestra que todos y cada uno, son relevantes para la conservación de la especie en México.

10. Perspectivas

Existen varios puntos que pueden ser mejorados en esta investigación y otros más que pueden ser estudiados a partir de estos resultados:

- Se podría cuantificar la variación foliar con otros métodos y compararlos con los resultados obtenidos en este estudio con el fin de elucidar si realmente la cuantificación morfológica foliar fue cubierta en su totalidad, el estudio de contornos por medio de análisis elípticos de Fourier es una técnica de morfometría geométrica que podría ser considerada en el análisis.
- Incorporar datos de accesiones comerciales identificadas por presentar distintos tipos de hojas aportaría la información necesaria para determinar si la variación foliar del algodón silvestre es mayor o menor que la variación presente en el algodón domesticado.
- Sería importante comparar la variación morfológica foliar con otros parámetros ambientales no incluidos en este análisis, por ejemplo índices de sequía, índices de radiación solar o insolación e índices de herbivoría.
- Evaluar si existen otros caracteres foliares (por ejemplo número de tricomas y densidad estomática) que presenten el mismo patrón latitudinal que la morfología. Estos otros caracteres han sido estudiados en individuos cultivados y se ha encontrado una gran variación fenotípica, muchos han sido asociados también con muchos han sido asociados también con ventajas en producción, disminución de herbivoría y eficiencia hidráulica.
- Además de esperar a que los individuos del jardín común presenten su hoja clímax, sería importante evaluar la siguiente generación de plantas del jardín común, pues las semillas que se establecieron en el jardín común fueron colectadas en campo y podrían tener efecto materno.
- Es necesario comparar la variación genética neutral con la variación genética funcional, y no solamente con la variación fenotípica, esos estudios podrían ser definitivos para comprobar la hipótesis de que la forma de la hoja en *G. hirsutum* presenta un gradiente selectivo latitudinal.

11. Referencias

- Andries, J.A., et al., 1969. Effects of okra leaf shape on boll rot, yield, and other important characters of upland cotton, *Gossypium hirsutum* L. *Crop Sci.* 9, pp. 705–910
- Ashby, E., 1948. Studies in the Morphogenesis of leaves. I. An Essay on leaf shape. *New Phytologist*, 47(2), pp.153–176.
- Barahona, A., 1999. Darwin y el concepto de adaptación. En: *La evolución biológica*, Núñez-Farfán, J. y Eguiarte, L. (eds.), Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, México.
- Barton NH, Gale KS., 1993. Genetic analysis of hybrid zones. En: *Hybrid zones and the evolutionary process*. Harrison R.G. (ed.), Oxford University Press, Oxford.
- Beldade, P., Mateus, A.R.A. & Keller, R.A., 2011. Evolution and molecular mechanisms of adaptive developmental plasticity. *Molecular ecology*, 20, pp.1347–1363.
- Blackman, B.K., 2007. Meeting review: the origin of novel features. *Molecular ecology*, 16(7), pp. 1341–1344.
- Brubaker, C.L. & Wendel, J.F., 1994. Reevaluating the origin of domesticated Cotton (*Gossypium hirsutum*; Malvaceae) using nuclear restriction fragment length polymorphisms (RFLPs). *American journal of botany*, 81(10), pp.1309–1326.
- Byers, D.L., 2008. Components of phenotypic variance. *Nature education*.
- Campitelli, B.E. & Stinchcombe, J.R., 2013. Natural selection maintains a single-locus leaf shape cline in Ivyleaf morning glory, *Ipomoea hederacea*. *Molecular ecology*, 22(3), pp.552–64.
- Casas, A. et al., 2007. In situ management and domestication of plants in Mesoamerica. *Annals of botany*, 100(5), pp.1101–15.
- Chen, Z.J., 2007. Genetic and Epigenetic MEchanisms for Gene Expression and Phenotypic Variation in Plant Polyploids. *Annual review of plant biology*, 58, pp.377–406.
- Chen, Z.J. et al., 2007. Toward sequencing cotton (*Gossypium*) genomes. *Plant physiology*, 145(4), pp.1303–10.
- Clancy, S., 2008. Genetic Recombination. *Nature education*.
- Le Corre, V. & Kremer, A., 2012. The genetic differentiation at quantitative trait loci under local adaptation. *Molecular ecology*, pp.1548–1566.
- Cutler D., Botha T., Stevenson D., 2007. *Plant Anatomy: An applied approach*, Blackwell Publishing, Singapur.
- Dengler, N.G. & Tsukaya, H., 2001. Leaf morphogenesis in dicotyledons: current issues. *International Journal of Plant Sciences*, 162(3), pp.459–464.
- Diario Oficial de la Federación (DOF). 2005. Ley de Bioseguridad de Organismos Genéticamente Modificados. En: <http://www.diputados.gob.mx/LeyesBiblio/> consultado el 2 de junio de 2012.
- Dickison, W.C., 2000. *Integrative Plant Anatomy*, Elsevier, USA.

