

# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

---

---

Facultad de Ciencias



BIBLIOTECA  
INSTITUTO DE ECOLOGIA  
UNAM

ESTRUCTURA GENETICA Y ESTIMACION DE  
LOS PARAMETROS DEL SISTEMA DE APA-  
REAMIENTO EN POBLACIONES SILVESTRES  
Y CULTIVADAS DE *Phaseolus coccineus*.

## TESIS

Que para obtener el título de

## BIOLOGO

Presentan:

JOSE GERARDO COELLO COUTIÑO  
ANA MARIA ESCALANTE GONZALBO

México, D.F.



Abril de 1989

A nuestros padres

A nuestros hermanos

A nosotros, los que fuimos,  
los que ya no seremos nunca más.

Con cariño.

## INDICE GENERAL

	pag
Agradecimientos . . . . .	iv
I. INTRODUCCION . . . . .	1
1.- Estructura genética de las poblaciones . . . . .	1
1.1) Antecedentes . . . . .	1
1.2) Frecuencias alélicas y genotípicas . . . . .	1
1.3) El principio de Hardy-Weinberg . . . . .	2
a) Teoría general . . . . .	2
b) Medidas de las desviaciones de Hardy-Weinberg . . . . .	3
1.4) Medidas de la variación genética . . . . .	4
a) Índice de loci polimórficos . . . . .	4
b) Diversidad genética . . . . .	4
c) Otras medidas de variación genética . . . . .	5
2.- Factores que moldean la estructura genética de las poblaciones . . . . .	7
2.1) Las distintas fuerzas evolutivas . . . . .	7
2.2) Sistemas de apareamiento . . . . .	8
a) La ley del equilibrio de Wright . . . . .	8
b) Endogamia . . . . .	12
i) Autofecundación . . . . .	12
ii) Autofecundación parcial . . . . .	14
c) Consecuencias de la endogamia . . . . .	16
2.3) Deriva génica . . . . .	16
a) Efecto de Wahlund . . . . .	18
b) Deriva génica . . . . .	18
c) La deriva génica en términos del incremento en F . . . . .	21
d) La deriva génica en términos de la varianza del cambio en las frecuencias alélicas . . . . .	22
e) Juntando las dos aproximaciones . . . . .	22
f) Método para probar diferenciación por deriva génica . . . . .	23
3.- Efectos conjunto de endogamia y deriva génica. . . . .	26
3.1) Desarrollo del modelo de los estadísticos-F . . . . .	26
4.- Sistemas reproductivos en plantas . . . . .	29
4.1) Importancia del estudio de los sistemas reproductivos . . . . .	29
4.2) Modelo mixto básico . . . . .	29
a) Teoría básica . . . . .	29
b) Suposiciones del modelo mixto básico . . . . .	31

c)	Estimaciones de la tasa de entrecruzamiento en 1 locus . . . . .	32
i)	Descendencia heteróciga de madres homócigas . . . . .	32
ii)	Considerando la descendencia de todos los genotipos maternos . . . . .	33
ii.1)	Genotipo materno conocido . . . . .	33
ii.2)	Genotipo materno desconocido. . . . .	34
iv)	Estimaciones de la tasa de entrecruzamiento por mínimos cuadrados . . . . .	34
d)	Estimación de la tasa de entrecruzamiento en loci múltiples . . . . .	35
e)	Método indirecto asumiendo equilibrio de endogamia . . . . .	36
4.3)	Modificaciones al modelo mixto básico . . . . .	37
a)	Considerando apareamientos entre parientes . . . . .	37
i)	Modelo de endogamia parcial de Hedrick . . . . .	37
ii)	Modelo de endogamia efectiva . . . . .	38
b)	Modelo de apareamientos correlacionados . . . . .	40
5.-	La especie de estudio: <i>Phaseolus coccineus</i> . . . . .	42
5.1)	Algunos aspectos sobre su morfología . . . . .	42
5.2)	Taxonomía de <i>Phaseolus coccineus</i> . . . . .	45
5.3)	El sistema de apareamiento . . . . .	46
a)	Entrecruzamiento en <i>Phaseolus coccineus</i> . . . . .	46
b)	Polinizadores . . . . .	47
c)	Fenología . . . . .	48
II.	OBJETIVOS . . . . .	49
III.	MATERIAL Y METODO . . . . .	50
1.-	Trabajo de campo . . . . .	50
1.1)	Localidades de estudio . . . . .	50
1.2)	Marcaje de individuos y determinación de genotipos maternos . . . . .	51
1.3)	Polinizaciones controladas . . . . .	51
1.4)	Análisis del movimiento de polen en una planta . . . . .	52
1.5)	Colecta de las semillas . . . . .	53
2.-	Trabajo de laboratorio . . . . .	54
2.1)	Electroforesis . . . . .	54
2.2)	Procedimiento electroforético . . . . .	54
2.3)	Interpretación genética de los geles . . . . .	55
3.-	Análisis de los datos . . . . .	56
3.1)	Parámetros de la estructura genética . . . . .	56

3.2) Parámetros del sistema reproductivo . . . . .	56
IV. RESULTADOS Y DISCUSION . . . . .	57
1.- Sistemas enzimáticos . . . . .	57
1.1) Malato deshidrogenasa (MDH) . . . . .	57
1.2) Shikimato deshidrogenasa (SDH) . . . . .	59
1.3) Fosfoglucomutasa (PGM) . . . . .	59
1.4) Fosfatasa ácida (ACPH) . . . . .	59
1.5) Ribulosa difosfato carboxilasa (RUBISCO) . . . . .	59
1.6) 6-Fosfogluconato deshidrogenasa (6-PGD) . . . . .	59
2.- Distribución de la variación genética . . . . .	64
2.1) Frecuencias alélicas y medidas de diversidad genética . . . . .	64
3.- Análisis del sistema reproductivo . . . . .	70
3.1) Datos preliminares sobre el sistema reproductivo . . . . .	70
3.2) Índice de fijación y tasa de entrecruzamiento . . . . .	72
a) Índices de fijación de Wright . . . . .	72
b) Tasa de entrecruzamiento . . . . .	74
c) Equilibrio de endogamia . . . . .	76
3.3) Otros aspectos del sistema reproductivo: posibles violaciones a las suposiciones del modelo mixto . . . . .	78
a) Variación en la tasa de entrecruzamiento entre loci . . . . .	78
b) Variación en la tasa de entrecruzamiento entre individuos . . . . .	81
3.4) Consecuencias del sistema reproductivo: depresión endogámica . . . . .	83
3.5) Paternidad múltiple en <i>Phaseolus coccineus</i> . . . . .	86
4.- Diferenciación genética entre poblaciones . . . . .	88
4.1) Estadísticos-F . . . . .	88
4.2) Identidades genéticas . . . . .	92
V. CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS . . . . .	98
APENDICE . . . . .	100
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS . . . . .	108

## AGRADECIMIENTOS

Queremos agradecer al Dr. Daniel Piñero, director de esta tesis, por todo el apoyo brindado durante la realización del trabajo y por sus valiosas observaciones y comentarios. A Luis Eguiarte, por sus oportunas críticas; así como por su cuidadosa revisión del manuscrito y sus acertadas correcciones. A Fabián Vargas, Jorge Soberón y Carlos Cordero, por haber aceptado ser sinodales, por el interés que se tomaron en la revisión del manuscrito y por sus oportunos comentarios.

De manera muy especial queremos agradecer a Horacio Paz, quien nos apoyó en los momentos más difíciles durante la realización de este trabajo y sin cuya solidaridad y ayuda en el trabajo de campo esta tesis no hubiera podido concluirse.

Por último, queremos agradecer a nuestros amigos Ana Mendoza, Ken Oyama, Ana María Valdés, Raúl Benet, Víctor Parra, Adriana Garay, Rafael Durán, Lourdes Peralta, Sergio Guillén y Oscar Chávez, quienes estuvieron con nosotros y contribuyeron, cada uno a su manera, al desarrollo de este trabajo.

Esta tesis se llevó a cabo en el Laboratorio de Genética y Evolución del Centro de Ecología de la UNAM, con el apoyo de una beca tesis del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología.

## I. INTRODUCCION

### 1.- ESTRUCTURA GENETICA DE LAS POBLACIONES

#### 1.1) Antecedentes

La genética de poblaciones comenzó a desarrollarse en las primeras décadas de este siglo y tuvo como uno de sus principales objetivos el de formalizar los estudios evolutivos y reconciliar el aparente conflicto entre la herencia mendeliana y la variación continua (Waddington, 1976; Mayr, 1980; Allen, 1983). Mediante el desarrollo de modelos matemáticos se pretende demostrar algunos de los postulados de la teoría evolutiva, además de generar herramientas básicas para la cuantificación de los parámetros de la **estructura genética** de las poblaciones.

La genética de poblaciones teórica se basa en la construcción de modelos que intentan computar el estado genético de las poblaciones en un tiempo futuro a partir del estado presente y de las fuerzas que operan sobre ellas (Lewontin, 1985). La utilidad de éstos radica en que hacen posible abstraer algunos aspectos de la realidad y de este modo, generar hipótesis que nos lleven a una mejor comprensión de los fenómenos naturales.

Durante algunos años esta ciencia se vió limitada por no contar con suficientes datos genéticos de las poblaciones naturales; sin embargo, la utilización de la técnica de electroforesis por Lewontin y Hubby (1966) impulsó el desarrollo de esta ciencia. La electroforesis es un método sencillo para medir variación genética, cercano al nivel del DNA (Brown y Moran, 1981; Guries y Ledig, 1981; Hedrick, 1983).

La estructura genética de una población ha sido definida por Loveless y Hamrick (1984) como la distribución espacial y temporal de alelos y genotipos en una población; esta distribución está determinada por las distintas fuerzas evolutivas que operan y han operado sobre la misma. Es por esto, que un primer paso en cualquier estudio de genética de poblaciones es la descripción de la estructura genética, a través de los distintos parámetros que discutiremos a continuación.

#### 1.2) Frecuencias alélicas y genotípicas

Los parámetros básicos con los que se trabaja en genética de poblaciones son las frecuencias alélicas y genotípicas. Los alelos son formas alternativas de un gen, que se han producido por eventos de mutación y los genotipos son las combinaciones diploides de los alelos existentes (Futuyma, 1986).

Si suponemos un gen con dos alelos:  $A_1$  y  $A_2$ ; los posibles genotipos diploides de este gen serán:  $A_1A_1$ ,  $A_1A_2$  y  $A_2A_2$ . Así, cuando conocemos el número de organismos de la

población para cada genotipo, podemos calcular las frecuencias genotípicas de la siguiente manera:

$$D = \frac{N_{11}}{N} \qquad H = \frac{N_{12}}{N} \qquad R = \frac{N_{22}}{N}$$

(Nótese que  $D+H+R=1$ )

En donde D, H y R son las frecuencias de los genotipos  $A_1A_1$ ,  $A_1A_2$  y  $A_2A_2$ , respectivamente;  $N_{11}$ ,  $N_{12}$  y  $N_{22}$  son el número de individuos en la población con los genotipos  $A_1A_1$ ,  $A_1A_2$  y  $A_2A_2$ , respectivamente; y N el número total de individuos en la población.

Si definimos p como la frecuencia del alelo  $A_1$  y q como la frecuencia del alelo  $A_2$  en la población, podemos calcular las frecuencias alélicas como sigue:

$$\begin{aligned} p &= D + \left(\frac{1}{2}H\right) \\ q &= R + \left(\frac{1}{2}H\right) \end{aligned} \qquad (1.1)$$

(con  $p+q=1$ )

Para el caso multialélico si definimos  $p_i$  como la frecuencia del alelo  $A_i$ ,  $D_{ii}$  y  $D_{ij}$  como las frecuencias de los genotipos  $A_iA_i$  y  $A_iA_j$  respectivamente, entonces la frecuencia del alelo  $A_i$  será (Hedrick, 1983):

$$p_i = D_{ii} + \frac{1}{2} \sum_{j=1}^n D_{ij} \qquad \text{con } i \neq j \qquad (1.2)$$

donde n es el número de alelos en el locus bajo consideración.

### 1.3) El principio de Hardy-Weinberg

#### a) Teoría general

El modelo básico sobre el que se sustenta gran parte del desarrollo de la genética de poblaciones es el principio de Hardy-Weinberg (Futuyma, 1986). Este modelo establece que las frecuencias genotípicas en un locus, después de una generación de apareamiento al azar, pueden ser representadas como una función binomial (2 alelos) o multinomial (más alelos) de las frecuencias alélicas. Esto es, dado un locus con dos alelos  $A_1$  y  $A_2$  con frecuencias p y q respectivamente, las frecuencias genotípicas corresponderán a la expansión del binomio  $(p+q)^2$ :

$$(p+q)^2 = p^2 + 2pq + q^2$$

donde las frecuencias genotípicas serán:

$$\begin{aligned} D &= p^2 \\ H &= 2pq \\ R &= q^2 \end{aligned} \qquad (1.3)$$



En el caso de  $n$  alelos a la expansión del multinomio:

$$(p_1+p_2+p_3+\dots+p_n)^2$$

con frecuencias genotípicas:

$$\begin{aligned} D_{ii} &= p_i^2 \\ D_{ij} &= 2p_i p_j \end{aligned} \quad (1.4)$$

Esta relación entre frecuencias genotípicas y frecuencias alélicas se conoce como **proporciones de Hardy-Weinberg** y responden al principio básico de segregación mendeliana y unión al azar de gametos (Para una demostración de este principio véase Roughgarden, 1979; Hedrick, 1983; Crow, 1986).

El principio de Hardy-Weinberg también establece que las proporciones mencionadas en las ecuaciones (1.3) y (1.4) se mantendrán en el transcurso de las generaciones si no hay ninguna fuerza que opere sobre la población, en lo que se conoce como el equilibrio de Hardy-Weinberg. Para que este equilibrio se mantenga en una población se requiere:

- 1) Que los apareamientos ocurran al azar.
- 2) Que no se formen nuevos alelos por mutación.
- 3) Que no exista entrada ni salida de alelos por flujo génico.
- 4) Que no opere la selección natural.
- 5) Que el tamaño poblacional sea prácticamente infinito (para evitar posibles errores de muestreo por deriva génica).

Sin embargo, la idea del equilibrio de Hardy-Weinberg carece de utilidad práctica, ya que en las poblaciones naturales estas condiciones nunca se cumplen, y el equilibrio se rompe en cada generación (Kimura, 1983).

La parte relevante del principio de Hardy-Weinberg consiste en la relación que se establece entre frecuencias alélicas y genotípicas cuando hay apareamientos al azar. Las proporciones genotípicas esperadas sirven como un punto de referencia para compararlas con las frecuencias observadas en las poblaciones naturales. Estas comparaciones son útiles para formular hipótesis en cuanto a las fuerzas que operan en la población; ya que, sólo aquéllas que actúan modificando las frecuencias genotípicas producirán desviaciones de las proporciones de Hardy-Weinberg.

#### b) Medidas de las desviaciones de Hardy-Weinberg

Existen diversas causas que pueden provocar que una población se desvíe de las proporciones de Hardy-Weinberg; en particular aquéllos que alteran las frecuencias genotípicas de la población. Una prueba de  $X^2$  puede ser utilizada para medir la magnitud de estas desviaciones (Hedrick, 1983).

Otra manera sencilla de medir desviaciones respecto a Hardy-Weinberg, es calcular el **índice de fijación de Wright, F** (Hedrick, 1983; Nei, 1987). Este índice representa la desviación estandarizada de la frecuencia de heterocigotos observada, con respecto a la esperada en Hardy-Weinberg. Para un locus con 2 alelos:

$$F = \frac{2pq - H}{2pq} = 1 - \frac{H}{2pq} \quad (1.5)$$

El índice de fijación, F, puede ser positivo o negativo dependiendo de las fuerzas que estén operando (Nei, 1987).

#### 1.4) Medidas de la variación genética

Otros parámetros de uso frecuente en genética de poblaciones son el índice de loci polimórficos,  $\bar{P}$ , y la diversidad genética, H; ambos considerados como medidas de la variación genética (Hedrick, 1983; Crow, 1986; Futuyma, 1986; Nei, 1987).

##### a) Índice de loci polimórficos

El polimorfismo o índice de loci polimórficos es una medida de la proporción de loci que muestran más de una forma alélica en frecuencias relativamente altas en una población (Cavalli-Sforza y Bodmer, 1971, en Hedrick, 1983). Para establecer si un locus es polimórfico, es necesario fijar una frecuencia arbitraria para el alelo más común. Algunos autores (Schoen, 1982) han propuesto que se puede considerar un locus como polimórfico si la frecuencia del alelo más común es menor a 0.95, otros (Yeh, 1981; Layton y Ganders, 1984) proponen una frecuencia de 0.99 en caso de que el tamaño de la muestra sea grande. El índice de loci polimórficos se obtiene de la siguiente manera:

$$\bar{P} = \frac{x}{m} \quad (1.6)$$

donde x es el número de loci polimórficos y m es el número total de loci ensayados (Hedrick, 1983; Nei, 1987).

##### b) Diversidad genética

El índice de diversidad genética es, quizá, la medida más generalizada de variación en las poblaciones. Este índice no depende de decisiones arbitrarias como el polimorfismo, sino que es definido de manera no ambigua en términos de las frecuencias

alélicas (Nei, 1987). Si denominamos  $p_i$  a la frecuencia del alelo  $A_i$  en un locus con  $n$  alelos, la diversidad genética ( $h$ ) para este locus será:

$$h = 1 - \sum_{i=1}^n p_i^2 \quad (1.7)$$

Esta ecuación corresponde también a la heterocigosis esperada en Hardy-Weinberg. La diversidad genética total multi-locus ( $\bar{H}$ ) para  $r$  loci será el promedio de las diversidades por locus sencillo:

$$\bar{H} = \left( \sum_{j=1}^r h_j \right) / r \quad (1.8)$$

donde  $h_j$  es la diversidad genética para el  $j$ -ésimo locus (Nei, 1987).

Esta heterocigosis multilocus esperada, puede interpretarse como el porcentaje de loci heterocigos esperados en un individuo tomado al azar de la población (Nevo, 1978; Hamrick et al, 1981; Hamrick, 1982; 1983; Layton y Ganders, 1984; Nei, 1987).

Debido a pequeños tamaños de muestra ( $N$ ), las ecuaciones (1.7) y (1.8) pueden presentar sesgos, por lo que estimaciones no sesgadas de las mismas serían (Selander et al, 1986; Nei, 1987):

$$\hat{h} = 2N \left( 1 - \sum_{i=1}^n p_i^2 \right) / (2N-1) \quad (1.9)$$

$$\bar{\hat{H}} = \left( \sum_{j=1}^r \hat{h}_j \right) / r \quad (1.10)$$

y sus respectivas varianzas serían:

$$V(\hat{h}) = \sum_{j=1}^r (\hat{h}_j - \bar{\hat{H}})^2 / (r-1) \quad (1.11)$$

$$V(\bar{\hat{H}}) = V(\hat{h}) / r \quad (1.12)$$

### c) Otras medidas de variación genética

Lewontin (1972; en Hedrick, 1983) introdujo el índice de Shannon-Wiener como otra medida de la cantidad de variación genética en las poblaciones. Sin embargo, el significado biológico de este índice no es totalmente claro (Hedrick, 1983).

Otras dos medidas de variación genética ampliamente usadas en trabajos de genética de poblaciones son el número promedio de alelos por loci y el número efectivo de alelos (Nevo, 1978; Brown y Moran, 1981; Thompson-Conckle, 1981; Hamrick et al, 1981; Hamrick, 1982; 1983; Layton y Ganders, 1984).

El número promedio de alelos se calcula como el promedio simple del número de alelos encontrados en todos los loci, entre el total de loci ensayados (Hedrick, 1983). El número efectivo de alelos se define como el inverso de la homocigosis esperada en Hardy-Weinberg:

$$n_e = 1 / \sum p_i^2 \quad (1.13)$$

Este índice es un mejor estimador de la variación genética que el número promedio de alelos, ya que da una importancia diferencial a los alelos dependiendo de su frecuencia (Crow y Kimura, 1970).

## 2.-FACTORES QUE MOLDEAN LA ESTRUCTURA GENETICA DE LAS POBLACIONES

### 2.1) Las distintas fuerzas evolutivas

En el capítulo anterior mencionamos los requisitos básicos para que el equilibrio de Hardy-Weinberg se establezca y mantenga en una población. El cumplimiento de estos requisitos implica que ninguna fuerza opere sobre ella. En las poblaciones naturales, sin embargo, una o varias de las suposiciones del equilibrio de Hardy-Weinberg son generalmente violadas (Roughgarden, 1979; Futuyma, 1986) y este hecho es el que ocasiona que la composición genética de las poblaciones cambie a través del tiempo y éstas se transformen.

Entre las principales fuerzas que pueden estar moldeando la composición genética de una población, alejándola del equilibrio de Hardy-Weinberg se encuentran: mutación, flujo génico o migración, selección natural, deriva génica y, cualquier sistema de apareamiento que se aleje de la panmixia (Futuyma, 1986). Varias de estas fuerzas pueden estar operando simultáneamente en una población, y uno de los principales objetivos en genética de poblaciones consiste en tratar de dilucidar cuáles y con qué magnitud están operando sobre la población bajo consideración (Lewontin, 1985).

La mutación produce las variaciones sobre las cuales actuarán las demás fuerzas, pero en cuanto a magnitud, es una fuerza débil, ya que los cambios en las frecuencias alélicas producidos exclusivamente por mutación son muy lentos (Dobzhansky, 1975; Li, 1978; Hedrick, 1983; Nei, 1987).

La importancia del flujo génico en las poblaciones naturales ha sido motivo de debate en los últimos años. Mientras que algunos fundadores de la teoría sintética pensaban que el flujo génico era muy elevado y mantenía la unidad de las especies (Mayr, 1969; Dobzhansky, 1975); Ehrlich y Raven (1969) concluyeron que el flujo génico es limitado en la mayoría de las especies. Esta fuerza juega el papel tanto de mantener la cantidad de variación genética dentro de una población (Futuyma, 1986), como de disminuir la diferenciación genética entre subpoblaciones, contrarrestando los efectos de la deriva génica y la selección natural (Roughgarden, 1979; Ellstrand y Marshall, 1985; Slatkin, 1985; Hamrick, 1987). Se han hecho diversos intentos para estimar la magnitud del flujo génico mediante el uso de marcadores morfológicos, polvos fluorescentes, polen marcado y alelos raros (Levin y Kerster, 1974; Price y Waser, 1979; Schaal, 1980; Handel, 1983; Slatkin, 1985), pero han sido pocos los casos en que se ha podido establecer una estimación confiable de la tasa de flujo génico. El método de alelos raros ha sido propuesto por Slatkin (1985) como una forma para obtener una estimación del número promedio de inmigrantes entre varias

poblaciones. Mediante el uso de simulaciones, este autor encontró una relación lineal entre la frecuencia promedio de alelos que se encuentran exclusivamente en una población ( $p(1)$ : alelos raros o privativos) y el número promedio de inmigrantes ( $Nem$ ), para valores intermedios de  $Nem$ . La expresión  $\ln p(1) = a \ln(Nem) + b$ , donde  $a = -0.505$  y  $b = -2.44$ , puede ser usada para calcular  $Nem$  dado el valor de la frecuencia promedio de alelos raros encontrados entre las poblaciones.

Actualmente, parece que el método más preciso para establecer la magnitud del flujo génico es el análisis de paternidad propuesto por Ellstrand (1984). Aún así, es un método con muchas limitaciones, ya que se requiere de poblaciones pequeñas que puedan ser totalmente censadas, así como de muchos loci génicos muy variables (Marshall y Ellstrand, 1985; Meagher, 1986; Meagher y Thompson, 1986).

La selección natural es una de las fuerzas que más se ha tratado de estudiar en la naturaleza, ya que se considera como uno de los factores más importantes que dirigen el cambio evolutivo (Endler, 1986). Sin embargo, cuantificar su magnitud, o aún solo demostrar que una cierta estructura genética es el resultado de la operación de la selección natural, es sumamente difícil (Lewontin, 1974; Endler, 1986). Una de las razones de esta dificultad es que la selección natural, a diferencia de otras fuerzas, sólo afecta loci génicos particulares, por lo que sus efectos no son evidentes en cualquier muestra de loci (Schaal, 1975; Nei, 1987). Además, existe consenso entre varios autores (Kimura, 1983; Selander et al, 1987) en el sentido de que la selección natural rara vez opera sobre las enzimas del metabolismo básico (que son las que suelen trabajarse con electroforesis), ya que la mayoría de los alelos a este nivel son selectivamente neutros (Kimura, 1983; Nei, 1987).

Tanto los sistemas de apareamiento como la deriva génica serán tratados en detalle en las siguientes secciones, ya que constituyen el centro de atención de este trabajo.

## 2.2) Sistemas de apareamiento

### a) La ley del equilibrio de Wright

Uno de los requisitos para que el principio de Hardy-Weinberg se cumpla es que los apareamientos ocurran al azar; esto es, que la población sea panmictica. Sin embargo, en las poblaciones naturales frecuentemente se presenta algún tipo de apareamiento distinto del apareamiento al azar (Clegg, 1980; Futuyma, 1986).

Una clasificación de los distintos tipos de apareamiento puede verse en la tabla I.I. Los sistemas de apareamiento actúan modificando las frecuencias genotípicas de las poblaciones, pero no producen cambios en las frecuencias alélicas.

Tabla 1.1 Clasificación de los tipos de apareamiento y sus características

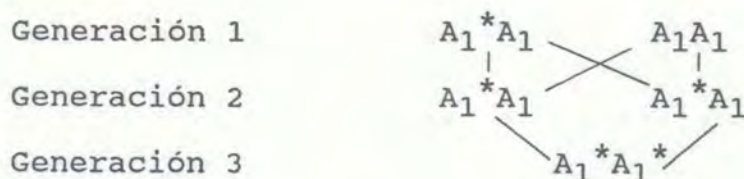
TIPO DE APAREAMIENTO		DEFINICION	LOCI QUE AFECTA	CONSECUENCIAS GENOTIPICAS	FRECUENCIAS ALELICAS	
NO AZAROSO	GENOTIPICO	Positivo ( ENDOGAMIA )	Individuos de genotipo semejante se aparean con mayor frecuencia de lo que se esperaría al azar	La totalidad de los loci del genoma	Aumento en la homocigosis respecto a las frecuencias esperadas.	No las cambia
		Negativo ( EXOGAMIA )	Individuos de genotipo semejante se aparean con menor frecuencia de lo que se esperaría al azar	La totalidad de los loci del genoma	Aumento en la heterocigosis, respecto a las frecuencias esperadas.	No las cambia
	FENOTIPICO (ASORTATIVOS)	Positivo	Individuos de fenotipo semejante se aparean con mayor frecuencia de lo que se esperaría al azar	Sólo aquellos loci involucrados en el apareamiento.	Incremento en la frecuencia de homocigotos con respecto a los esperados sólo en los loci involucrados	No las cambia
		Negativo	Individuos de fenotipo semejante se aparean con menor frecuencia de lo que se esperaría al azar	Sólo aquellos loci involucrados en el apareamiento.	Incremento en la heterocigosis respecto a la esperada, sólo en los loci involucrados	Las cambia

Los apareamientos no azarosos fenotípicos, reciben también el nombre de apareamientos asortativos y se presentan en aquellas poblaciones en donde una característica fenotípica está involucrada primordialmente en la elección de pareja (Hedrick, 1983). De la Tabla I.I puede verse que sus consecuencias son análogas a las de los apareamientos no azarosos genotípicos, pero a diferencia de éstos, los apareamientos no azarosos fenotípicos sólo afectarán aquellos loci involucrados en la elección de pareja.

Por su parte, los apareamientos no azarosos genotípicos positivos y negativos se conocen también como endogamia y exogamia, respectivamente (Hedrick, 1983). Una población endogámica será aquella en la que se presenta una frecuencia relativamente alta de apareamientos entre individuos emparentados, mientras que en una población exogámica la frecuencia de apareamientos entre parientes es disminuída. Estos apareamientos afectan la totalidad de los loci del genoma. En poblaciones de plantas los siguientes mecanismos disminuyen la frecuencia de autofecundación y apareamiento entre parientes: heterostilia, protandria, diocismo y autoincompatibilidad (Schoen, 1982; Hedrick, 1983; Lande y Schemske, 1985; Charlesworth y Charlesworth, 1987).

El efecto del sistema reproductivo sobre la composición genética de las poblaciones puede ser medido por el coeficiente de endogamia (Wright, 1931). Cuando el sistema de apareamiento es el único factor que causa la desviación de los valores esperados en Hardy-Weinberg, el coeficiente de endogamia es equivalente al índice de fijación de Wright (Layton y Ganders, 1984; Nei, 1987). Este coeficiente puede definirse como la probabilidad de que dos alelos homólogos en un individuo sean idénticos por descendencia (Malecot, 1948; en Jacquard, 1970).

Es importante hacer la distinción entre lo que son alelos idénticos funcionales y alelos idénticos por descendencia. Los alelos idénticos funcionales son aquellos que presentan la misma estructura molecular y tienen la misma función, mientras que los alelos idénticos por descendencia representan copias exactas entre sí, ya que se han producido por un evento de duplicación durante la meiosis de un organismo generaciones atrás (Falconer, 1970). Para ejemplificar la forma en que se producen alelos idénticos por descendencia, supóngase el siguiente sistema de cruces:



En este caso, el organismo producido en la 3ª generación lleva alelos idénticos por descendencia, ya que se derivan de la duplicación del alelo  $A_1^*$  en el individuo  $A_1^*A_1$  de



la primera generación. Así, la identidad por descendencia es una medida de la consanguinidad de la población.

Para ver la forma en que el coeficiente de endogamia afecta las frecuencias genotípicas de una población, podemos suponer que, para formar un individuo, en cada generación se toman dos alelos de la poza de gametos. Si la frecuencia del alelo  $A_1$  en la poza de gametos es  $p$ , entonces, la probabilidad de que al sacar el primer alelo éste sea  $A_1$  es  $p$  y la probabilidad de que el segundo que saquemos sea idéntico por descendencia al primero será  $F$ ; por lo tanto, la probabilidad de sacar dos alelos idénticos por descendencia será  $pF$ . Sin embargo, existe también una cierta probabilidad de que los dos alelos sean  $A_1$  pero no idénticos por descendencia. La probabilidad de sacar dos alelos  $A_1$  será  $p$ , pero, la probabilidad de que éstos no sean idénticos por descendencia es  $1-F$ ; así la probabilidad de sacar dos alelos  $A_1$  no idénticos por descendencia será  $p(1-F)$ . La frecuencia total del genotipo  $A_1A_1$  en una población endogámica es (Hedrick, 1983):

$$D = pF + p^2(1-F) \quad (2.1)$$

y esta ecuación puede reescribirse como:

$$D = p^2 + pqF \quad (2.2)$$

donde el primer término representa las proporciones de Hardy-Weinberg y el segundo término el efecto de la endogamia sobre estas proporciones. Siguiendo el mismo razonamiento que nos llevó a la ecuación (2.1), podemos llegar a expresiones semejantes para los otros dos genotipos:

$$R = q^2 + pqF \quad (2.3)$$

$$H = 2pq - 2pqF \quad (2.4)$$

De las ecuaciones (2.2) a (2.4) puede verse que, cuando  $F=0$ , nos encontramos en Hardy-Weinberg, que sería un caso particular de este sistema. Estas ecuaciones fueron inicialmente propuestas por Sewall Wright (1931), por lo que se les conoce como las ecuaciones del equilibrio de Wright. Nótese que la frecuencia de los genotipos heterocigos disminuye proporcionalmente al incrementarse el coeficiente de endogamia.

Cuando el sistema reproductivo no es la única fuerza que actúa en la población, las ecuaciones del equilibrio de Wright pueden utilizarse también para medir los efectos de las otras fuerzas, en cuyo caso  $F$  corresponderá al índice de fijación.

En cuanto a los posibles valores de  $F$  podemos suponer 4 casos:

-Caso 1.  $F=0$ . Indica que no hay tendencia al apareamiento entre parientes y nos encontramos en una población panmíctica en Hardy-Weinberg.

-Caso 2.  $F>0$ . Representa una población endogámica, donde los individuos que se aparean están más emparentados entre sí de lo que se esperaría en una población panmíctica. Esta situación provocará un aumento de homocigotos y una disminución de

heterocigotos con respecto a las proporciones de Hardy-Weinberg. La selección natural y el efecto Wahlund (ver página 16) también son generadores de índices de fijación positivos (Hedrick, 1983; Nei, 1987).

-Caso 3.  $F < 0$ . Representaría una población en que la selección natural esté operando favoreciendo a los heterocigotos. No obstante, apareamientos no azarosos fenotípicos negativos también pueden generar un exceso de heterocigotos (Li, 1976; Hedrick, 1983).

-Caso 4.  $F = 1$ . Representa el caso extremo de una población endogámica, donde todos los organismos se han vuelto homocigotos idénticos por descendencia (Crow y Kimura, 1970; Nei, 1987).

## b) Endogamia

### i) Autofecundación

La principal consecuencia de la endogamia es la disminución de heterocigotos con respecto a los esperados en Hardy-Weinberg, sin embargo, este fenómeno no produce cambios en las frecuencias alélicas. Esto puede ejemplificarse si consideramos el caso extremo de la endogamia que es la autofecundación. Supongamos una población de plantas con autofecundación estricta, cuyas frecuencias genotípicas en la generación cero son  $D_0$ ,  $R_0$  y  $H_0$ ; el resultado de una generación de autofecundación puede obtenerse de la tabla I.II.

Tabla I.II.- Proporciones genotípicas en la progenie de madres que se autofecundan.

Madres	Frecuencia	Progenie		
		$A_1A_1$	$A_1A_2$	$A_2A_2$
$A_1A_1$	$D_0$	$D_0$	0	0
$A_1A_2$	$H_0$	$\frac{1}{2}H_0$	$\frac{1}{2}H_0$	$\frac{1}{2}H_0$
$A_2A_2$	$R_0$	0	0	$R_0$
		$D_0 + \frac{1}{2}H_0$	$\frac{1}{2}H_0$	$R_0 + \frac{1}{2}H_0$

Después de una generación de autofecundación, las frecuencias genotípicas serán:

$$\begin{aligned}
 D_1 &= D_0 + \frac{1}{2}H_0 \\
 H_1 &= \frac{1}{2}H_0 \\
 R_1 &= R_0 + \frac{1}{2}H_0
 \end{aligned}
 \tag{2.5}$$

Resulta claro que los heterocigotos se reducen a la mitad cada generación, ya que las madres heterocigotas que se autofecundan producirán, en promedio, sólo la mitad de descendientes heterocigotos. Conforme pasen las generaciones, la frecuencia de heterocigotos seguirá disminuyendo, acercándose asintóticamente a un valor de cero, mientras que los homocigotos alcanzarán una frecuencia igual a las frecuencias alélicas iniciales (Hedrick, 1983). En la figura I.1 puede verse la disminución en los heterocigotos producida por autofecundación.

Además de la autofecundación hay otros tipos de endogamia, como el apareamiento entre hermanos, entre medios hermanos, o entre parientes más lejanos, que llevarán también a la pérdida total de heterocigotos en la población (Crow y Kimura, 1970; Li, 1976). Sin embargo, existe un tipo de endogamia que no lleva a la pérdida total de los heterocigotos; es el que se conoce como autofecundación parcial o sistema de apareamiento mixto (Crow & Kimura, 1970).

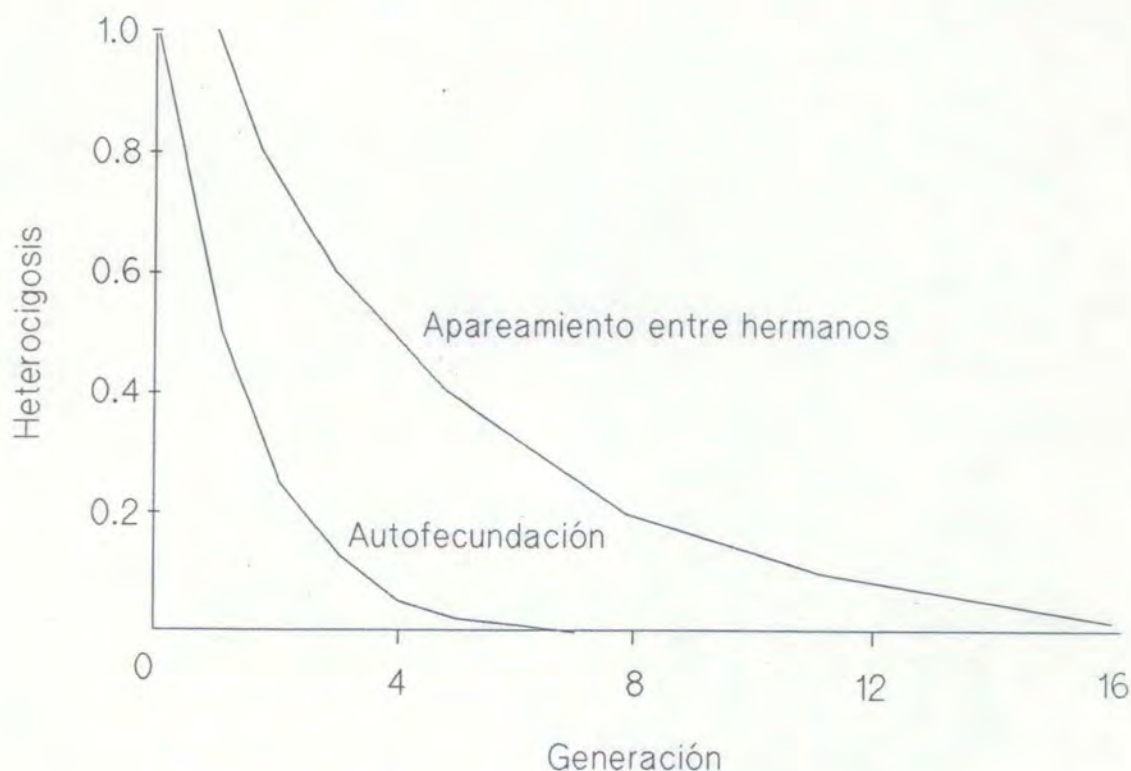


Figura I.1 Cambio en la heterocigosis en el tiempo con dos tipos de apareamientos endogámicos (Tomada de Crow y Kimura, 1970)

ii) Autofecundación parcial

Este tipo de apareamiento se presenta cuando en cada generación, una fracción de los descendientes se produce por autofecundación y otra fracción por entrecruzamiento al azar. Es un sistema común en muchas especies de plantas (Clegg, 1980). El procedimiento más simple consiste en designar como  $s$  a la porción de la progenie producida por autofecundación y como  $t$  a aquella producida por entrecruzamiento ( $s+t=1$ ). Para determinar las frecuencias genotípicas de una generación hay que sumar los organismos producidos por autofecundación y los de fecundación cruzada, como se muestra en la Tabla I.III.

Tabla I.III.- Proporciones genotípicas de la progenie cuando se presenta un sistema de apareamiento mixto. (Tomada de Hedrick, 1983).

Tipo de apareamiento	Frecuencia	Progenie		
		$A_1A_1$	$A_1A_2$	$A_2A_2$
<u>Autofecundación (s)</u>				
$A_1A_1 \times A_1A_1$	sD	sD	-	-
$A_1A_2 \times A_1A_2$	sH	$\frac{1}{2}$ sH	$\frac{1}{2}$ sH	$\frac{1}{2}$ sH
$A_2A_2 \times A_2A_2$	sR	-	-	sR
<u>Fec. cruzada (t)</u>				
$A_1A_1 \times A_1A_1$	tD <sup>2</sup>	tD <sup>2</sup>	-	-
$A_1A_1 \times A_1A_2$	t2DH	tDH	tDH	-
$A_1A_1 \times A_2A_2$	t2DR	-	t2DR	-
$A_1A_2 \times A_1A_2$	tH <sup>2</sup>	$\frac{1}{2}$ tH <sup>2</sup>	$\frac{1}{2}$ tH <sup>2</sup>	$\frac{1}{2}$ tH <sup>2</sup>
$A_1A_2 \times A_2A_2$	t2HR	-	tHR	tHR
$A_2A_2 \times A_2A_2$	tR <sup>2</sup>	-	-	tR <sup>2</sup>
		$tp^2+s(D_0+\frac{1}{2}H_0)$	$t2pq+s(\frac{1}{2}H_0)$	$tq^2+s(R_0+\frac{1}{2}H_0)$

Así, las frecuencias genotípicas, después de una generación de este tipo de apareamiento, serán:

$$D_1 = tp^2 + s(D_0 + \frac{1}{2}H_0)$$

$$H_1 = t2pq + s(\frac{1}{2}H_0) \quad (2.6)$$

$$R_1 = tq^2 + s(R_0 + \frac{1}{2}H_0)$$

En el primer término tenemos las proporciones de Hardy-Weinberg, multiplicadas por la tasa de entrecruzamiento, puesto que es la fracción que se aparea al azar y el segundo término representa las proporciones mencionadas en las ecuaciones (2.5) para autofecundación, multiplicadas por la tasa de autofecundación.