- Doebley, J.F., Gaut, B.S. & Smith, B.D., 2006. The molecular genetics of crop domestication. *Cell*, 127(7), pp.1309–21.
- Dolan, L. & Poethig, R Scott, 1991. Genetic analysis of leaf development in cotton. *Development Supplement*, (1), pp.39–46.
- Dolan, L. & Poethig, R. Scott, 1998. The okra leaf shape mutation in cotton is active in all cell layers of the leaf. *American journal of botany*, 85(3), pp.322–327.
- Duret, L., 2008. Neutral Theory: The Null Hypothesis of Molecular Evolution. *Nature education*, (1), pp.4–9.
- Eguiarte, L., 1999. Una guía para principiantes a la genética de poblaciones. En: *La evolución biológica*, Núñez-Farfán, J. y Eguiarte, L. (eds.), Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, México.
- Endrizzi, J. E., Turcotte, E. L., and Kohel, R. J., 1984. Cotton, Agronomy Monograph No. 24. En: *Qualitative genetics, cytology, and cytogenetics*, ASA–CSSA–SSSA, Madison.
- Endrizzi, J. E., Turcotte, E. L., and Kohel, R. J., 1985. Genetics, cytogenetics, and evolution of *Gossypium*. *Adv. Genet.* 23, pp. 271–375.
- Engels, J.M.M. et al., 2006. Centres of Crop Diversity and/or Origin, Genetically Modified Crops and Implications for Plant Genetic Resources Conservation. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 53(8), pp.1675–1688.
- Fryxell, P.A., 1979. *The natural history of the cotton tribe*, 1st edition. Texas University Press, EUA.
- Gepts, P., 2004. Crop Domestication as a Long-term Selection Experiment. *Plant Breeding Reviews*, 24, pp.1–44.
- Gepts, P. & Papa, R., 2003. Evolution during Domestication. *Encyclopedia of Life Sciences*, pp.1–7.
- Gifford, E.M., & Foster, A.S. 1989. *Morphology and Evolution of Vascular Plants*, W.H. Freeman, NY,EUA.
- Givnish, T.J., 2008. Comparative Studies of Leaf Form: Assessing the Relative Roles of Selective Pressures and Phylogenetic Constraints. *New Phytologist*, 106, pp.131–160.
- Glowka, L., Burhenne-Guilmin, F. & Synge, H., 1994. *A Guide to the Convention on Biological Diversity*,
- Gockel, J. et al., 2001. Nonclinality of Molecular Variation Implicates Selection in Maintaining a Morphological Cline of *Drosophila melanogaster*. *Genetics*, 158, pp.319–323.
- Hafeez-ur-Rahman, Bibi, A. & Latif, M., 2005. Okra-leaf accessions of the upland cotton (*Gossypium hirsutum* L.): genetic variability in agronomic and fibre traits. *Journal of Applied Genetics*, 46(2), pp.149–155.
- Hafeez-ur-Rahman & Khan, W.S., 1998. Expressivity of H2 Gene of Haririness and L0 Gene of Leaf Shape of Cotton under different genetic backgrounds. *Pakistan Journal*