En este tipo de apareamiento, la frecuencia de heterocigotos se reduce hasta un valor de equilibrio, pero nunca se hace cero, ya que en cada generación hay una fracción  $t$  de apareamiento al azar que restituye heterocigotos en la población.

Cuando se alcanza el equilibrio  $H$  ya no cambia y  $H_t = H_{t+1} = H_e$  ( $H_e$  = Heterocigosis de equilibrio); entonces:

$$H_e = 2tpq + \frac{1}{2}sH_e \quad (2.7)$$

$$H_e = \frac{2tpq}{1-s} = \frac{4tpq}{2-s} = \frac{4pq(1-s)}{2-s} \quad (2.8)$$

La Figura I.2 muestra el cambio en la heterocigosis y en el índice de fijación a través del tiempo cuando se presenta un sistema de apareamiento mixto.

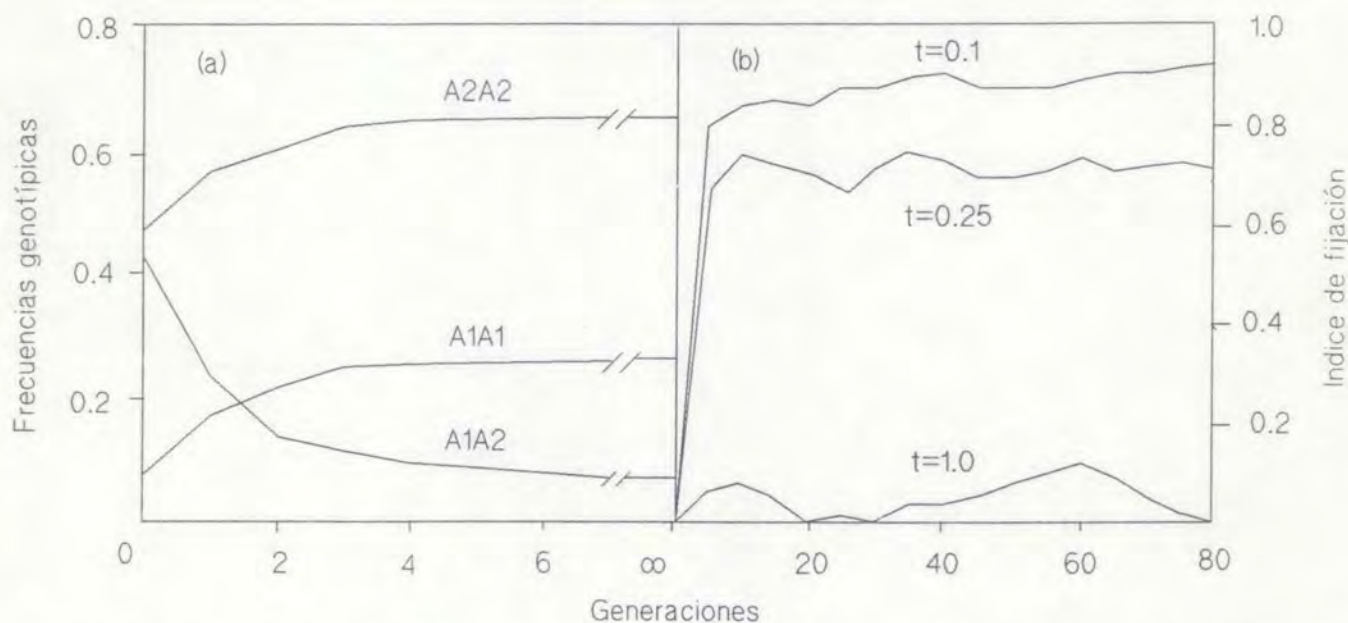


Figura I.2 (a) Cambio en las frecuencias genotípicas en el tiempo con autofecundación parcial ( $t=0.1$ ; tomada de Hedrick, 1983)

(b) Incremento en el índice de fijación en el tiempo cuando se presenta apareamiento mixto para tres distintas tasas de entrecruzamiento. Las oscilaciones se deben al efecto de la deriva génica por tamaños de muestra pequeños (Datos de simulaciones proporcionados por Eguiarte y Valdés).

La relación entre  $H$  y  $F$  de la ecuación (2.4) nos permite llegar a una expresión para  $F$  en el equilibrio ( $F_e$ ). Sustituyendo este valor de  $H$  en la ecuación (2.7), tenemos:

$$2pq(1-F_e) = 2tpq + \frac{1}{2}s(2pq(1-F_e))$$

$$2pq(1-F_e) = 2pq(t + \frac{1}{2}s(1-F_e))$$

$$(1-Fe) - \frac{1}{2}s(1-Fe) = t$$

$$(1-Fe)(1-\frac{1}{2}s) = 1-s = t$$

$$Fe = \frac{s}{2-s} = \frac{1-t}{1+t} \quad (2.9)$$

Así, tenemos una expresión para  $F$  en el equilibrio ( $Fe$ ), que se cumplirá sólo en el caso de que la población lleve algunas generaciones con este sistema de apareamiento y no haya ninguna otra fuerza involucrada (Nei y Siakudo, 1958; en El-Kassaby et al, 1987).

### c) Consecuencias de la endogamia

Crow y Kimura (1970) han considerado las consecuencias de la endogamia en dos niveles:

1) La población puede mantenerse como una unidad más o menos homogénea, con cierta cantidad de apareamientos consanguíneos. En este caso, la única consecuencia de este sistema reproductivo será la disminución de la frecuencia de heterocigotos de la que ya hemos hablado.

2) Bajo ciertas circunstancias este tipo de apareamiento también puede llevar a generar una estructuración de la población, rompiéndola en subpoblaciones de organismos emparentados. En este caso, las consecuencias a nivel de la población total serían las mismas que las mencionadas en el punto uno, pero, adicionalmente se generará una diferenciación genética entre subpoblaciones (o grupos consanguíneos), ya que se formarán líneas casi fijas para los distintos alelos de un locus. Además, si consideramos tamaños poblacionales reducidos, la deriva génica puede operar sobre cada subpoblación, produciendo una mayor diferenciación.

Así, cuando el sistema de apareamiento lleva a una subestructuración de la población, es necesario un análisis cuidadoso para poder distinguir entre los efectos de la endogamia y los de la deriva génica, que operarán de manera conjunta.

## 2.3) Deriva génica

### a) Efecto de Wahlund

Frecuentemente las poblaciones naturales no se comportan como una unidad, sino que se encuentran estructuradas espacialmente en subpoblaciones o parches de organismos, entre los cuales hay poco flujo génico (Crow y Kimura, 1970; Ellstrand y Foster, 1983). En dichas poblaciones estructuradas, puede haber

diferencias en las frecuencias alélicas entre subpoblaciones y al haber poco flujo génico, estas diferencias podrán mantenerse en el tiempo (Crow y Kimura, 1970).

Cuando se muestrea una población estructurada como si se tratara de una población única se encontrará una deficiencia de heterocigotos con respecto a lo esperado en Hardy-Weinberg; pero esta disminución no es real, sino un efecto de la diferenciación genética entre subpoblaciones (Wahlund, 1928; en Hedrick, 1983). Aún cuando cada subpoblación se encuentre en Hardy-Weinberg se observará este efecto, como puede observarse en el ejemplo de la Tabla I.IV. Este fenómeno, llamado efecto de Wahlund, se debe a que, cuando en un conjunto de subpoblaciones que se encuentran en Hardy-Weinberg hay diferenciación en frecuencias alélicas, el cuadrado de la media de las frecuencias alélicas entre subpoblaciones ( $\bar{p}^2$ ) no es igual a la media del cuadrado de las frecuencias alélicas ( $\bar{p}^2$ , en este caso, igual a  $\bar{D}$ ).

Si definimos:

$$\bar{p} = \left( \sum_{i=1}^k p_i \right) / k \quad \text{El promedio de las frecuencias para el alelo } A_i \text{ entre } k \text{ subpoblaciones.}$$

$$\bar{p}^2 = \bar{D} = \left( \sum_{i=1}^k p_i^2 \right) / k \quad \text{El promedio de la frecuencia del genotipo } A_i A_i \text{ entre } k \text{ subpoblaciones.}$$

entonces, la diferencia entre  $\bar{D}$  y  $\bar{p}^2$  será:

$$\bar{D} - \bar{p}^2 = \frac{1}{k} \sum_{i=1}^k p_i^2 - \bar{p}^2$$

$$\bar{D} - \bar{p}^2 = \frac{1}{k} \sum_{i=1}^k p_i^2 - 2\bar{p}^2 + \bar{p}^2$$

$$\bar{D} - \bar{p}^2 = \frac{1}{k} \left( \sum_{i=1}^k p_i^2 - 2 \sum_{i=1}^k p_i \bar{p} + \sum_{i=1}^k k \bar{p}^2 \right)$$

$$\bar{D} - \bar{p}^2 = \frac{1}{k} \sum_{i=1}^k (p_i - \bar{p})^2 = V_p \quad (2.10)$$

donde  $V_p$  es la varianza en frecuencias alélicas entre subpoblaciones. Esta diferencia dá cuenta de la disminución de heterocigotos observada y puede reescribirse como:

$$\bar{D} = \bar{p}^2 + V_p$$

$$\bar{H} = 2\bar{p}\bar{q} - 2V_p \quad (2.11)$$

$$\bar{R} = \bar{q}^2 + V_p$$



Tabla I.IV.- Ejemplo del efecto de Wahlund cuando se tiene una población estructurada en subpoblaciones con diferentes frecuencias alélicas.

Subpoblación	p	Ejemplo 1		
		q	Hobs	Hesp
1	0.7	0.3	0.42	0.42
2	0.9	0.1	0.18	0.18
3	0.4	0.6	0.48	0.48
4	0.1	0.9	0.18	0.18
5	0.2	0.8	0.32	0.32
Pob. total	$\bar{p} = 0.46$	$\bar{q} = 0.54$	$\bar{H}_o = 0.316$	$H_e = 2\bar{p}\bar{q} = 0.497$

Subpoblación	p	Ejemplo 2		
		q	Hobs	Hesp
1	1	0	0	0
2	0	1	0	0
3	0	1	0	0
4	1	0	0	0
Pob. total	$\bar{p} = 0.5$	$\bar{q} = 0.5$	$\bar{H}_o = 0$	$\bar{H}_e = 0.5$

De la Tabla I.IV, nótese que dentro de cada subpoblación no hay diferencia entre Hesp y Hobs, porque se encuentran en Hardy-Weinberg; sin embargo, en la población total sí hay diferencia, y ésta es mayor cuando todas las subpoblaciones se han fijado para alguno de los dos alelos. Es por esto, que en poblaciones estructuradas hay una aparente disminución de heterocigotos respecto a los esperados ( $F > 0$ ), aunque no opere ninguna fuerza sobre la población.

#### b) Deriva génica

Otra de las condiciones para que el equilibrio de Hardy-Weinberg se mantenga en el tiempo, es que el tamaño de la población sea infinito. En este inciso discutiremos las consecuencias de violar esta suposición, es decir, las consecuencias de la deriva génica.

A diferencia de las fuerzas antes mencionadas, la deriva génica no opera siempre en la misma dirección, sino que es un proceso aleatorio. Es el resultado de errores continuos en el muestreo de los gametos en el momento de la reproducción.

Podemos imaginar que en cada generación se forma una enorme poza de gametos, producidos por los organismos de la población, de la cual es tomada una muestra al azar para constituir los organismos de la siguiente generación. Si la



muestra que se toma de esa poza es pequeña, existe cierta probabilidad de que se produzca un sesgo en las frecuencias alélicas con respecto a las de la generación parental (Roughgarden, 1979). Si este proceso continúa a lo largo de las generaciones, se observarán fluctuaciones aleatorias en las frecuencias alélicas. La Figura I.3 muestra las fluctuaciones en las frecuencias alélicas en el transcurso de las generaciones, producidas por deriva génica. Los errores de muestreo se presentan siempre que se trabaja con muestras de tamaño finito y su magnitud es inversamente proporcional al tamaño de la muestra; en este caso, al tamaño de la población.

Este proceso puede ejemplificarse de manera sencilla si consideramos una población constituida por dos organismos con genotipos:  $A_1A_2$  y  $A_1A_2$ . Cada uno de ellos producirá un gran número de gametos, con los que se constituirá una poza con frecuencias alélicas  $p=0.5$  y  $q=0.5$ . De esta gran poza se tomarán cuatro gametos al azar para formar la siguiente generación. Existe una cierta probabilidad de que no se saquen dos alelos  $A_1$  y dos alelos  $A_2$ , sino cualquier otra combinación. Si por ejemplo, se sacan tres alelos  $A_1$  y un alelo  $A_2$ , entonces las frecuencias alélicas habrán cambiado de  $p=0.5$  en la generación parental, a  $p=0.75$  en la nueva generación y este cambio se habrá dado por azar, a consecuencia de un error debido al pequeño tamaño de la muestra (Roughgarden, 1979).

Para analizar las consecuencias de la deriva génica, pueden considerarse dos situaciones:

1) Una población única de tamaño pequeño.- En este caso, la deriva génica producirá fluctuaciones aleatorias en las frecuencias alélicas y después de varias generaciones, llevará a la fijación de un alelo y a la pérdida de todos los demás (el número de generaciones hasta la fijación dependerá del tamaño poblacional). En cuanto a las frecuencias genotípicas, las proporciones ( $p^2, 2pq, q^2$ ) se reestablecerán cada generación con las nuevas frecuencias alélicas. Sin embargo, los heterocigos irán disminuyendo, conforme la población se vaya fijando para uno de los alelos (Falconer, 1970; Hedrick, 1983; Nei, 1987).

2) Una población estructurada en subpoblaciones de tamaño pequeño.- En este caso, la deriva génica tiene efectos a dos niveles distintos:

a) En cada subpoblación los efectos de la deriva génica serán los mismos que en el caso de una población pequeña, mencionados en el inciso 1.

b) En la población total la deriva génica producirá un aumento de la diferenciación genética entre subpoblaciones y a consecuencia de esto, se observará una disminución de heterocigos y un aumento de homocigos respecto a los esperados en Hardy-Weinberg; lo cual se debe al efecto de Wahlund (Hedrick, 1983; Nei, 1987). Conforme transcurran las generaciones, la diferenciación en frecuencias alélicas se irá haciendo mayor; pero si el número de subpoblaciones es grande, las frecuencias alélicas promedio de la población total no cambiarán en el tiempo.

La deriva génica se conoce también como una fuerza dispersiva (Falconer, 1970) ya que, al considerar un conjunto de subpoblaciones con las mismas frecuencias alélicas iniciales, el efecto de esta fuerza será el de ir produciendo fluctuaciones aleatorias en las frecuencias alélicas de cada subpoblación, generando cada vez una mayor diferenciación entre ellas (Ver Figura I.3). El resultado será la fijación de un cierto número de subpoblaciones para un alelo y el resto de las subpoblaciones para el otro o los otros alelos.

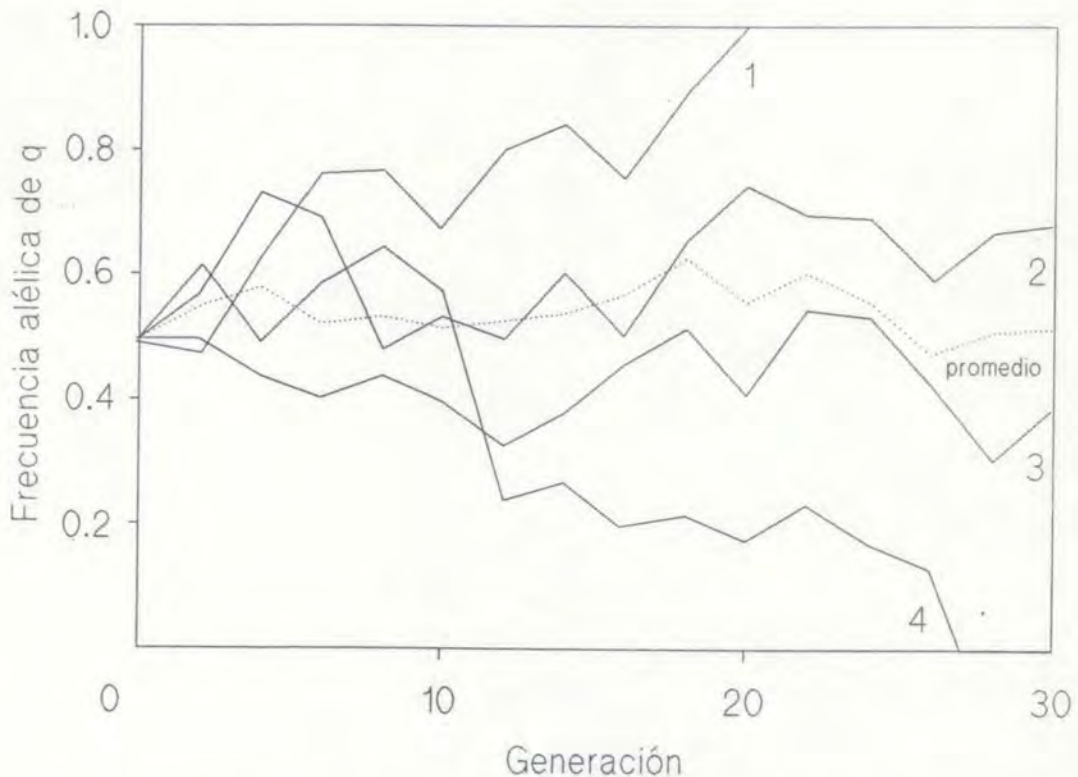


Figura I.3 Cambio en las frecuencias alélicas en el tiempo producidos por errores de muestreo en cuatro poblaciones de tamaño pequeño ( $N=20$ . Modificada de Hedrick, 1983).

Si se considera un número suficientemente grande de subpoblaciones, la proporción de éstas que se fijarán para un alelo determinado será igual a la frecuencia inicial de ese alelo (Roughgarden, 1979). Si por ejemplo, se parte de una frecuencia inicial del alelo  $A_1$   $p_0=0.8$ , se esperará que un 80% de las subpoblaciones se hayan fijado para ese alelo al final del proceso, mientras que el 20% restante se habrá fijado para el otro alelo. De aquí que las frecuencias alélicas promedio de la población total no sufrirán un cambio neto por efecto de la deriva génica. La mayor diferenciación se obtendrá cuando todas las subpoblaciones se hayan fijado para algún alelo en particular.

Para tener una estimación cuantitativa de los efectos de la deriva génica sobre las frecuencias genotípicas de una población, hay dos posibles aproximaciones: a) Considerarla como un proceso de muestreo y describirla en términos de la varianza del cambio y, b) Considerar la consanguinidad generada en una población de tamaño finito y describir a la deriva génica en términos del incremento en el índice de fijación.

c) La deriva génica en términos del incremento en F

Una manera de ver los efectos de la deriva génica en una población consiste en ver cómo aumenta la consanguinidad en poblaciones pequeñas (Falconer, 1970; Crow, 1986).

Si consideramos una población panmíctica con  $N$  individuos diploides, capaces de autofecundarse, entonces, la probabilidad de que tomados dos gametos, éstos lleven alelos idénticos por descendencia es  $1/2N$  (Falconer, 1970; Hedrick, 1983; Crow, 1986). De modo que después de una generación:

$$F_1 = 1/2N$$

En la segunda generación se pueden producir individuos homocigos que lleven alelos idénticos por descendencia mediante dos procesos: El primero sería por la nueva unión de alelos idénticos producidos en esta generación, con probabilidad  $1/2N$ . El segundo ocurriría por el apareamiento entre individuos que no llevan alelos idénticos por descendencia producidos en esta generación, pero en los que sus padres pudieron estar relacionados 2 generaciones atrás, con lo que se producirán descendientes idénticos por descendencia, con probabilidad  $(1 - 1/2N)F_1$ .

Por lo tanto, la probabilidad total de identidad por descendencia en la segunda generación será:

$$F_2 = 1/2N + (1 - 1/2N)F_1$$

Y generalizando para todo tiempo (Falconer, 1970):

$$F_t = 1 - ((1 - 1/2N)^t (1 - F_0)) \quad (2.12)$$

Como partimos de unas condiciones iniciales en donde  $F_0 = 0$ , entonces la ecuación (2.12) puede reescribirse como:

$$F_t = 1 - (1 - 1/2N)^t \quad (2.13)$$

Así, de las ecuaciones anteriores puede observarse que en poblaciones pequeñas y panmícticas el índice de fijación ( $F$ ) aumenta en cada generación por deriva génica y después de muchas generaciones puede observarse que  $F$  tiende a 1, esto es, se vuelve homocigota idéntica por descendencia para todos los genes. Los cambios en las frecuencias alélicas y el incremento en el

índice de fijación producidos por deriva génica, dependen del tamaño poblacional. La tasa a la que disminuyen los heterocigotos a causa del incremento en  $F$  es la siguiente (Crow, 1986; Nei, 1987):

Ya que de la ecuación (2.4) sabemos que:

$$(1-F_t) = H_t/2pq$$

y de la (2.12) que:

$$F_t = 1/2N + (1 - 1/2N) F_{t-1}$$

de modo que:

$$(1-F_t) = (1 - 1/2N)(1-F_{t-1})$$

entonces, podemos sustituir  $(1-F_t)$  de esta última ecuación, de la siguiente manera:

$$H_t = (1 - 1/2N) H_{t-1}$$

y generalizando para todo tiempo:

$$H_t = (1 - 1/2N)^t H_0 \quad (2.14)$$

de aquí que los heterocigos decrecen a una tasa  $(1 - 1/2N)$  cada generación por diferenciación al azar de frecuencias alélicas.

d) La deriva génica en términos de la varianza del cambio en las frecuencias alélicas.

El cambio en las frecuencias alélicas que resulta de los errores en el muestreo, es aleatorio en el sentido de que su dirección no es predecible, pero su magnitud puede medirse mediante la varianza en frecuencias alélicas generada entre subpoblaciones (Falconer, 1970; Hedrick, 1983; Nei, 1987).

Si consideramos el ejemplo de la figura I.3, puede verse que a pesar de la dispersión en las frecuencias alélicas entre subpoblaciones, las frecuencias alélicas promedio de la población ( $p$  y  $q$ ) no cambian en el tiempo. Entonces, una forma de cuantificar los efectos de la deriva génica consiste en medir la dispersión de las frecuencias alélicas de las subpoblaciones, con respecto a la media de la población. La varianza en  $p$  es un estimador de esta dispersión (para la cual obtuvimos una expresión cuando se vió el efecto de Wahlund; ec. 2.10). Las ecuaciones (2.11) miden el efecto sobre las frecuencias genotípicas, de la dispersión en las frecuencias alélicas, en una población estructurada.

e) Juntando las dos aproximaciones.

En estos dos últimos incisos hemos visto los efectos de la deriva génica sobre la composición genotípica de las poblaciones utilizando argumentos diferentes: en el primer caso,

se consideró una población panmíctica de tamaño pequeño, observándose una disminución de heterocigos por deriva génica, según la ecuación (2.14):

$$H_t = (1 - 1/2N)^t H_0 = (1 - 1/2N)^t 2p_0q_0$$

y en el segundo caso, se pensó en una población estructurada en subpoblaciones panmícticas y se llegó a una relación de disminución de heterocigos, en términos de la varianza en las frecuencias alélicas entre subpoblaciones. Cuando opera la deriva génica,  $\bar{p}_t = p_0$  y  $\bar{q}_t = q_0$ , por lo que el cambio en la frecuencia de heterocigotos expresado en la ecuación (2.11) puede reescribirse como:

$$H_t = 2p_0q_0 - 2V_{pt}$$

Igualando las dos ecuaciones anteriores tendremos una sola ecuación para medir los efectos de la deriva génica:

$$2(p_0q_0 - V_{pt}) = (1 - 1/2N)^t 2p_0q_0$$

la varianza en las frecuencias alélicas para todo tiempo será:

$$V_{pt} = p_0q_0(1 - (1 - 1/2N)^t)$$

Sustituyendo F de la ecuación (2.11) tenemos que:

$$V_{pt} = p_0q_0 F_t \quad (2.15)$$

Nótese que si despejamos  $F_t$  de la ecuación (2.15) llegamos a la siguiente expresión:  $F_t = V_{pt}/p_0q_0$ , que es idéntica a la expresión propuesta por Wright (1965; en Nei, 1987) para la  $F_{st}$  (que se verá en el capítulo 3). De aquí resulta claro que la  $F_{st}$  nos separa la fracción del índice de fijación generada por diferenciación de frecuencias alélicas.

Así, vemos que un buen parámetro para describir los cambios genotípicos producidos por deriva génica es el índice de fijación (F), que también describe los efectos de los apareamientos no azarosos (como se vio anteriormente). Las ecuaciones del equilibrio de Wright (ecs. 2.2 a 2.4) sirven para describir los efectos sobre las frecuencias genotípicas, tanto de los apareamientos no azarosos, como de la deriva génica.

#### f) Método para probar diferenciación por deriva génica

Tanto la deriva génica como la selección natural modifican las frecuencias alélicas y genotípicas de las poblaciones. Sin embargo, la deriva génica actúa simultáneamente sobre todos los loci del genoma, mientras que la selección

natural sólo lo hace sobre loci específicos. Esta diferencia llega a ser muy notoria cuando se consideran varias poblaciones para varios loci con alelos múltiples y puede utilizarse como argumento para discriminar entre ambas fuerzas.

Cuando una población está sujeta a cambios en sus frecuencias genotípicas por efectos exclusivamente del sistema reproductivo y/o la deriva génica, las desviaciones con respecto al equilibrio de Hardy-Weinberg pueden ser descritas mediante un único índice de fijación  $F$  (Nei, 1987). En un locus con  $m$  alelos, la extensión de la ley del equilibrio de Wright será:

$$D_{ii} = p_i^2 + V_{p_i} = p_i^2 + p_i(1-p_i)F \quad (2.16)$$

$$D_{ij} = 2p_i p_j + 2Cov_{ij} = 2p_i p_j - 2p_i p_j F \quad (2.17)$$

donde:  $D_{ii}$  y  $D_{ij}$  son las frecuencias de los genotipos  $A_i A_i$  y  $A_i A_j$ , respectivamente;  $V_{p_i}$  es la varianza en la frecuencia del alelo  $A_i$  entre subpoblaciones; y,  $Cov_{ij}$  es la covarianza entre la frecuencia del alelo  $A_i$  y la del alelo  $A_j$  entre subpoblaciones.

De (2.16) y (2.17) puede comprobarse que:

$$F = \frac{V_{p_i}}{p_i(1-p_i)} = - \frac{Cov_{ij}}{p_i p_j} \quad (2.18)$$

para todas las  $i$  y  $j$ .

Y la correlación esperada entre las frecuencias de los alelos  $A_i$  y  $A_j$  entre subpoblaciones será:

$$r_{ij} = \frac{Cov_{ij}}{\sqrt{V_{p_i} V_{p_j}}} = - \frac{F p_i p_j}{\sqrt{F p_i(1-p_i) F p_j(1-p_j)}}$$

$$r_{ij} = - \frac{p_i p_j}{\sqrt{p_i(1-p_i) p_j(1-p_j)}}$$

$$r_{ij}^2 = - \frac{(p_i p_j)^2}{p_i p_j (1-p_i)(1-p_j)}$$

y por lo tanto:

$$r_{ij} = - \left[ \frac{p_i p_j}{(1-p_i)(1-p_j)} \right]^{1/2} \quad (2.19)$$

Para realizar este tipo de análisis se requiere contar con la información de frecuencias alélicas en muchas poblaciones para varios loci con alelos múltiples (con más de dos alelos por locus). Para cada locus, se computan las correlaciones observadas y esperadas entre el alelo más común y cada alelo alternativo que tenga una frecuencia mayor de 0.05. Una regresión entre las correlaciones esperadas y las observadas demostrará si las poblaciones están sujetas a diferenciación al azar de las frecuencias alélicas por efecto de la deriva génica. En caso de que los puntos se ajusten a una recta de pendiente uno, se aceptará la hipótesis de diferenciación por deriva génica y en caso contrario se asumirá que la diferenciación de frecuencias alélicas está ocurriendo por un proceso no aleatorio, como podría ser la selección natural o bien, que se debe al efecto de factores históricos (Nei, 1987).

### 3.- EFECTOS CONJUNTOS DE LA ENDOGAMIA Y LA DERIVA GENICA

Como mencionamos en el capítulo anterior, en poblaciones endogámicas, donde el sistema de apareamiento ha generado una subestructuración de la población, los efectos de la deriva génica pueden ser muy fuertes y combinarse con el sistema reproductivo. Bajo estas circunstancias, resulta difícil hacer una cuantificación de los efectos de cada una de estas fuerzas.

#### 3.1) Desarrollo del modelo de los estadísticos-F

Una forma de observar patrones de diferenciación genética entre poblaciones, así como la manera en que se distribuye el índice de fijación (F) dentro de subpoblaciones, entre subpoblaciones y en la población total, es calcular los **estadísticos-F de Wright**. Estos índices nos permiten separar los efectos del sistema reproductivo ( $F_{is}$ ) y de la deriva génica y/o selección natural ( $F_{st}$ ) en poblaciones estructuradas espacialmente.

Los estadísticos-F fueron descritos primeramente por Wright (1965; en Nei, 1987) en términos de correlación entre gametos que se unen. Wright demostró que el coeficiente de endogamia de un individuo dentro de una población estructurada espacialmente, sería mayor al coeficiente de endogamia del mismo individuo si la población no estuviera estructurada. Posteriormente, Crow y Kimura (1970) describen a los estadísticos-F en términos de identidad por descendencia; mientras que Nei (1987) los define en términos de heterocigosis observadas y esperadas.

Considérese una población T subdividida en S subpoblaciones, y sea I un individuo de una de las subpoblaciones.  $F_{is}$  será la probabilidad de que dos alelos de un mismo gen en el individuo I dentro de una subpoblación S sean idénticos por descendencia. Ahora, como la identidad por descendencia en un individuo es producto del sistema reproductivo (como se vió en la sección anterior),  $F_{is}$  puede ser considerado como la fracción del índice de fijación total ( $F_{it}$ ) que se origina por el sistema reproductivo dentro de las subpoblaciones, y equivale al coeficiente de endogamia promedio de todas las subpoblaciones. Así, valores positivos de  $F_{is}$  hablan de una deficiencia de heterocigos debido a apareamiento no azaroso.

El estadístico  $F_{st}$  representa la probabilidad de que dos gametos tomados al azar en dos subpoblaciones distintas sean idénticos por descendencia. Así, al considerar la probabilidad de identidad por descendencia entre dos alelos de **dos subpoblaciones**,  $F_{st}$  mide la cantidad de diferenciación genética entre subpoblaciones. De este modo  $F_{st}$  es el componente del índice de fijación total que se origina por el efecto de la deriva génica y/o la selección natural (el estadístico  $F_{st}$  es equivalente al valor de  $G_{st}$  usado por Nei, 1987).



Por último, el estadístico  $F_{it}$  corresponde a la probabilidad total de identidad por descendencia en un individuo tomado al azar de la población. Así,  $F_{it}$  mide los efectos conjuntos del sistema reproductivo y deriva génica y/o selección natural en la población total.

La probabilidad total de no identidad por descendencia será el producto de dos términos;  $(1-F_{is})$  que es la probabilidad de no identidad por el sistema de apareamiento y  $(1-F_{st})$  que es la probabilidad de no identidad entre subpoblaciones (Crow y Kimura, 1970):

$$(1-F_{it}) = (1-F_{is})(1-F_{st}) \quad (3.1)$$

$$F_{it} = F_{is} + (1-F_{is}) F_{st}$$

Las expresiones para los estadísticos-F han sido definidas por Nei (1987) en términos de frecuencias alélicas y genotípicas, tanto para el caso dialélico como multialélico.

Para el caso dialélico,  $F_{is}$  y  $F_{it}$  corresponden respectivamente a:

$$F_{is} = 1 - \frac{\bar{p} - \bar{D}}{\bar{p} - p^2} = \frac{\bar{D} - \bar{p}^2}{\bar{p} - p^2} \quad (3.2)$$

$$F_{it} = 1 - \frac{\bar{p} - \bar{P}}{\bar{p} - \bar{p}}^2 = \frac{D - \bar{p}^2}{\bar{p} - \bar{p}}^2 \quad (3.3)$$

mientras que  $F_{st}$ , de acuerdo con la ecuación (2.15) es:

$$F_{st} = \frac{V_p}{\bar{p} - \bar{p}}^2 = \frac{\bar{p}^2 - \bar{p}}{\bar{p} - \bar{p}}^2 \quad (3.4)$$

La generalización multialélica toma en cuenta la heterocigosis observada y esperada en la definición de los índices, (Nei, 1987) así:

$$F_{is} = \frac{h_s - h_0}{h_s} \quad (3.5)$$

$$F_{it} = \frac{h_T - h_0}{h_T} \quad (3.6)$$

$$F_{st} = \frac{h_T - h_s}{h_T} \quad (3.7)$$

en donde:

$$h_0 = 1 - \frac{\sum_{k=1}^s \sum_{i=1}^m D_{kii}}{s} \quad (m=\text{número de alelos; } s=\text{número de subpoblaciones}).$$

esto es,  $h_0$  corresponde a la heterocigosis promedio observada en las subpoblaciones.

$$h_s = 1 - \frac{\sum_{k=1}^s \sum_{i=1}^m p_{ki}^2}{s}; \text{ esto es, } h_s \text{ corresponde a la heterocigosis promedio esperada en las subpoblaciones.}$$

$$h_T = 1 - \frac{\sum_{i=1}^m p_i^2}{m}; \text{ esto es, } h_T \text{ es la heterocigosis esperada en promedio en la población total.}$$

Sin embargo, las expresiones de los estadísticos-F están descritas en términos de las frecuencias alélicas y genotípicas de la población; y en la práctica debemos estimarlas a partir de un muestreo. Las estimaciones no sesgadas, que toman en cuenta errores en el muestreo, también han sido definidas por Nei (1987) y corresponden a:

$$\hat{h}_0 = h_0 \quad (3.8)$$

$$\hat{h}_s = \frac{z}{z-1} \left[ 1 - \frac{\sum_{k=1}^s \hat{p}_i^2}{z} - \frac{\hat{h}_0}{2z} \right] \quad (3.9)$$

donde  $\overline{\hat{p}_i^2} = \frac{\sum_{k=1}^s \hat{p}_{ki}^2}{s}$ , es el promedio del cuadrado de las

frecuencias alélicas estimadas en cada subpoblación, y  $z$  es la media armónica del tamaño de la muestra usada en cada subpoblación.

$$\hat{h}_T = 1 - \frac{\sum_{i=1}^m \overline{\hat{p}_i^2}}{m} - \frac{\hat{h}_s}{z} - \frac{\hat{h}_0}{2zs} \quad (3.10)$$

donde  $\overline{\hat{p}_i} = \frac{\sum_{k=1}^s \hat{p}_{ki}}{s}$ , es el promedio de la frecuencia alélica del  $i$ -ésimo alelo entre todas las subpoblaciones.

De modo que, las estimaciones no sesgadas de los estadísticos-F serán:

$$\hat{F}_{is} = 1 - \hat{h}_0 / \hat{h}_s \quad (3.11)$$

$$\hat{F}_{it} = 1 - \hat{h}_0 / \hat{h}_T \quad (3.12)$$

$$\hat{F}_{st} = 1 - \hat{h}_s / \hat{h}_T \quad (3.13)$$

#### 4.- SISTEMAS REPRODUCTIVOS EN PLANTAS

##### 4.1) Importancia del estudio de los sistemas reproductivos

El estudio de los sistemas reproductivos de plantas tiene gran importancia teórica y práctica. Desde el punto de vista teórico, el conocimiento del sistema reproductivo es muy importante, ya que éste actúa en la determinación de la estructura genética de las poblaciones (Brown et al, 1975; 1985; Jain, 1979; Clegg y Brown, 1983; Layton y Ganders, 1984; Loveless y Hamrick, 1984; Clegg y Epperson, 1985; Lande y Schemske, 1985; Hedrick, 1987; Shea, 1987; Hedrick, 1988). Las poblaciones de plantas exhiben una gran variedad de tipos de apareamientos que afectan de distinta manera su estructura genética (Clegg, 1980).

Desde el punto de vista práctico, el conocimiento de los sistemas reproductivos puede ser enfocado a la manipulación y domesticación de nuevos cultivos (Jain, 1979), a la comprensión de los efectos genéticos que son producto del sistema reproductivo, como heterosis y depresión endogámica (Ritland, 1983; Charlesworth y Charlesworth, 1987); así como la definición de estrategias óptimas de hibridización y líneas de recombinación, mantenimiento de líneas puras, preservación de parientes silvestres de plantas cultivadas, y en general, la implementación de estrategias de conservación de germoplasma (Ritland, 1983; Brown et al, 1985).

##### 4.2) Modelo mixto básico

###### a) Teoría básica

Fyfe y Bailey (1951) fueron los primeros que utilizaron este modelo en cultivos que predominantemente se autofecundan. El modelo supone que cada cigoto es el resultado de autofecundación (con probabilidad  $s$ ) o entrecruzamiento al azar (con probabilidad  $t=1-s$ ). La estimación de estos parámetros se basa en el patrón de distribución de las frecuencias genotípicas de la progenie derivada de genotipos maternos conocidos o inferidos.

Sea un locus codominante con 2 alelos,  $A_1$  y  $A_2$  con frecuencias alélicas  $p$  y  $q$ , respectivamente. La proporción esperada de los genotipos de la progenie dados los genotipos maternos se muestra en la tabla I.V.

Tabla I.V Proporciones esperadas de los genotipos de la progenie, dados los genotipos maternos.

Progenie	Genotipo materno		
	$A_1A_1$	$A_1A_2$	$A_2A_2$
$A_1A_1$	$s+tp$	$s/4+tp/2$	0
$A_1A_2$	$tq$	$s/2+t(p+q)/2$	$tp$
$A_2A_2$	0	$s/4+tq/2$	$s+tg$

De la tabla I.V puede verse que dada una madre  $A_1A_1$ , producirá descendientes  $A_1A_1$  de la siguiente manera:

- 1) Por autofecundación, con probabilidad  $s$ ,
- 2) Por entrecruzamiento, con probabilidad  $t$  multiplicada por la frecuencia del alelo  $A_1$  en la poza de polen, y descendientes  $A_1A_2$  sólo por entrecruzamiento, con probabilidad  $tq$ .

Por otro lado, una madre heterocíga  $A_1A_2$  producirá descendientes de todos los genotipos de la siguiente manera:

- 1) Por autofecundación, la mitad de sus hijos serán  $A_1A_2$  y una cuarta parte serán de los genotipos  $A_1A_1$  y  $A_2A_2$ .
- 2) Por entrecruzamiento producirá individuos  $A_1A_1$  siempre y cuando un óvulo  $A_1$  sea fecundado por polen de genotipo  $A_1$ , con probabilidad  $\frac{1}{2}tp$ . De igual forma producirá progenie  $A_2A_2$  con una probabilidad  $\frac{1}{2}tq$ . Por último, los descendientes heterocigotos se formarán cuando un óvulo  $A_1$  sea fecundado por polen de entrecruzamiento  $A_2$  ( $\frac{1}{2}tq$ ) o viceversa ( $\frac{1}{2}tp$ ), dando una probabilidad total de  $\frac{1}{2}t(p+q)$ .