- of *Botany*, 30(1), pp.95–100.
- Hammond, D., 1941a. The Expression of Genes for Leaf Shape in *Gossypium hirsutum* L. and *Gossypium arboreum* L. *American Journal of Botany*, 28(2), pp.124–138.
- Hammond, D., 1941b. The Expression of Genes for Leaf Shape in *Gossypium hirsutum* L. and *Gossypium arboreum* L. II. The Expression of Genes for Leaf Shape in *Gossypium arboreum* L. *American Journal of Botany*, 28(2), pp.138–150.
- Harlan, J.R., 1971. Agricultural Origins: Centers and Noncenters. *Science*, 174, pp.468–474.
- Hussain, M., Azhar, F.M. & Khan, A.A., 2008. Genetic Basis of Variation in Leaf Area, Petiole Length and Seed Cotton Yield in Some Cotton (*Gossypium hirsutum*) Genotypes. *International Journal of Agriculture and Biology*, 10, pp.705–708.
- Hutchinson, J.B., 1951. Intra-specific differentiation in *Gossypium hirsutum*. *Heredity*, 5(2), pp.161–193.
- Hutchinson, J.B., 1934. The Genetics of cotton. *Journal of Genetics*, 28(3), pp.437–513.
- Hijmans, R.J., S.E. Cameron, J.L. Parra, P.G. Jones and A. Jarvis, 2005. Very high resolution interpolated climate surfaces for global land areas. *International Journal of Climatology*, 25, pp. 1965-1978.
- Jackson, S. & Chen, Z.J., 2010. Genomic and Expression Plasticity of Polyploidy. *Current opinion in plant biology*, 13(2), pp.153–159.
- Jiang, C. et al., 2000. QTL analysis of leaf morphology in tetraploid *Gossypium* (cotton). *TAG Theoretical and Applied Genetics*, 100(3-4), pp.409–418.
- Kendall, D., 1977. The diffusion of shape, *Advances in Applied Probability*, 9, pp. 428–430.
- Klingenberg, C.P., 2011. MorphoJ: an integrated software package for geometric morphometrics. *Molecular ecology resources*, 11(2), pp.353–7.
- Klingenberg, C.P., 2013. MorphoJ User's Guide, en: http://www.flywings.org.uk/MorphoJ_guide/frameset.htm?index.htm, Consultado el 15 abril 2013.
- Lacape, J-M & Nguyen, T.B., 2005. Mapping quantitative trait loci associated with leaf and stem pubescence in cotton. *The Journal of heredity*, 96(4), pp.441–4.
- Longstreth, D.J. & Nobel, P.S., 1979. Salinity Effects on Leaf Anatomy. *Plant physiology*, 63, pp.700–703.
- Malhotra, A. & Thorpe, R.S., 2000. The dynamics of natural selection and vicariance in the Dominican anole: patterns of within-island molecular and morphological divergence. *Evolution; international journal of organic evolution*, 54(1), pp.245–58.
- Mauseth, J.D., 1988. *Plant Anatomy*, Addison Wesley/Benjamin Cummings, San Francisco.
- Nawab, N.N. et al., 2011. Inheritance of okra leaf type in different genetic backgrounds and its effects on fibre and agronomic traits in cotton. *African Journal of Biotechnology*, 10(73), pp.16484–16490.
- Nawab, N.N., 2010. Inheritance of Okra leaf type, gossypol glands and trichomes in cotton (*Gossypium hirsutum* L.), Tesis de doctorado, Faculty of Agriculture, University of Agriculture, Faisalabad, Pakistan.