El modelo de apareamiento mixto puede ser visto también como un modelo matricial de probabilidades condicionales (Ritland, 1983). La notación matricial que será usada en las siguientes secciones es:

Definimos  $P$  una matriz de  $3 \times 3$  cuyo  $i$ - $j$ -ésimo elemento contiene la probabilidad condicional de observar el genotipo  $i$  en la progenie dado el genotipo materno  $j$ . Los genotipos maternos ( $j$ ) y los genotipos de la progenie ( $i$ ) son ordenados como en la tabla I.V, de modo que el genotipo 1 es  $A_1A_1$ , el genotipo 2 es  $A_1A_2$  y el genotipo 3 es  $A_2A_2$ . De la tabla I.V puede observarse que:

$$P = \begin{bmatrix} s+tp & s/4+tp/2 & 0 \\ tq & 1/2 & tp \\ 0 & s/4+tq/2 & s+tg \end{bmatrix}$$

Esta matriz puede ser separada en 2 matrices de probabilidades condicionales: una para eventos de autofecundación (S) y otra para eventos de entrecruzamiento (T), esto es:

$$P = (1-t)S + tT \quad (4.1)$$

en donde:

$$S = \begin{bmatrix} 1 & 1/4 & 0 \\ 0 & 1/2 & 0 \\ 0 & 1/4 & 1 \end{bmatrix} \quad y \quad T = \begin{bmatrix} p & p/2 & 0 \\ q & 1/2 & p \\ 0 & q/2 & q \end{bmatrix}$$

S = Matriz de probabilidad condicional de obtener un genotipo i en la progenie dada una madre de genotipo j, tomando en cuenta exclusivamente eventos de autofecundación. Puede observarse claramente que sus elementos corresponden a las leyes de segregación mendeliana.

T = Matriz de probabilidad condicional de obtener un genotipo i en la progenie dada una madre de genotipo j, tomando en cuenta solamente entrecruzamiento con frecuencia de polen p.

Estas son las herramientas básicas para el cálculo de los parámetros del sistema reproductivo: la tasa de entrecruzamiento (t) y la frecuencia alélica de polen (p).

#### b) Suposiciones del modelo mixto básico

Las suposiciones del modelo mixto han sido discutidas por Clegg (1980), Brown et al (1985) y Hedrick (1988). Este último presenta una discusión en detalle de éstas:

H.1) Cada evento de apareamiento es el resultado de autofecundación con probabilidad s (=1-t) o entrecruzamiento al azar con probabilidad t. Esto es, no toma en cuenta apareamientos no azarosos fenotípicos o apareamientos entre parientes (más allá de los esperados al azar). Adicionalmente, la tasa de entrecruzamiento se supone constante espacial y temporalmente.

H.2) La frecuencia alélica de polen esperada es idéntica para todos los individuos maternos. Esto es, no hay variación espacial o temporal en la frecuencia alélica de polen y no hay correlación entre las frecuencias de polen y el genotipo materno, causada por factores tales como conducta de los polinizadores, morfología del polen o subestructuración de la población.

H.3) La tasa de entrecruzamiento es independiente del genotipo materno.

H.4) No hay distorsión en la segregación o selección gamética en las madres heterocígas. Esto es, hay una segregación mendeliana de los alelos de madres heterocígas, tanto en la producción de polen como en la producción de óvulos; y estos gametos tienen igual éxito en la formación de cigotos.

H.5) No actúa la selección natural entre el evento de fecundación y la determinación del genotipo de la progenie.

Cualquier violación de las suposiciones anteriormente descritas provocará un sesgo en la estimación de la tasa de entrecruzamiento, por lo que la interpretación de las tasas requerirá del conocimiento de otros factores adicionales.

En la sección 4.4 se discutirán modelos alternativos cuando se violan las suposiciones H.1 y H.2. Brown et al (1985) presentan las modificaciones necesarias cuando se viola H.4 y Hedrick (1988) presenta modelos alternativos cuando se violan las suposiciones H.3 y H.5.

c) Estimaciones de la tasa de entrecruzamiento en 1 locus

i) Descendencia heterociga de madres homocigas

Dada una madre homociga  $A_1A_1$ , la probabilidad condicional de que su progenie sea heterociga es  $tq$ , como puede verse de la tabla I.V antes descrita.

Si  $N_{12}$  = número de individuos heterocigos observados en la progenie de madres homocigas  $A_1A_1$  y  $N$  = número total de individuos analizados de la progenie de madres  $A_1A_1$ , entonces:

$$N_{12} = tqN$$

y la estimación de máxima verosimilitud para la tasa de entrecruzamiento es (Hedrick, 1987):

$$\hat{t} = \frac{N_{12}}{Nq} \quad (4.2)$$

con una varianza asociada de:

$$V(\hat{t}) = \frac{\hat{t}(1-q\hat{t})}{Nq} \quad (4.3)$$

El mismo argumento puede ser utilizado al observar la descendencia heterociga de madres homocigas  $A_2A_2$ .

Cabe aclarar que debe de juntarse toda la progenie de madres homocigas ( $A_1A_1$  ó  $A_2A_2$ ) como si fueran hermanos, para así aumentar el tamaño de la muestra.

Si se cuenta con marcadores morfológicos dominantes, este método puede ser una posibilidad para estimar la tasa de entrecruzamiento (Allard y Workman, 1963; Jain, 1979). Sin embargo, cuando se están utilizando isozimas como marcadores genéticos, no vale la pena sacrificar información al ignorar la progenie de madres heterocigas.

ii) Considerando la descendencia de todos los genotipos maternos

Si se dispone de una colecta de la población por familias, es más informativo analizar la progenie de todas las madres. Los genotipos maternos pueden ser estimados directamente mediante electroforesis. Sin embargo, pueden existir diferencias en la expresión de los genes dependiendo de la edad de la planta y del tipo de tejido que se esté ensayando (Brown, 1979). Si en experimentos previos se ha comprobado que no existen diferencias en la expresión de los marcadores genéticos escogidos entre madres y progenie, es posible obtener el genotipo materno y con ello desarrollar un algoritmo para calcular la tasa de entrecruzamiento. En caso contrario, es necesario desarrollar un proceso de dos etapas, en el cual la primera sería inferir el genotipo materno y la segunda etapa sería estimar la tasa de entrecruzamiento. A continuación se presenta brevemente el procedimiento para la obtención de los parámetros del sistema reproductivo. La metodología en detalle se describe en el apéndice.

ii.1) Genotipo materno conocido

Cuando se ha estimado previamente la frecuencia alélica de polen o bien, si se tienen bases para pensar que la frecuencia alélica de polen no difiere de la frecuencia alélica encontrada en la progenie, una estimación de máxima verosimilitud de la tasa de entrecruzamiento ( $t$ ) es iterar la siguiente ecuación (Ritland y Jain, 1981; Ritland, 1983):

$$t_{k+1} = \frac{\sum_i \sum_j x_{ij} (t_k T_{ij})}{P_{ij}} \quad (4.4)$$

donde  $x_{ij}$  es una matriz de 3x3 cuyo  $i$ - $j$ -ésimo elemento corresponde al número de individuos del genotipo  $i$  producidos por madres de genotipo  $j$ ,  $P_{ij}$  es la matriz de transición de probabilidades definida anteriormente y  $T_{ij}$  es la matriz de transición de probabilidades para eventos de entrecruzamiento.

La ecuación (4.4) converge consistentemente para  $t < 1$ , y cuando  $t_{k+1} = t_k = t$ , el valor de  $t$  corresponde a la tasa de entrecruzamiento que buscamos.

Cuando se sospecha de una subestructuración de la población o se tienen evidencias de heterogeneidad en las frecuencias alélicas de polen, es necesario hacer una estimación conjunta de la tasa de entrecruzamiento ( $t$ ) y la frecuencia alélica de polen (Ritland, 1983). Una estimación de máxima verosimilitud de la frecuencia alélica de polen ( $p$ ) se obtiene iterando la siguiente ecuación:

$$p_{k+1} = \frac{\sum_i \sum_j x_{ij} (p_k u_{ij})}{P_{ij}} \quad (4.5)$$

donde  $U_{ij}$  es una matriz cuyo  $i$ - $j$ -ésimo elemento corresponde a la derivada con respecto a  $p$  de la matriz  $T_{ij}$ .

Las ecuaciones (4.4) y (4.5) deben ser iteradas conjuntamente y suelen converger simultáneamente cuando  $p_{k+1}=p_k=p$  y  $t_{k+1}=t_k=t$ , que son los valores de la frecuencia alélica de polen y la tasa de entrecruzamiento que buscamos. Esto es, el valor de  $p_{k+1}$  obtenido en la primera iteración es usado como la frecuencia alélica de polen en la matriz  $P$  para la estimación de  $t_{k+1}$ , el cual debe ser usado como el valor de la tasa de entrecruzamiento en la matriz  $P$  para la segunda estimación de  $p_{k+1}$ , y así sucesivamente.

### ii.2) Genotipo materno desconocido

Cuando el genotipo materno es desconocido, es necesario hacer un procedimiento de dos etapas: la primera consiste en inferir el genotipo materno con base en los genotipos de la progenie y estimaciones preliminares de  $t$  y  $p$ . La segunda etapa consiste en el cálculo de los parámetros del modelo siguiendo la metodología descrita en el inciso anterior.

### iii) Estimaciones de la tasa de entrecruzamiento por mínimos cuadrados

Ritland (1983) presenta un método distinto al de máxima verosimilitud para estimar la tasa de entrecruzamiento, utilizando también arreglos de la progenie. Este método tiene como base al modelo mixto, pero con la ventaja de que se obtiene la solución de la tasa con un solo cálculo. Sin embargo, cuando el tamaño total de la muestra de la progenie es pequeño (<25) o cuando existen frecuencias alélicas extremas, hay una sobreestimación de la tasa de entrecruzamiento.

El cálculo de mínimos cuadrados para  $t$  es:

$$\hat{t} = \frac{\sum_i \sum_j (x_{ij} - f_j s_{ij})}{\sum_i \sum_j f_j (T_{ij} - s_{ij})} \quad \text{con } f_j = \sum_i x_{ij} \quad (4.6)$$

y la varianza en la estimación es aproximadamente:

$$v(\hat{t}) = \frac{\sum_i \sum_j f_j^2 (T_{ij} - s_{ij}) [f_j P_{ij} (1 - f_j P_{ij})]}{(\sum_i \sum_j f_j^2 (T_{ij} - s_{ij})^2)^2} \quad (4.7)$$



d) Estimación de la tasa de entrecruzamiento en loci múltiples

Las estimaciones de la tasa de entrecruzamiento basadas en genotipos multilocus de la progenie, se apoyan en las mismas hipótesis del modelo mixto básico, pero poseen la ventaja de tener varianzas menores y ser menos susceptibles a las violaciones del modelo (Ritland y Jain, 1981; Shaw et al., 1981; Ritland, 1983). El principio elemental y ventaja de las estimaciones multilocus sobre las de locus sencillo, es que si un locus no detecta un evento de entrecruzamiento, otro locus sí puede hacerlo. Cuando se considera un mayor número de loci, disminuye la probabilidad de error al considerar a un individuo como producto de autofecundación cuando en realidad se produjo por entrecruzamiento; esto es, al incrementar el número de loci por individuo, se incrementa la probabilidad de detectar un evento de entrecruzamiento y éste depende de que el polen de entrecruzamiento lleve alelos no presentes en la madre.

Shaw et al. (1981) y Ritland y Jain (1981) desarrollaron estimaciones multilocus de la tasa de entrecruzamiento para loci no ligados. Las metodologías usadas en ambos modelos son distintas, pero el principio de estimación es el mismo. Aquí trabajaremos con el modelo de Ritland y Jain por considerarlo como una extensión natural de las estimaciones de un locus vistas anteriormente.

Cuando los loci no están ligados, se asume que hay una segregación independiente en cada uno de ellos. Mediante el producto de Kronecker de matrices (ver apéndice) se puede hacer uso de esa independencia en modelos multilocus (Ritland y Jain, 1981).

Sea  $A$  una matriz de  $(ixj)$  y  $B$  una matriz de dimensiones  $(kxm)$ . El producto de Kronecker de  $A$  con  $B$ , denotado  $A \otimes B$ , dará lugar a una nueva matriz de dimensiones  $(ik \times jm)$ . Esto es, el producto de Kronecker toma cada elemento de  $A$  y hace una multiplicación escalar con la matriz  $B$  completa, generando una nueva submatriz de las dimensiones de  $B$  en lugar de cada elemento de  $A$ .

El siguiente desarrollo asume  $n$  loci con 2 alelos cada uno.

Sean  $S_k$  y  $T_k$  matrices de transición de probabilidades para eventos de autofecundación y fecundación cruzada en el locus  $k$ . Al igual que habían sido definidas anteriormente:

$$S_k = \begin{bmatrix} 1 & 1/4 & 0 \\ 0 & 1/2 & 0 \\ 0 & 1/4 & 1 \end{bmatrix} ; \quad T_k = \begin{bmatrix} p_k & p_k/2 & 0 \\ q_k & 1/2 & p_k \\ 0 & q_k/2 & q_k \end{bmatrix}$$

donde  $p_k (=1-q_k)$  es la frecuencia alélica de polen en el locus  $k$ . Considerando  $n$  loci no ligados y tasa de entrecruzamiento multilocus  $t_m$ , la matriz de transición de

probabilidades multilocus ( $S_m$ ) para eventos de autofecundación será (haciendo uso del producto de Kronecker):

$$S_m = S_1 \otimes S_2 \otimes \dots \otimes S_n;$$

y la matriz de transición de probabilidades para eventos de entrecruzamiento al azar considerando  $n$  loci será:

$$T_m = T_1 \otimes T_2 \otimes \dots \otimes T_n;$$

obsérvese que  $S_m$  y  $T_m$  tendrán dimensiones  $(3^n \times 3^n)$  con  $n$  loci.

Sea  $P_m$  la matriz de transición de probabilidades multilocus de dimensiones  $(3^n \times 3^n)$ , cuyo  $i$ - $j$ -ésimo elemento contiene la probabilidad de obtener progenie de genotipo multilocus  $i$ , dada una madre de genotipo multilocus  $j$ . Al igual que en las estimaciones de un locus:

$$P_m = (1-t)S_m + tT_m$$

Si el genotipo materno es conocido, los resultados de la frecuencia de los genotipos de la progenie se vacían en una matriz de frecuencias padres-hijos ( $X_m$  de dimensiones  $3^n \times 3^n$ ), siguiendo el mismo procedimiento utilizado en un locus. Si el genotipo materno es desconocido, se procede al cálculo de la matriz  $X_m$  multilocus tal y como se describe en el apéndice para el caso de un locus, pero modificando los índices y siendo cuidadosos de las dimensiones de las matrices que se requieren ahora.

Los valores de la tasa de entrecruzamiento  $t_m$  y frecuencia alélica de polen  $p_i$  ( $i=1\dots n$ ) que buscamos, son obtenidos iterando conjuntamente las ecuaciones (4.4) (modificadas con las dimensiones apropiadas de  $P_m$  y  $T_m$ ) y (4.5).

#### e) Método indirecto asumiendo equilibrio de endogamia

El índice de fijación,  $F$ , puede ser utilizado como la base para estimar la cantidad de entrecruzamiento en una población. El uso adecuado de este método, debe considerar lo siguiente: 1) autofecundación como la causa principal de endogamia, 2) que la población ya alcanzó el equilibrio de endogamia, 3) que no opera la selección natural, 4) que las poblaciones no están subestructuradas y, 5) que no hay apareamientos entre parientes.

Como se vió en el capítulo 2, en el equilibrio:

$$\hat{F} = \frac{1 - t}{1 + t}$$

y por lo tanto, la tasa de entrecruzamiento es:

$$\hat{t} = \frac{1 - \hat{F}}{1 + \hat{F}} \quad (4.8)$$

Ritland (1983) obtiene la siguiente aproximación de la varianza:

$$V(\hat{t}) = \frac{4}{(1 + \hat{F})^4} \cdot V(\hat{F}) \quad (4.9)$$

donde: 
$$V(F) = \frac{(1 - 2\hat{F})(1 - \hat{F})^2}{N} + \frac{\hat{F}(1 - \hat{F})(2 - \hat{F})}{2pqN}$$

Este método debe ser usado sólo para estimaciones preliminares de la tasa de entrecruzamiento, ya que se calcula un valor estadístico a partir de otro y las hipótesis para derivar  $t$  son muy restrictivas (Ritland, 1983).

Sin embargo, cuando el sistema reproductivo es el único factor que opera sobre la estructura genética de la población, el cálculo de la tasa de entrecruzamiento asumiendo equilibrio de endogamia es una buena aproximación, sobre todo cuando se consideran varios loci. Esto se debe a que el sistema reproductivo afecta a todos los loci del genoma (Layton y Ganders, 1984; Nei, 1987).

#### 4.3) Modificaciones al modelo mixto básico

##### a) Considerando apareamientos entre parientes

Algunos estudios han mostrado evidencia de apareamientos entre parientes (Ritland y Ganders, 1985; El-Kassaby et al, 1987; Shea, 1987). Sin embargo, los trabajos clásicos en sistemas reproductivos (que toman como base al modelo mixto) no consideran la probabilidad de apareamientos entre parientes o bien, apareamientos dentro de pequeñas subpoblaciones.

Se han desarrollado dos metodologías completamente distintas que toman en cuenta apareamientos entre parientes. Ambas violan la suposición H1 del modelo mixto y fueron propuestas por Ritland (1984) y Hedrick (1987).

##### i) Modelo de endogamia parcial de Hedrick

Hedrick (1987) asume la existencia de una proporción  $s$  de la progenie que es producida por un tipo 'definido' de apareamiento entre parientes, y una proporción  $t$  producida por entrecruzamiento. Analizando exclusivamente la descendencia

heterociga de madres homocigas en un locus y dos alelos, llega a la siguiente generalización:

$$\hat{t} = \frac{2^i N_{12}}{qN} - 2^i + 1 \quad (4.10)$$

donde  $N_{12}$  = número de hijos heterocigos producidos por madres  $A_1A_1$  o  $A_2A_2$  y  $N$  es el número total de individuos de la progenie analizados. El tipo definido de apareamiento entre parientes ( $i$ ) es el siguiente:

$i = 0$  corresponde a autofecundación  
 $i = 1$  apareamiento entre hermanos  
 $i = 2$  apareamiento entre medios hermanos  
 $\vdots$   
 etc.

Sin embargo, para bajos niveles de endogamia, el tamaño de la muestra que debe ser analizada es excesivamente grande (Hedrick, 1987).

Por otro lado, Hedrick y Cockerham (1986) desarrollaron un método mediante el cual puede calcularse el porcentaje de apareamientos entre parientes a partir de la heterocigosidad en el equilibrio de endogamia. Este cálculo puede efectuarse siempre y cuando se cuente con una estimación previa de la tasa de autofecundación.

## ii) Modelo de endogamia efectiva

Ritland (1984) desarrolló un modelo, cuyo resultado es la obtención de una tasa de endogamia efectiva ( $E$ ), que mide la cantidad de endogamia causada por apareamientos entre parientes y autofecundación. La principal diferencia entre el modelo mixto y el modelo de endogamia efectiva, radica en que en este último, se toman en cuenta poblaciones endogámicas, en donde los apareamientos entre parientes están permitidos.

Este modelo toma en cuenta la identidad por descendencia. Una madre tendrá alelos idénticos por descendencia con una probabilidad  $F$ , y la probabilidad de que no los tenga es  $(1-F)$ .

Sea un locus con dos alelos,  $A_1$  y  $A_2$ , con frecuencias  $p$  y  $q$  respectivamente en la poza de polen; y sea  $F$  el índice de fijación de Wright en la población parental, indicando la probabilidad de que una madre tenga alelos idénticos por descendencia. La probabilidad de los genotipos de la progenie, dado el genotipo materno, puede verse en la tabla I.VI.

Tabla I.VI Probabilidad condicional de los genotipos de la progenie, dado el genotipo materno, utilizando como base el modelo de endogamia efectiva. ipd denota idéntico por descendencia.

Genotipo de la progenie	Genotipo materno				
	$A_1A_1$ (ipd)	$A_1A_1$ (no-ipd)	$A_1A_2$	$A_2A_2$ (ipd)	$A_2A_2$ (no-ipd)
$A_1A_1$	$(s^i + t^i)pF$	$(s^o + t^o)p(1-F)$	$(s^o/4 + t^op/2)(1-F)$	0	0
$A_1A_2$	$(t^iq)F$	$(t^oq)(1-F)$	$(s^o/2 + t^o(p+q)/2)(1-F)$	$(t^ip)F$	$(t^op)(1-F)$
$A_2A_2$	0	0	$(s^o/4 + t^oq/2)(1-F)$	$(s^i + t^iq)F$	$(s^o + t^oq)(1-F)$

$s^i = 1 - t^i$  = tasa de autofecundación de madres con alelos ipd  
 $s^o = 1 - t^o$  = tasa de autofecundación de madres con alelos no-ipd  
 Nótese que cuando  $F=0$  ó  $s^i = s^o$ , el modelo de selfing efectivo se transforma en el modelo mixto básico.

De la tabla I.VI puede notarse que dada una madre  $A_1A_1$  con alelos idénticos por descendencia (ipd) producirá descendientes  $A_1A_1$  de dos posibles formas:

1) Por autofecundación, con probabilidad  $s^iF$ , donde  $s^i (=1-t^i)$  es la tasa de autofecundación de madres con alelos ipd y  $F$  es la probabilidad de que la madre tenga alelos ipd.

2) Por entrecruzamiento, con probabilidad  $t^ipF$ .

También producirá descendientes  $A_1A_2$  por entrecruzamiento, con probabilidad  $t^iqF$ .

Por su parte, una madre  $A_1A_1$  con alelos no idénticos por descendencia (no-ipd) producirá descendientes  $A_1A_1$  también de dos maneras:

1) Autofecundación, con probabilidad  $s^o(1-F)$ , donde  $s^o (=1-t^o)$  es la tasa de autofecundación de madres con alelos no-ipd y  $(1-F)$  es la probabilidad de que la madre no tenga alelos idénticos por descendencia.

2) Entrecruzamiento, con probabilidad  $t^op(1-F)$ .

Y los descendientes  $A_1A_2$  se producirán sólo por entrecruzamiento, con probabilidad  $t^oq(1-F)$ .

Las madres heterocígas, por definición no tienen alelos idénticos por descendencia y pueden producir descendientes de todos los genotipos, ya sea por autofecundación o entrecruzamiento.

Los parámetros independientes del modelo son  $F$ ,  $s^i$  y  $s^o$ , y deben de ser calculados conjuntamente mediante estimaciones de máxima verosimilitud (Ritland, 1986).

La cantidad promedio de endogamia efectiva en la población será (Ritland, 1984; 1986):

$$\hat{E} = \hat{F}s^i + (1-\hat{F})\hat{s}^o \quad (4.11)$$

donde  $\hat{E}$  es la tasa de endogamia efectiva estimada e incluye autofecundación verdadera y apareamiento entre parientes. De este modo, la tasa de entrecruzamiento efectiva será:

$$\hat{t} = 1 - \hat{E} \quad (4.12)$$

Este modelo resulta de utilidad cuando se tiene evidencia de que las poblaciones son endogámicas (Ritland, 1984; 1986; Ritland y Ganders, 1985) o cuando las poblaciones se encuentran subdivididas espacialmente, por lo que se sospecha la existencia de apareamiento entre parientes.

#### b) Modelo de apareamientos correlacionados

Schoen y Clegg (1984; 1986) desarrollaron un modelo en el que consideran una distribución no al azar del polen de entrecruzamiento, en el que los granos de polen recibidos por una madre están correlacionados. Encontraron que si un sólo padre fecunda a todos los óvulos de una flor o planta, entonces el modelo mixto subestima la tasa de entrecruzamiento.

La suposición H2 del modelo mixto básico, probablemente es violada en muchas especies de plantas polinizadas por insectos con poco arrastre de polen, cuando el polen recogido de una o pocas plantas recién visitadas es depositado en masa en el estigma de una flor o individuo. No obstante, una población subestructurada también puede contribuir a la correlación entre apareamientos si se modifica la probabilidad de fecundación por los tipos de polen (Schoen y Clegg, 1984).

El desarrollo del modelo de apareamientos correlacionados puede ser visto de la siguiente manera:

La probabilidad de que ocurra un evento de entrecruzamiento, suponiendo una distribución al azar de la frecuencia de polen es directamente proporcional a la tasa de entrecruzamiento y a la frecuencia de polen ( $p$ ). Esto es, la probabilidad de que dos óvulos de una planta  $A_i A_j$  sean fecundados por el mismo polen  $j$  es  $\text{Prob}(A_i A_j / A_i A_j) = t p_j$ ; donde  $p_j$  es la frecuencia del alelo  $A_j$  en el pozo de polen.

Cuando los eventos de entrecruzamiento están correlacionados,  $p_j$  tiende a aumentar en un apareamiento, y en el caso extremo de que todos los óvulos sean fecundados por el mismo padre  $p_j = 1$  y  $\text{Prob}(A_i A_j / A_i A_j) = t$ . Así, los eventos de entrecruzamiento cuando hay apareamientos correlacionados (en el caso extremo), dependen exclusivamente de  $t$ , mientras que en el

modelo mixto de distribución de frecuencias alélicas al azar, dependen tanto de  $t$  como de la frecuencia alélica de polen ( $p$ ).

Con esta base, en la tabla I.VII puede verse la probabilidad condicional de la progenie, dado un evento de apareamiento correlacionado. La estimación de máxima verosimilitud de  $t$  y frecuencias de tipos de apareamientos, así como sus varianzas asociadas, puede verse en Schoen y Clegg (1984).

Schoen y Clegg (1986) compararon el modelo mixto con su modelo de apareamientos correlacionados utilizando simulaciones Monte Carlo. Encontraron que cuando existe correlación en la frecuencia de polen, los errores de estimación en el modelo mixto se reflejan en un sesgo en la estimación en las frecuencias genotípicas parentales, tasa de entrecruzamiento y frecuencia de polen, además de tener grandes varianzas asociadas. Estos sesgos son más evidentes con  $t$  grandes.

Tabla I.VII Probabilidades condicionales del genotipo de la progenie dado un tipo específico de apareamiento. Basada en el modelo de apareamientos correlacionados.

Apareamiento madre padre	Genotipos de la progenie		
	$A_1A_1$	$A_1A_2$	$A_2A_2$
$A_1A_1 \times A_1A_1$	$s+t=1$	0	0
$A_1A_1 \times A_1A_2$	$s+t/2$	$t/2$	0
$A_1A_1 \times A_2A_2$	$s$	$t$	0
$A_1A_2 \times A_1A_1$	$s/4+t/2$	$(s+t)/2=1/2$	$s/4$
$A_1A_2 \times A_1A_2$	$(s+t)/4=1/4$	$(s+t)/2=1/2$	$(s+t)/4=1/4$
$A_1A_2 \times A_2A_2$	$s/4$	$(s+t)/2=1/2$	$s/4+t/2$
$A_2A_2 \times A_1A_1$	0	$t$	$s$
$A_2A_2 \times A_1A_2$	0	$t/2$	$s+t/2$
$A_2A_2 \times A_2A_2$	0	0	$s+t=1$

Tanto el modelo mixto como el modelo de apareamientos correlacionados representan un extremo, ya que en la naturaleza es probable que no exista ni independencia completa, ni completa correlación entre las frecuencias de polen. El uso de uno u otro modelo debe considerar varios criterios biológicos, como tipo de polinización, fenología floral, y la manera en que son producidas las semillas. También, varios parámetros estadísticos pueden ayudarnos a escoger el modelo más apropiado, ya que 1) un exceso de progenie heterociga de madres heterocigas, indica violación de la suposición de independencia del modelo mixto y 2) una estimación excesivamente alta de la frecuencia de padres heterocigos indica violaciones a la hipótesis de correlación (Schoen y Clegg, 1986).

## 5.- LA ESPECIE DE ESTUDIO: Phaseolus coccineus

Phaseolus coccineus es una especie de frijol que se puede encontrar en México tanto en estado silvestre como cultivado, además de algunas formas intermedias que se conocen como "escapados" (Delgado, 1988). Presenta un área de distribución muy amplia, que va del norte de México al norte de Colombia, pero la zona de México-Guatemala es la que se considera como el centro de origen y diversificación de la especie, ya que es donde se encuentra la mayor diversidad de formas silvestres (Miranda-Colín, 1967; CIAT, 1980; Sousa y Delgado, 1979; Búrquez y Sarukhán, 1980). Las montañas mexicanas han sido propuestas como el centro de domesticación más probable de Phaseolus coccineus, ya que en esta zona es donde se han encontrado los restos arqueológicos más antiguos de la especie (Kaplan, 1981) y es donde se encuentra también la mayor diversidad de formas cultivadas (CIAT, 1980; Delgado, 1988).

En general, P. coccineus es una especie de clima fresco a templado (CIAT, 1980), aunque en México existen algunas variedades adaptadas incluso a climas cálidos y secos (Delgado, 1988). Las formas silvestres se pueden encontrar creciendo entre los 700-3000 metros de altitud, pero más frecuentemente alrededor de los 2200 metros (Miranda-Colín, 1979). En México se encuentran poblaciones silvestres de esta especie en la Sierra Madre Oriental, Occidental y del Sur; el Eje Transvolcánico y la Sierra de San Cristobal de las Casas, en Chiapas (Miranda-Colín, 1979), y la mayor diversidad de formas cultivadas se encuentra en los estados de Puebla, Oaxaca y Chiapas (Delgado, 1988).

Taxonómicamente, Phaseolus coccineus ha sido ubicado como sigue; orden: Rosales, familia: Leguminosae, subfamilia: Papilionoidae, tribu: Phaseolae, subtribu: Phaseolinae, género: Phaseolus (Miranda-Colín, 1967; Fernández, 1979; CIAT, 1980). Su número cromosómico es  $2n=22$  (Wall, 1970).

### 5.1) Algunos aspectos sobre su morfología

Las plantas de Phaseolus coccineus son generalmente enredaderas perennes y vigorosas, que suelen desarrollar sistemas radiculares profundos, ramificados y carnosos. Durante los meses de sequía, las ramas o porción aérea de la planta generalmente mueren, pero la raíz permanece viable y es el órgano encargado de producir nuevas ramas cuando vuelven las lluvias (Fernández, 1979; CIAT, 1980; Delgado, 1988).

Las ramas, con hojas trifolioladas, pueden medir entre 3 y 10 metros de longitud y tienen la capacidad de enredarse en la vegetación adyacente, evitando al máximo la interferencia por luz entre las hojas (Fernández, 1979; Miranda-Colín, 1979). En



los nudos de las ramas se presentan varias yemas, que se conocen como yemas múltiples, ya que tienen la potencialidad de desarrollar tanto nuevas ramas como estructuras reproductivas; generalmente son las yemas de la porción superior de la planta las que darán lugar a las inflorescencias, de modo que éstas quedan perfectamente expuestas a la actividad de los polinizadores (Fernández, 1979; Delgado, 1988).

El tamaño de las hojas en las poblaciones silvestres puede variar de 0.3 x 0.3 cm cuando son jóvenes, hasta 20.2 x 12.7 cm en las maduras (Fernández, 1979), en las plantas cultivadas pueden alcanzar tamaños aún mayores (CIAT, 1980; Delgado, 1988).

Las inflorescencias son racimos elongados que pueden alcanzar a medir hasta 60 cm de largo y producen entre 4-76 flores, dispuestas en fascículos biflorales (Fernández, 1979; Miranda-Colín, 1979; Delgado, 1988). La corola consta de 5 pétalos: uno superior grande, llamado estandarte o vexillo, dos laterales libres o alas y dos inferiores unidos llamados quilla (Sousa y Delgado, 1979). Las flores son grandes, pudiendo medir de 1-1.5 cm de longitud en las formas silvestres y alcanzando hasta 2.5 cm en algunas plantas cultivadas (Fernández, 1979; Delgado, 1988). Su coloración puede ser roja o blanca tanto en formas silvestres como cultivadas, pero en algunas poblaciones silvestres puede observarse una gama completa de colores florales donde crecen juntas plantas rojas y blancas (Miranda-Colín, 1979; Delgado, 1988). La posición del estigma es de apical a extrorsa, pudiéndose presentar una amplia variación (Sousa y Delgado, 1979; Delgado, 1988). En la figura I.4 se muestran las posiciones del estigma encontradas en esta especie.



Figura I.4 Variación existente en la posición del estigma en Phaseolus coccineus, en comparación con un estigma introrso en Phaseolus vulgaris. Los estambres siempre se encuentran en la posición representada esquemáticamente en el estigma de P.vulgaris.

Los frutos son vainas de color café, crema o moteado. Miden de 4-7 cm en las formas silvestres y pueden alcanzar hasta 30 cm en algunas formas cultivadas (Miranda-Colín, 1979). Las plantas cultivadas rara vez desarrollan más de 6 semillas por vaina y las silvestres presentan entre 4-9 (Delgado, 1988). La dehiscencia de los frutos es explosiva en las formas silvestres, mientras que las cultivadas son generalmente indehiscentes (CIAT, 1980; Delgado, 1988). Las semillas de las plantas cultivadas son mucho más grandes que las de las silvestres y pueden presentar una gran gama de coloración (Delgado, 1988).

La germinación en casi todas las subespecies de Phaseolus coccineus es hipógea (dejan los cotiledones debajo del suelo al germinar; Wall y York, 1957), sólo la subespecie darwinianus presenta germinación epigea (Delgado, 1988).

En la figura I.5 se representa esquemáticamente una planta de Phaseolus coccineus.

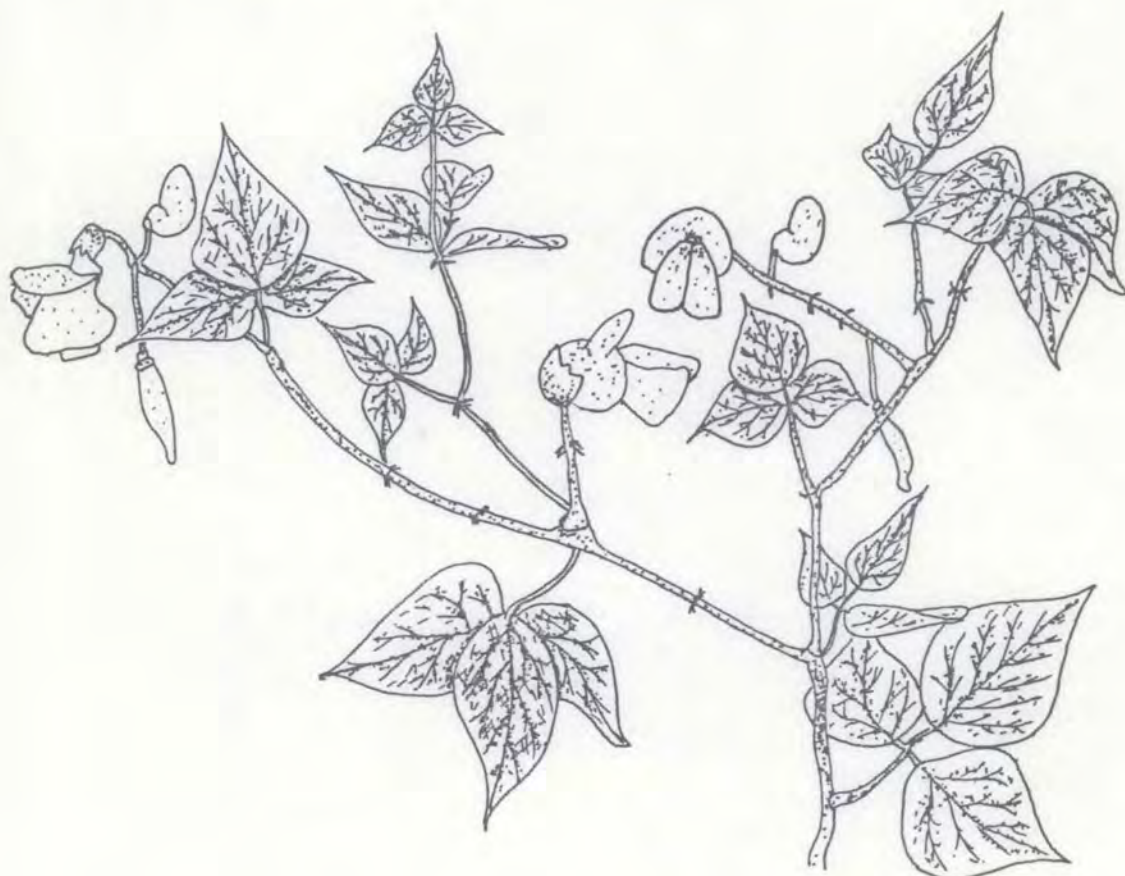


Figura I.5 Planta de Phaseolus coccineus. Se muestran las hojas trifolioladas, inflorescencias, flores y frutos.

## 5.2) Taxonomía de Phaseolus coccineus

Durante muchos años ha prevalecido un enorme desorden en cuanto a la nomenclatura y clasificación de las subespecies de Phaseolus coccineus. Sin embargo, en fechas recientes se han propuesto algunas clasificaciones que tratan de unificar criterios. Maréchal et al (1978; en Delgado, 1988) propusieron dividir a la especie en cuatro subespecies; posteriormente, el mismo Delgado (1988) propuso la siguiente clasificación en cinco subespecies:

### 1) Phaseolus coccineus ssp. formosus

Es un taxa muy polimórfico que se extiende en una amplia zona geográfica, que va desde Chihuahua hasta Panamá, de los 1000 a los 3000 m. de altitud. Incluye principalmente plantas silvestres, aunque en algunas regiones es casi imposible reconocer y delimitar poblaciones silvestres que no hayan estado sometidas a flujo génico de plantas domesticadas.

En el Eje Transvolcánico de México se encuentran poblaciones con flores malva o lila, en lugar de las típicas rojas o blancas. En cruza recíprocas se ha encontrado que es completamente compatible con Phaseolus vulgaris, una característica sobresaliente dentro de Phaseolus coccineus (Maréchal et al, 1978 ; en Delgado, 1988).

### 2) Phaseolus coccineus ssp. glabellus

Esta subespecie se restringe a zonas de bosque mesófilo de montaña desde el suroeste de Tamaulipas hasta Chiapas, en altitudes que van de los 750 a los 1600 metros. Se caracteriza por ser glabra.

Aunque en algunas regiones coexiste con otras de las subespecies, rara vez se forman híbridos naturales y debido a esto, es un taxón claramente definido (Delgado, 1988).

### 3) Phaseolus coccineus ssp. griseus

De esta subespecie se conocen poblaciones esporádicas a lo largo de la Sierra Madre Occidental, el oeste del Eje Transvolcánico y la Sierra Madre del Sur, en altitudes que van de los 610 a los 2250 metros. Crece en bosque tropical caducifolio y matorral xérico. Esta subespecie está claramente adaptada a zonas más calientes y secas que las otras. Sus vainas presentan hasta nueve semillas (en otras subespecies se presentan máximo 7).

### 4) Phaseolus coccineus ssp. coccineus

Comprende sólo formas cultivadas con germinación hipógea, raíces tuberosas, corolas rojas o blancas y estigma extrorso o apical. Delgado (1988) propone que la domesticación de esta subespecie se dió a partir de la subespecie formosus.

### 5) Phaseolus coccineus ssp. darwinianus

Se presenta principalmente en forma cultivada, aunque se pueden encontrar también algunas formas escapadas, que crecen en zonas perturbadas. Ocurre en bosques de montaña húmedos o subhúmedos, en altitudes de 1200 a 2700 metros. Presenta germinación epigea y el color de la flor va de blanco o amarillo a lila o púrpura. Se caracteriza por presentar raíces largas no tuberosas y estigma de apical a introrso.

## 5.3) El sistema de apareamiento

### a) Entrecruzamiento en Phaseolus coccineus

En el género Phaseolus la posición del estigma puede ser introrsa, apical o extrorsa (ver figura I.4). El estigma introrso está localizado en la parte interna del estilo, dirigido hacia las anteras, el apical en el extremo del estilo y el extrorso en la parte externa, dirigido en la posición opuesta de las anteras. La posición del estigma en las flores de Phaseolus coccineus había sido considerada como una característica taxonómica diagnóstica del grupo. Sin embargo, recientemente se ha cuestionado su utilidad taxonómica, ya que la introgresión de las poblaciones silvestres con los cultivares (Smartt, 1970) y posiblemente con Phaseolus vulgaris (Smartt, 1970; 1979; Wall, 1970; Bassiri y Adams, 1978) ha resultado en un gran rango de variación en este carácter (Delgado, 1988). Phaseolus vulgaris presenta estigma introrso; las subespecies coccineus, formosus, glabellus y griseus principalmente extrorso y, en darwinianus es generalmente introrso, aunque presenta mucha variación (CIAT, 1980; Delgado, 1988). Estudios genéticos han demostrado que la posición del estigma en esta especie está controlada por un complejo de al menos 6 genes (Manshardt y Bassett, 1984).