- Nicotra, A.B. et al., 2011. The evolution and functional significance of leaf shape in the angiosperms. *Functional Plant Biology*, 38, pp.535–552.
- Peebles, R. & Kearny, T.H., 1928. Mendelian inheritance of leaf shape cotton. *Jour. Heredity*, 19, pp. 235-238.
- Percy, R.G., Kohel, R.J., 1999. Chapter 2.5. En: Cotton, Origin, History, Technology, and Production, C. Wayne Smith, J. Tom Cothren (eds.). Jhon Wiley & Sons, Inc. EUA.
- Peñaloza-Ramírez, J.M. et al., 2010. Interspecific gene flow in a multispecies oak hybrid zone in the Sierra Tarahumara of Mexico. *Annals of botany*, 105(3), pp.389–99.
- Pettigrew W.T., Heitholt J.J., Vaughn K.C., 1993. Gas exchange differences and comparative anatomy among cotton leaf type isolines. *Crop Sci*, 33, pp. 1295–1299.
- Pickersgill, B., 2007. Domestication of plants in the Americas: insights from Mendelian and molecular genetics. *Annals of botany*, 100(5), pp.925–40.
- Poethig, R S, 1997. Leaf morphogenesis in flowering plants. *The Plant cell*, 9(7), pp.1077–87.
- Reed, D.H. & Frankham, R., 2003. Correlation between Fitness and Genetic Diversity. , 17(1), pp.230–237.
- Rhyne, C.L., 1960. Leaf Lobation in Gossypium Amphidiploids as Determined by Leaf-Shape Genes of Gossypium Diploid Species. *Genetics*, 45(1), pp.63–78.
- Rieseberg, L.H. et al., 2008. Hibridization and the colonization of novel habitats by annual sunflowers. *Genetica*, 129(2), pp.149–165.
- Rocha, M. & Gasca, J., 2007. Ecología molecular de la conservación. En: Ecología molecular, Eguiarte L.E., Souza V., Aguirre X. (compiladores), INE-CONABIO-UNAM, México.
- Rohlf, F.J. 2010. TPSDig2 [Software], Morphometrics at SUNY Stony Brook, en: <http://life.bio.sunysb.edu/morph/>.
- Rudall P., 1994. *Anatomy of Flowering Plants: An introduction to structure and development*, Cambridge University Press, UK.
- RStudio, 2012. RStudio: Integrated development environment for R (Version 0.96.122) [Software]. Boston, MA. En: <http://www.rstudio.org/>.
- Santamarina M.P., Roselló J., García F.J., 2009. *Atlas de anatomía vegetal*, Universidad Politécnica de Valencia, España.
- Sassenrath-Cole, G.F., 1995. Dependence of canopy light distribution on leaf and canopy structure for two cotton (*Gossypium*) species. *Agricultural and Forest Meteorology*, 77, pp.55–72.
- Slatkin, M., 1999. Flujo génico en poblaciones naturales. En: *La evolución biológica*, Núñez-Farfán, J. y Eguiarte, L. (eds.), Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México.
- Song, X.-L. et al., 2005. Quantitative Trait Loci Mapping of Leaf Morphological Traits and