Se ha propuesto que la posición extrorsa del estigma podría promover el entrecruzamiento, ya que es difícil que reciba polen de sus propias anteras, mientras que las especies con estigma introrso, como Phaseolus vulgaris y Phaseolus lunatus, principalmente se autofecundan (Miranda-Colín, 1967; 1979; Wall, 1970; CIAT, 1980; Delgado, 1988). Esta hipótesis se ha visto apoyada por los resultados obtenidos en experimentos de exclusión de polinizadores, en la mayoría de los cuales se han obtenido porcentajes muy bajos de producción de semillas para Phaseolus coccineus (Darwin, 1958; Free, 1966 y Free & Racey, 1968; en Kendall y Smith, 1976; Blackwall, 1971).

A pesar del aparente acuerdo general en cuanto a la necesidad de los polinizadores para la producción de semillas, ha habido diferentes propuestas respecto a los niveles de entrecruzamiento de esta especie. Darwin (1858; en Delgado, 1988) al igual que otros, creía que las abejas eran necesarias para inducir la autofecundación y que el entrecruzamiento era excepcional en esta especie. Blackwall (1971) estableció que el entrecruzamiento variaba de 20 a 50% para los cultivos

británicos. En fechas más recientes, Búrquez (1979) mediante estudios de biología floral en P. coccineus encontró que en un cultivar los niveles de entrecruzamiento iban de 63 a 87% y para poblaciones silvestres de 45 a 90% y Miranda-Colín (1974; en Miranda-Colín, 1979) mediante el uso de marcadores morfológicos, estimó en 73.3% el nivel de entrecruzamiento en esta especie. Estos datos sugieren un sistema de apareamiento mixto de autofecundación y fecundación cruzada, pero con predominancia de esta última.

Por su parte, Heslop-Harrison (1984, en Delgado, 1988) encontró que en este género, para que el polen germine en el estigma, la membrana estigmática debe ser rota y que, mientras Phaseolus vulgaris presenta membranas que son fáciles de romper, las de Phaseolus coccineus son más resistentes y se mantienen hasta que son rotas por un polinizador apropiado. En raros casos puede suceder que esta membrana se rompa de manera espontánea y permita la autofecundación. El mismo autor propone que en Phaseolus coccineus hay una doble protección contra la autofecundación: por un lado la proporcionada por la membrana estigmática y por otro lado, la existencia de un sistema de autoincompatibilidad gametofítico.

Se han llevado a cabo estudios de interfertilidad entre poblaciones silvestres y cultivadas y todos ellos indican ausencia de barreras entre ambos tipos de poblaciones (Smartt, 1970; 1979 ; Búrquez y Sarukhán, 1980 y LeMarchand, 1971 y Maréchal, 1971 en Delgado, 1988). Este hecho podría explicar los continuos de variación que frecuentemente se observan de poblaciones silvestres, escapadas y cultivadas. La conducta indiscriminada de abejorros y colibríes cuando coexisten poblaciones silvestres y cultivadas en una misma zona y la ausencia de barreras mencionada anteriormente, podrían explicar este hecho.

#### b) Polinizadores

En esta especie la visita de los polinizadores es necesaria para la producción normal de semillas. En Inglaterra, Kendall y Smith (1976) encontraron que las flores de Phaseolus coccineus eran polinizadas tanto por abejas como por abejorros, siendo estos últimos más eficientes en la polinización. En México, Búrquez (1979) realizó un estudio detallado de los polinizadores de Phaseolus coccineus, tanto para formas silvestres como cultivadas y presenta una lista de los visitantes más comunes de sus flores. Para que un visitante pueda ser considerado como polinizador de esta especie, es necesario que durante su visita presione el ala derecha de la flor, provocando la extrusión del estigma y los estambres (Blackwall, 1971). Dentro de la categoría de verdaderos polinizadores, Búrquez (1979) encontró que los más comunes son los abejorros del género Bombus en zonas de baja altitud y el colibrí Hylocharis leucotis en zonas de elevada altitud del Valle de México.

### c) Fenología

La fenología de poblaciones silvestres y cultivadas de Phaseolus coccineus ha sido estudiada por Fernández (1979) y Búrquez y Sarukhán (1981).

El período de floración es muy amplio, abarcando desde marzo a diciembre, con un máximo entre agosto y septiembre. En ambos trabajos se reportan diferencias en cuanto a los ciclos fenológicos entre poblaciones de baja y elevada altitud. En las poblaciones elevadas, la producción de hojas se inicia en mayo, el máximo de floración se produce en julio y toda la porción aérea de la planta se seca a finales de octubre. En las poblaciones de baja altitud, la producción de hojas comienza en junio y el pico de floración se alcanza en octubre, secándose la parte aérea de las plantas en diciembre.

Phaseolus coccineus fue escogida para realizar el análisis de su estructura genética y parámetros del sistema reproductivo por varios motivos, entre los cuales podemos mencionar los siguientes:

1) Es una especie que presenta una gran diversidad tanto de formas silvestres como cultivadas en México (que se considera su probable centro de diversificación y domesticación).

2) Se conoce muy poco acerca de la estructura genética de esta especie y no existen estimaciones de la tasa de entrecruzamiento utilizando isozimas.

3) Es una especie que presenta un sistema de apareamiento mixto, por lo que el estudio de su sistema reproductivo resulta particularmente interesante.

## II. OBJETIVOS

1) Montar un sistema de enzimas polimórficas con patrones electroforéticos de fácil interpretación en Phaseolus coccineus.

2) Obtener los parámetros de la estructura genética de algunas poblaciones silvestres y cultivadas de esta especie.

3) Caracterizar sus sistema reproductivo y obtener los parámetros que lo determinan.

4) Identificar las posibles fuerzas que están determinando la distribución espacial y temporal de los genotipos en las poblaciones.

5) Investigar los patrones de diferenciación entre las poblaciones de esta especie.

### III. MATERIAL Y METODO

#### 1.- TRABAJO DE CAMPO

##### 1.1) Localidades de estudio

Para llevar a cabo las estimaciones de los parámetros de la estructura genética y sistema reproductivo de Phaseolus coccineus, se escogieron tres localidades de estudio; dos en la zona centro de México y una tercera en el estado de Chiapas. Las poblaciones silvestres fueron definidas arbitrariamente utilizando criterios de distancia.

a) Huertas de San Pedro, Huitzilac, Morelos. Esta localidad se encuentra a la altura del km 52.5 de la carretera federal a Cuernavaca, a una altitud de 2300-2500 m.s.n.m., la vegetación es de pino y encino y sus características han sido descritas por Búrquez y Sarukhán (1981). Esta localidad se consideró de interés, ya que en ella coexisten poblaciones silvestres y cultivadas de Phaseolus coccineus. Un cultivar mixto de maíz con Phaseolus coccineus y Phaseolus vulgaris se encuentra rodeado por una población silvestre de Phaseolus coccineus subespecie formosus y otra población silvestre de esta misma subespecie se encuentra aproximadamente a 800 m de distancia de la anterior. Para su estudio se escogieron las dos poblaciones silvestres (la más cercana al cultivar se denominó H2(S) y la más distante H1(S)); además de la población cultivada de Phaseolus coccineus (H(C)) y la de P. vulgaris (Hv(C)) que se utilizó como control.

b) Bosque de Tlalpan D.F. Esta localidad se encuentra en la delegación de Tlalpan, hacia las afueras de la Cd. de México; a una altitud de 2600-2800 m.s.n.m. Forma parte del Pedregal de San Angel y la vegetación es de bosque de encino, algunos elementos de la vegetación de esta localidad pueden consultarse en Alvarez et al (1986). En esta localidad se encuentran poblaciones silvestres de Phaseolus coccineus subespecie formosus, pero a diferencia de otras poblaciones silvestres de esta especie, en las que se presenta un único color de flor (rojo escarlata), en esta localidad existe un polimorfismo para el color de la flor, las cuales pueden ser desde rojo escarlata hasta blanco, pasando por las coloraciones intermedias. Se escogieron dos poblaciones distantes entre sí aproximadamente 3 km; la primera, denominada T(S), se encuentra en la parte baja del bosque, cerca de los juegos infantiles y la segunda T2(S) en la parte alta cercana al zoológico. Sin embargo,



por contar con pocas plantas para T2(S), esta población sólo se utilizó en los cálculos de los estadísticos-F y diferenciación genética.

c) San Cristobal de las Casas, Chiapas. Se encuentra en la zona de los altos de Chiapas, a una altitud de 2100 m.s.n.m. Colectas de dos campos de cultivo de Phaseolus coccineus cercanos a San Cristobal de las Casas, nos fueron proporcionadas en el Centro de Investigaciones Ecológicas del Sureste (CIES). La población CH2(C) corresponde a un campo experimental del CIES y la población CH1(C) a otro campo de cultivo.

## 1.2) Marcaje de individuos y determinación de genotipos maternos

Entre 15 y 20 plantas de cada población fueron marcadas en los meses de septiembre y octubre de 1987. El criterio de selección de las plantas fué el que tuvieran un tamaño suficientemente grande, de modo que hubiera altas probabilidades de que florecieran en ese año. Debido a que las plantas de esta especie crecen en forma agregada y se enredan en la vegetación adyacente, es difícil identificar un individuo, por lo que todas las ramas de cada individuo fueron seguidas y marcadas para evitar cualquier error.

Una vez marcadas las plantas de todas las poblaciones, se procedió a la determinación del genotipo materno. Una muestra de tejido foliar de cada planta fué colectado y transportado en hielo hasta el laboratorio, donde se corrieron las electroforesis. Se ensayaron 18 enzimas, y de las que resultaron polimórficas, se escogieron 6 con patrones claros y de fácil interpretación.

## 1.3) Polinizaciones controladas

En la población cultivada de Huitzilac H(C) se hicieron dos tipos de tratamientos de polinizaciones controladas sobre las flores de las plantas marcadas.

a) Autofecundación espontánea. Con este tratamiento se pretendió determinar el porcentaje de autofecundación espontánea (sin la presencia de un vector) en flores de Phaseolus coccineus y P. vulgaris. Con este fin, se cubrieron inflorescencias que tuvieran la mayoría de las flores en estado de botón con una bolsa de gasa fina. Para cada inflorescencia se registró el número de botones embolsados; dejando fuera de la bolsa o retirando aquellas flores que ya hubieran abierto. Cada semana se contaba el número de frutos que se habían producido hasta ese momento en el interior de la bolsa. El porcentaje de autofecundación espontánea se calculó como el número de vainas producidas entre el número de botones embolsados.

b) Autofecundación manual. El objetivo de este tratamiento fué obtener una medida del porcentaje de autocompatibilidad en flores de Phaseolus coccineus. Las inflorescencias fueron embolsadas en estado de botón y cada 4-5 días se revisaban en busca de flores que hubieran abierto. Cuando se encontraban flores abiertas en el interior de la bolsa, ésta era retirada y mediante la ayuda de un pincel fino, se colocaba polen de la misma flor en la superficie del estigma, frotando el pincel ligeramente sobre éste para asegurar la ruptura de la membrana estigmática. Una vez realizada la polinización, la bolsa era colocada nuevamente y al cabo de 10 días se registraba la producción de frutos. El porcentaje de autofecundación manual se calculó como el número de frutos producidos con respecto al número de flores polinizadas manualmente.

Además de proporcionar datos relacionados con el sistema reproductivo de la planta, las polinizaciones controladas también sirvieron para comprobar los patrones de segregación de las enzimas. Todas las semillas maduras producidas por cualquiera de los dos tratamientos fueron germinadas y ensayadas electroforéticamente. Como el genotipo de la madre era conocido para todos los loci, el análisis de la progenie permitió corroborar las hipótesis de segregación.

#### 1.4) Análisis del movimiento de polen en una planta

Dado que las plantas de Phaseolus coccineus producen un gran número de flores y una misma planta puede extenderse en un área relativamente grande, pueden producirse eventos de autofecundación por el movimiento de polen entre las flores de la misma planta. Este fenómeno conocido como geitonogamia ha sido estudiado por Hessing (1988) para Geranium caespitosum. Para cuantificar la magnitud de este fenómeno se utilizaron polvos fluorescentes, que asemejan el movimiento de polen (Handel, 1983).

La metodología consistió en escoger tres plantas de diferente tamaño y distribuidas en distintos puntos de las poblaciones silvestres y cultivadas de Huitzilac H2(S) y H(C). Para una de las plantas se escogió una flor de la parte más alta, para otra una flor de la parte inferior y para la tercera una flor de la parte media. En las flores escogidas, se provocó la extrusión de los estambres presionando ligeramente el ala derecha de la flor y en la superficie de los mismos se colocó una pequeña cantidad de polvos fluorescentes. Se utilizó un color distinto para cada planta, para evitar confundir polvos de autofecundación con polvos de entrecruzamiento. Los polvos se colocaron a las 8:00 am y se dejó que los polinizadores actuaran durante un período de 6 horas, al cabo de las cuales se arrancó la flor marcada con polvos y todas las demás flores abiertas de la planta fueron colectadas en bolsitas de papel independientes. Posteriormente, con la ayuda de una lámpara de luz ultravioleta,

se contó el número de flores que presentaban polvos y se sacó el porcentaje de movimiento de polen dentro de cada planta. Este mismo procedimiento se repitió cuatro veces en distintos días y con todos los datos se obtuvo una media del porcentaje de autofecundación por movimiento de polen entre flores de una misma planta (geitonogamia).

#### 1.5) Colecta de las semillas

Durante los meses de noviembre y diciembre de 1987 se colectaron los frutos maduros de cada una de las plantas marcadas.

Para cada fruto se registró la inflorescencia a la que pertenecía y se contó el número de cicatrices florales y frutos por inflorescencia. Para las semillas se registró la vaina a la que pertenecían y se contaron el número de semillas comidas, abortadas y sanas por vaina para cada planta.

Todas las semillas fueron colocadas en bolsas de papel con naftalina (para evitar la proliferación de plagas) y refrigeradas hasta el momento en que fueron germinadas.

## 2.- TRABAJO DE LABORATORIO

### 2.1) Electroforésis

Los genotipos maternos y de la progenie fueron obtenidos mediante electroforésis en gel de almidón. Esta técnica se basa en la migración diferencial de proteínas cargadas bajo la influencia de un campo eléctrico (Richardson et al, 1986). El fundamento de su utilización en trabajos de genética de poblaciones consiste en que, como la carga electrostática neta de las proteínas depende de la secuencia de sus aminoácidos, entonces las variantes móviles de una enzima (isozimas) pueden ser equiparadas con alelos en el correspondiente gen estructural (Selander et al, 1986) y sus frecuencias pueden ser igualadas con frecuencias alélicas.

La metodología en detalle puede consultarse en Soltis et al (1983), González de León (1985) y Richardson et al (1986).

### 2.2) Procedimiento electroforético

Un único sistema de buffer fué utilizado en el análisis de 6 enzimas; éste consistió de buffer de gel de histidina (0.005M, pH7) y buffer de charola tris 0.135M y 0.043 de ácido cítrico pH7 (Piñero y Eguiarte, 1988).

Las electroforésis se llevaron a cabo sobre tejido fresco del foliolo central de plántulas previamente germinadas en invernadero. Para cada familia se corrieron de 4-10 individuos de la progenie.

Los tejidos fueron homogeneizados en buffer de gel, absorbidos en papel para cromatografía Whatman No. 17 (10 x 4 mm) y colocados en geles de almidón al 12%. Adicionalmente, se añadió en cada gel un colorante de amaranto para monitorear la migración. La electroforésis fué conducida a 60 mA por gel hasta que el colorante migrara 10 cm.

Una vez terminado el corrimiento, los geles fueron cortados en 6 rebanadas de 2 mm y teñidos para sus respectivas enzimas. Las enzimas utilizadas y las referencias de tinción pueden observarse en la tabla III.I

Los genotipos electroforéticos fueron registrados inmediatamente después de la tinción, cuando se observaba la mejor resolución.

Tabla III.I Sistemas enzimáticos estudiados y referencia de tinción en cada uno de ellos.

ENZIMA	REFERENCIA DE TINCION
Malato deshidrogenasa MDH E.C. 1.1.1.37	Vallejos, 1983
Shikimato deshidrogenasa SDH E.C. 1.1.1.25	Vallejos, 1983
Fosfoglucomutasa PGM E.C. 2.7.5.1	Vallejos, 1983
Fosfatasa ácida ACPH E.C. 3.1.3.2	Piñero, 1982
Rubisco RUB	Piñero (Com. pers.)
6-Fosfogluconato deshidrogenasa 6-PGD E.C. 1.1.1.44	Soltis et al, 1983

### 2.3) Interpretación genética de los geles

La base genética de la variación en los geles, fué confirmada mediante autofecundaciones de individuos homócigos y heterócigos tentativos. La progenie de madres homócigas fué toda homóciga para el mismo alelo, en tanto que la progenie de madres heterócigas presentó individuos homócigos y heterócigos. A excepción de RUBISCO (para la cual no se realizó esta prueba), todos los loci presentaron este patrón; sin embargo, el número de hijos de madres heterócigas que se ensayaron, no fué suficiente para comprobar si las proporciones observadas se ajustaban a las esperadas 1:2:1.

La nomenclatura de los loci se estableció en función de la migración anodal. Aquellos loci que tuvieron la mayor migración anodal recibieron el número uno; el segundo loci con mayor migración anodal recibió el número dos, y así sucesivamente (ver figura IV.1).

En cuanto a la categorización de los alelos en cada locus, ésta siguió un criterio inverso, ya que el alelo con menor migración anodal recibió el número uno; el segundo alelo con menor migración anodal recibió el número dos, y así sucesivamente (ver figura IV.1).

### 3.- ANALISIS DE LOS DATOS

#### 3.1) Parámetros de la estructura genética

Las frecuencias alélicas y genotípicas, así como los índices de fijación (F) y diversidad genética (H) fueron obtenidos utilizando las estimaciones no sesgadas de Nei (1987), tanto para el caso de un locus como multilocus.

Los estadísticos-F, en caso de poblaciones estructuradas, también fueron obtenidos utilizando las estimaciones no sesgadas de Nei (1987) en n subpoblaciones.

Todas estos parámetros fueron calculados conjuntamente en un programa elaborado en turbo pascal y verificados a mano utilizando las ecuaciones descritas en el capítulo I.

#### 3.2) Parámetros del sistema reproductivo

La obtención de los parámetros del sistema reproductivo en Phaseolus coccineus se logró mediante la construcción de programas diseñados en turbo pascal. El algoritmo sigue la metodología utilizada en Ritland (1983) para el caso de un locus, y en Ritland y Jain (1981) para el caso multilocus. Actualmente se dispone también del programa MLT elaborado por Ritland (1988), que utiliza el mismo algoritmo pero cuyo manejo es más sencillo.

Ambos programas, así como el utilizado para calcular los parámetros de la estructura genética, se encuentran disponibles en el laboratorio de genética y evolución del Centro de Ecología.

Para algunos parámetros de la estructura genética no se ha desarrollado estadística específica, por lo que en algunos casos se utilizaron pruebas no específicas y en otros no se realizó un análisis estadístico.

#### IV. RESULTADOS Y DISCUSION

##### 1.- SISTEMAS ENZIMATICOS

Un juego de 18 enzimas que codifican aproximadamente para 30 loci fué ensayado en Phaseolus coccineus y Phaseolus vulgaris. En la tabla IV.I se presenta el número total de loci y el número de loci polimórficos que codifican para cada enzima, así como la estructura cuaternaria de cada una. El índice de loci polimórficos en Phaseolus coccineus fué de 0.50, que representa un nuevo dato en la literatura, ya que este parámetro no había sido reportado anteriormente. En P. vulgaris, el índice de loci polimórficos fué de 0.115, que esta de acuerdo con el reportado por Gepts (mans.) de 0.111 para la misma especie.

Se escogieron 6 enzimas (que codifican para 7 loci), con buena resolución y variación genética interpretable para investigar la estructura genética y los parámetros del sistema reproductivo. Estas enzimas fueron MDH, SDH, PGM, ACPH, RUBISCO y 6-PGD.