- Chlorophyll Content in Cultivated Tetraploid Cotton. *Journal of Integrative Plant Biology*, 47(11), pp.1382–1390.
- Stephens, S.G., 1939a. A Genetic Survey of Leaf Shape in New World Cottons-A Problem in Critical identification of alleles.
- Stephens, S.G., 1945a. Canalization of gene action in the *Gossypium* leaf shape system and its bearing on certain evolutionary mechanisms. *Journal of Genetics*, 46, pp.345–357.
- Stephens, S.G., 1939b. Canalization of gene action in the *Gossypium* leaf-shape system and its bearing on certain evolutionary mechanisms. , 2(type 1).
- Stephens, S.G., 1945b. Colchicine produce polyploids in *Gossypium*, II. Old World Triploid Hybrids. *Journal of Genetics*, 46, pp.303–312.
- Stevinson, L., 2008. Hybridization and Gene Flow. *Nature education*.
- Thomson, N.J., Reid, P.E. & Williams, E.R., 1987. Effects of the Okra LEaf, Nectariless, Frego Bract and Glabrous Conditions on Yield and Quality of Cotton Lines. *Euphytica*, 36(545), pp.545–553.
- Toju, H. & Sota, T., 2006. Imbalance of predator and prey armament: geographic clines in phenotypic interface and natural selection. *The American naturalist*, 167(1), pp.105–17.
- Tonsor, S.J., 2012. Population genomics and the causes of local differentiation. *Molecular Ecology*, 21(22), pp.5393–5395.
- Ulloa, M., 2006. Heritability and Correlations of Agronomic and Fiber Traits in an Okra-Leaf Upland Cotton Population. *Crop Science*, 46(4), p.1508.
- Vaughan, D. a, Balázs, E. & Heslop-Harrison, J.S., 2007. From crop domestication to super-domestication. *Annals of botany*, 100(5), pp.893–901.
- Vavilov, N.I., 1994. On the origin of cultivated plants. In *Origin and Geography of Cultivated Plants*. pp. 14–22.
- Viscosi, V. & Cardini, A., 2011. Leaf morphology, taxonomy and geometric morphometrics: a simplified protocol for beginners. *PLoS one*, 6(10), p.e25630.
- Viscosi, V., Loy, A. & Fortini, P., 2010. Geometric morphometric analysis as a tool to explore covariation between shape and other quantitative leaf traits in European white oaks. *Tools for Identifying Biodiversity: Progress and Problems*, pp.257–261.
- Wegier, A. et al., 2011. Recent long-distance transgene flow into wild populations conforms to historical patterns of gene flow in cotton (*Gossypium hirsutum*) at its centre of origin. *Molecular ecology*, 20(19), pp.4182–94.
- Wegier, A. 2013. Diversidad genética y conservación de *Gossypium hirsutum* silvestre y cultivado en México, Tesis de doctorado. Posgrado en Ciencias Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México, México.
- Wells, R., Stewart, A.M., 2010. Morphological alterations in response to management and environment. En: *Physiology of Cotton*, Stewart J., Oosterhuis D., Heitholt J.J., Mauney J (eds.), Springer, NY
- Wendel, J.F. & Albert, V.A., 1992. Phylogenetics of the Cotton Genus (*Gossypium*): Character-State Weighted Parsimony Analysis of Chloroplast-DNA Restriction Site Data and Its Systematic and Biogeographic Implications. *Systematic Botany*, 17(1),

pp.115–143.

- Wendel, J.F., Brubaker, C.L. & Edward, P.A., 1992. Genetic diversity in *Gossypium hirsutum* and the origin of upland cotton. *American Journal of Botany*, 79(11), pp.1291–1310.
- Wendel, J.F. & Cronn, R.C., 2003. Polyploidy and the Evolutionary History of Cotton. *Advances in Agronomy*, 78, pp.139–186.
- Wendel J.F., Brubaker C.L., Seelanan T., 2010. The Origin and Evolution of *Gossypium*. En: *Physiology of Cotton*, Stewart J., Oosterhuis D., Heitholt J.J., Mauney J (eds.), Springer, NY.
- Wray, N.R., 2008. Estimating Trait Heritability. *Nature education*.
- Zar, J.H., 1999. *Biostatistical analysis*, 4a ed., Prentice Hall, NJ, EUA.
- Zeder, M.A. et al., 2006. Documenting domestication: the intersection of genetics and archaeology. *Trends in genetics : TIG*, 22(3), pp.139–55.
- Zelditch , M. L., Swiderski, D.L., Sheets, H.D., Fink, W.L., 2004. *Geometric morphometrics for biologists: a primer*, Elsevier, Gran Bretaña.
- Zhu, W., Liu, K. & Wang, X.D., 2008. Heterosis in yield, fiber quality, and photosynthesis of okra leaf oriented hybrid cotton (*Gossypium hirsutum* L.). *Euphytica*, 164(1), pp.283–291.