##### 1.1) Malato deshidrogenasa (MDH)

La figura IV.1a (a) ilustra el gel que ha sido teñido específicamente (zimograma) para esta enzima. Se observó la presencia de 3 loci, de los cuales 2 tuvieron idéntica migración y no pudieron ser interpretados (Mdh-1 y Mdh-2, sombreados en la figura) y el último fué variable y claramente interpretable (Mdh-3).

Mdh-3 presentó dos alelos (1 y 3 en la figura) con tres genotipos. Los homocigos  $A_1A_1$  y  $A_3A_3$  presentaron una única banda (observable en 1 y 3 respectivamente) y el genotipo heterocigo presentó un patrón de tres bandas perfectamente identificables. La presencia de 3 bandas en el individuo heterocigo se debe a que la molécula activa de MDH es un dímero con subunidades idénticas (Richardson et al, 1986), y, al estar presentes ambos alelos, las cadenas polipeptídicas se combinan entre sí formando una tercera banda con migración intermedia.

En P. vulgaris se observó la existencia de un tercer alelo (alelo 2 con migración intermedia, no mostrado en la figura) y la ausencia del alelo 3 observado en Phaseolus coccineus.

Tabla IV.I Sistemas enzimáticos ensayados en *P. coccineus* y *P. vulgaris*. Se presentan el número de loci que mostraron actividad para cada enzima, así como el número de loci polimórficos. Todos los ensayos se llevaron a cabo en el foliolo central.

Enzimas	Estructura cuaternaria	<u><i>P. coccineus</i></u>		<u><i>P. vulgaris</i></u>	
		#loci	#loci polimorficos	#loci	#loci polimorficos
MDH	Dímero	3	2	3	2
SDH	Monómero	2	1	2	0
PGM	Monómero	3	3	3	0
AcPh	Dímero	2	1	2	0
RUB	Tetrámero	1	1	1	0
6-PGD	Dímero	2	1	2	0
IDH	Dímero	1	0	1	0
ACO	Monómero	3	1o2	3	1
AK	Monómero	2	1	2	0
ADH	Dímero	1	0	1	0
G-6PD	Dímero	1	1	1	0
cPX	-	3	0	3	1
GDH	-	2	1	2	0
ME	Tetrámero	1	1	1	1
LAP	Monómero	1	1	-	-
PGI	Dímero	3	1	3	0
GOT	Dímero	1	1	-	-
SOD	Dímero	2	0	-	-

MDH: Malato deshidrogenasa; SDH: Shikimato deshidrogenasa; PGM: Fosfoglucomutasa; AcPh: Fosfatasa ácida; RUB: Ribulosa-5'-difosfato carboxilasa; 6-PGD: 6-Fosfogluconato deshidrogenasa; IDH: Isocitrato deshidrogenasa; ACO: Aconitasa; AK: Adenilato kinasa; ADH: Alcohol deshidrogenasa; G-6PD: Glucosa 6-fosfato deshidrogenasa; cPX: Peroxidasa catódica; GDH: Glutamato deshidrogenasa; ME: Enzima málica; LAP: Leucil amino peptidasa; PGI: Fosfoglucoisomerasa; GOT: Glutamato oxalacetato transaminasa; SOD: Superóxido dismutasa.



### 1.2) Shikimato deshidrogenasa (SDH)

La figura IV.1a (b) muestra el zimograma observado en esta enzima. Sdh-1 fué monomórfica, mientras que Sdh-2 fué polimórfica, mostrando hasta cuatro alelos distintos. Por ser una enzima monomérica, los heterócigos presentaron un patrón de dos bandas.

### 1.3) Fosfoglucomutasa (PGM)

En esta enzima se observaron tres loci variables, sin embargo la región de Pgm-2 no presentó interpretación consistente (Figura IV.1a (c)). Pgm-1 fué polimórfica exclusivamente en las poblaciones de Chiapas, presentando dos alelos mientras que Pgm-3 fué polimórfica en todas las poblaciones, observándose la presencia de tres alelos en este locus.

### 1.4) Fosfatasa ácida (ACPH)

En esta enzima se observó una zona de actividad definida (Figura IV.1a (d)) y otra zona (no mostrada) con mayor migración anodal, que probablemente corresponde a loci que se expresan en otro tipo de tejido (Bassiri y Adams, 1978). La fosfatasa ácida es una enzima dimérica, por lo que se espera encontrar heterócigos con un patrón de tres bandas. En general, la definición de tres bandas no fué muy buena, mostrándose en cambio zonas de actividad de grosor variable que correspondían a los diferentes tipos de heterócigos. Cuatro alelos diferentes se encontraron en esta enzima.

### 1.5) Ribulosa 5'-difosfato carboxilasa (RUBISCO)

Un solo locus con tres alelos se observó para esta enzima tetramérica. La definición de cinco bandas no fué observada en los heterócigos, presentándose al igual que en ACPH, zonas de actividad que correspondieron a los heterócigos (Figura IV.1a (f)).

### 1.6) 6-Fosfogluconato deshidrogenasa (6-PGD)

La figura IV.1a (e) muestra un locus monomórfico (6Pgd-1) con la misma migración anodal que el alelo 3 de un locus polimórfico (6Pgd-2). Sin embargo, esta sobreposición de loci no causó problemas en la determinación de individuos heterócigos que tuvieran el alelo 3, ya que siendo 6-PGD una enzima dimérica, los individuos heterócigos presentaron tres bandas o zonas de actividad equivalentes. Un total de cuatro alelos fueron observados en esta enzima.

Las fotografías de todas las enzimas descritas pueden observarse en la figura IV.1b.

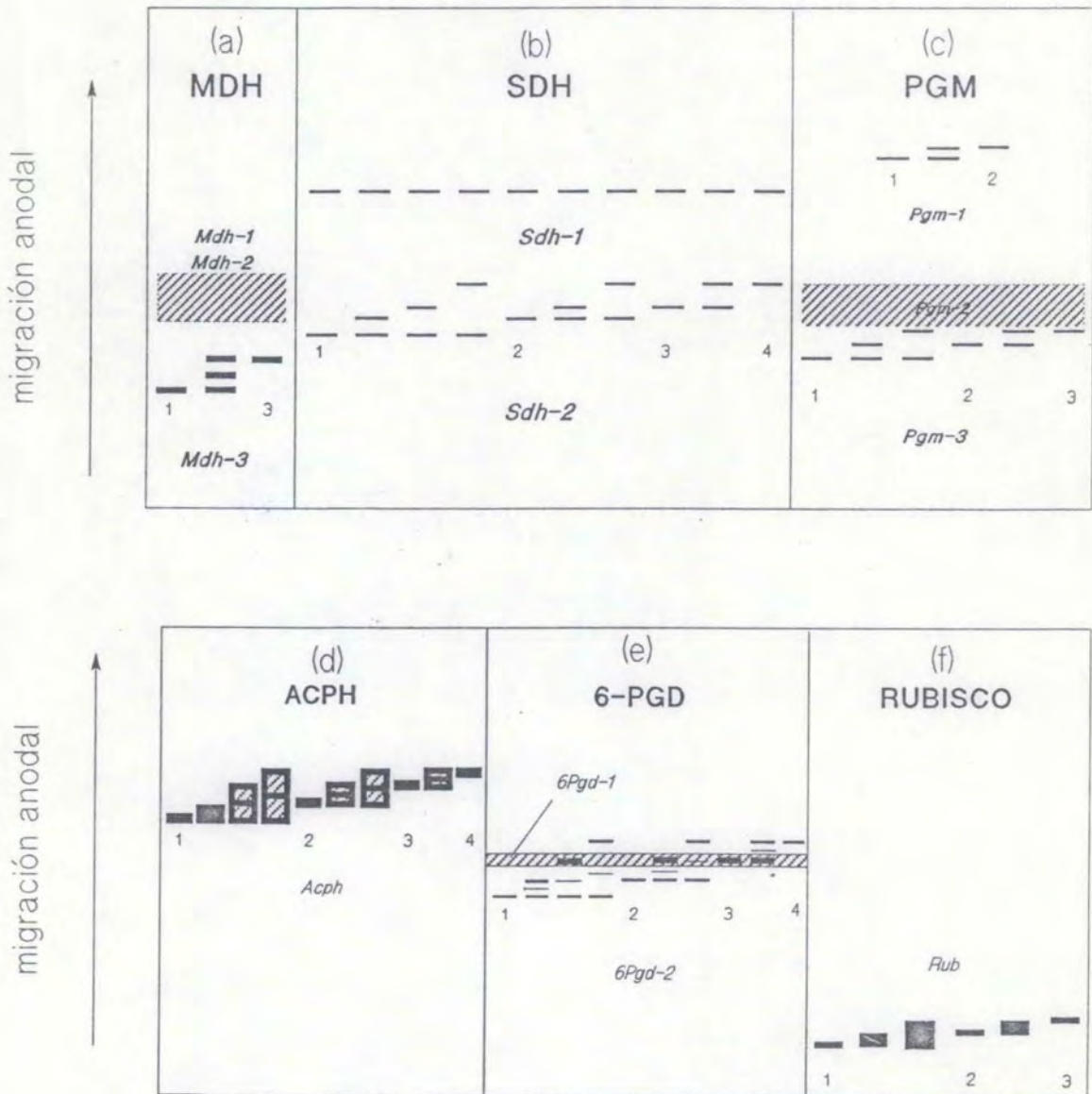
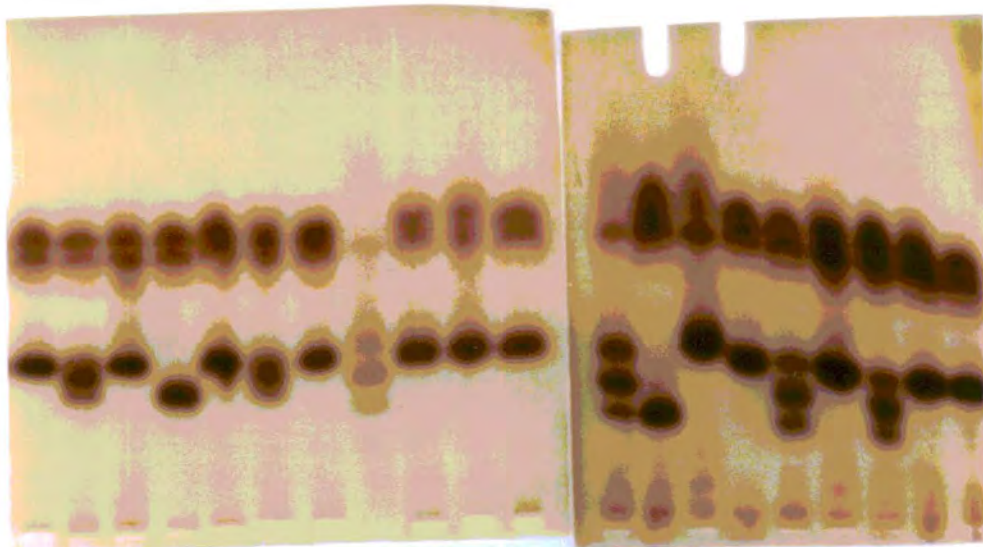


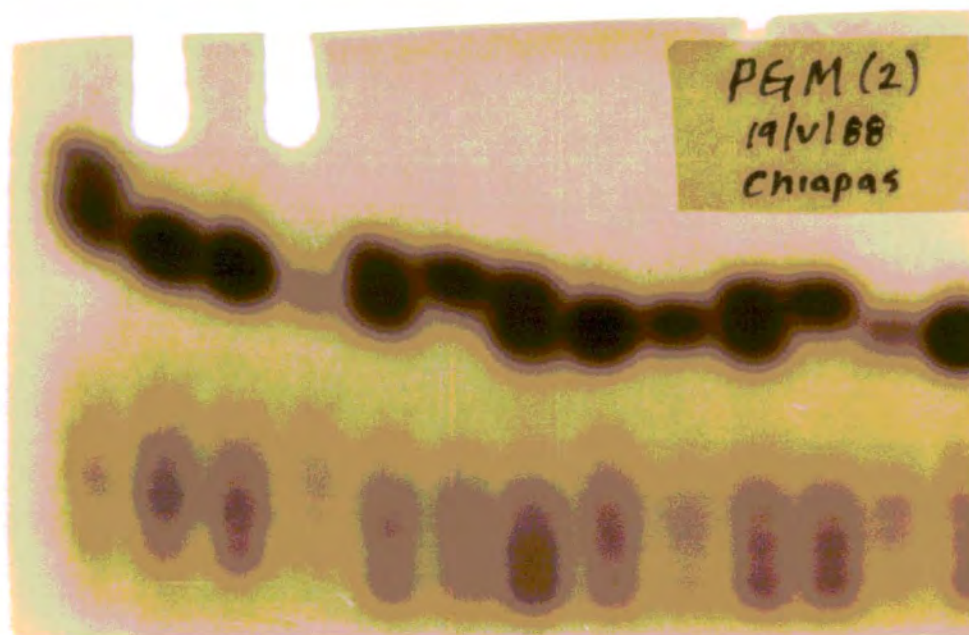
Figura IV.1 Zimogramas que ilustran la movilidad anodal de las isozimas en los sistemas estudiados de *P. coccineus*. Las zonas sombreadas representan sitios donde se observó variación genética no interpretable.



BIBLIOTECA  
INSTITUTO DE ECOLOGIA  
UNAM

a) Malato deshidrogenasa

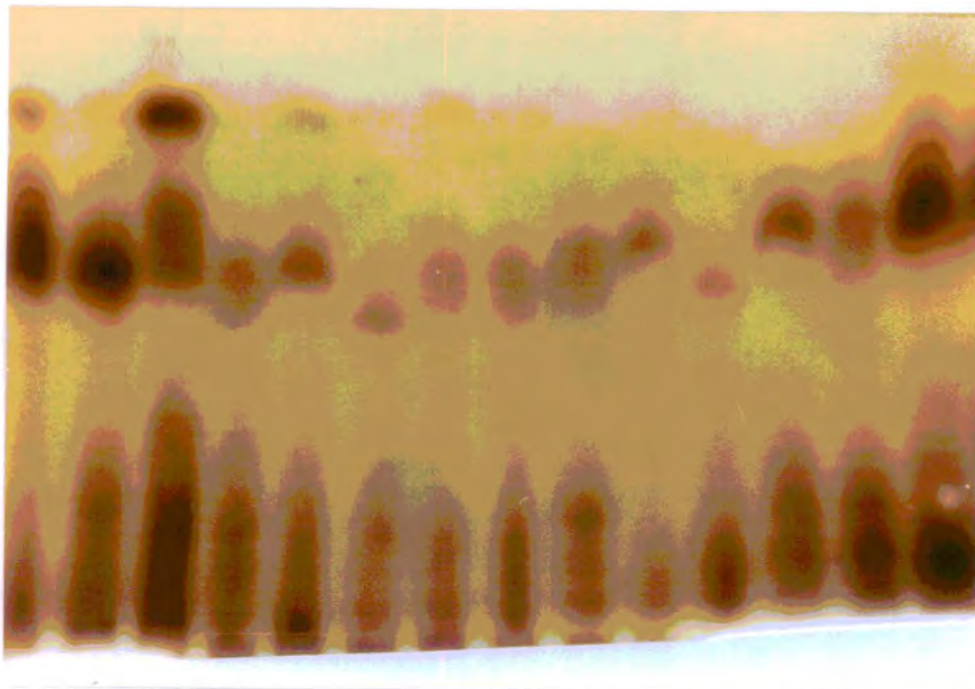
b) Shikimato deshidrogenasa



c) Fosfoglucomutasa (locus 1)

d) Fosfoglucomutasa (locus 3)

e) 6-Fosfogluconato deshidrogenasa



f) Fosfatasa ácida

Figura IV.1b Fotografías de los sistemas enzimáticos analizados en Phaseolus coccineus y Phaseolus vulgaris en 1987, donde se muestra la variación en cada uno de los loci. a) MDH, b) SDH, c-d) PGM, e) 6-PGD, f) AcPh.

## 2.- DISTRIBUCION DE LA VARIACION GENETICA

### 2.1) Frecuencias alélicas y medidas de diversidad genética

Para cada uno de los loci polimórficos, se calcularon frecuencias alélicas, heterocigosis observada ( $h_o$ ) y heterocigosis esperada ( $h$ ). Los datos para todas las poblaciones estudiadas de Phaseolus coccineus y para una población de Phaseolus vulgaris se muestran en la tabla IV.II.

Phaseolus coccineus presentó el alelo 1 de Mdh-3 exclusivamente en las poblaciones del centro de México, mientras que en las poblaciones de Chiapas estuvo ausente. Sin embargo, la mayor frecuencia de este alelo se presenta en las poblaciones silvestres de Huitzilac, ya que en Tlalpan y en el cultivar de Huitzilac su frecuencia fué menor a 0.01. Así, el alelo 1 de Mdh-3 parece ser característico de la región del centro de México, principalmente del Valle de Morelos. (Datos no presentados en el trabajo apoyan esta hipótesis, debido a la presencia del alelo 1 de Mdh-3 en otras poblaciones silvestres del Valle de Morelos).

De igual forma el alelo 1 de 6Pgd-2 resultó estar presente exclusivamente en las poblaciones del Valle de Morelos, mientras que el alelo 3 de RUBISCO se extendió sobre un área mayor, presentándose en todas las poblaciones del centro de México. Ambos alelos estuvieron ausentes en Chiapas.

En las poblaciones de Chiapas se encontraron alelos únicos, característicos de la zona del sureste; éstos fueron el alelo 1 de Pgm-1 y el alelo 4 de ACPH.

El único locus polimórfico ensayado en P. vulgaris, también presentó un alelo característico de la especie, ausente en todas las poblaciones estudiadas de P. coccineus: este fué el alelo 2 de Mdh-3. Warwick y Gottlieb (1985) han reportado la presencia de alelos característicos para distintas especies del género Layia.

La presencia de alelos característicos de dos grandes regiones aisladas geográficamente, sugiere una diferenciación genética causada por deriva génica y/o selección natural en P. coccineus. Van Dijk y Van Delden (1981) encontraron también la presencia de alelos diagnósticos en 2 subespecies de Plantago major, y sugieren dos hipótesis para explicar este hecho: por un lado la presencia de algún tipo de aislamiento, ya sea geográfico o genético; y por otro lado, el posible ligamiento de estos loci enzimáticos con otros loci relacionados con la adecuación a ambientes específicos.

En general, en todas las poblaciones la heterocigosis observada ( $h_o$ ) fué menor que la heterocigosis esperada ( $h$ ), lo que resulta en índices de fijación positivos en los loci de todas las poblaciones, como se verá más adelante. Por otro lado,  $h$  tuvo el mayor rango de variación (0.00-0.72) en la población silvestre de Huitzilac H2(S), y la población con menor variación (0.00-0.44) entre loci fué la población cultivada de Chiapas CH2(C).

IV.II Frecuencias alélicas y heterocigosis observada (ho) y esperada para siete loci polimórficos en las semillas colectadas de poblaciones de Phaseolus coccineus y Phaseolus vulgaris en 1987. (n) corresponde al número total de semillas analizadas por población. La nomenclatura de las locaciones corresponde a la expuesta en material y método.

		P O B L A C I O N						
		<u>P h a s e o l u s c o c c i n e u s</u>					<u>P.vulgaris</u>	
		T(S)	H1(S)	H2(S)	H(C)	CH1(C)	CH2(C)	Hv(C)
US	ALELO (n)	160	51	29	93	53	51	105
h-3	1	0.003	0.059	0.121	0.005	0.000	0.000	0.171
	2	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.829
	3	0.997	0.941	0.879	0.995	1.000	1.000	0.000
	ho	0.006	0.078	0.103	0.011	0.000	0.000	0.114
	h	0.006	0.112	0.216	0.010	0.000	0.000	0.285
h-2	1	0.056	0.059	0.103	0.070	0.000	0.010	0.000
	2	0.539	0.255	0.345	0.785	0.981	0.912	0.000
	3	0.336	0.461	0.362	0.145	0.019	0.029	1.000
	4	0.069	0.225	0.190	0.000	0.000	0.049	0.000
	ho	0.460	0.529	0.552	0.301	0.038	0.157	0.000
	h	0.594	0.675	0.716	0.360	0.037	0.167	0.000
m-1	1	0.000	0.000	0.000	0.000	0.774	0.892	0.000
	2	1.000	1.000	1.000	1.000	0.226	0.108	1.000
	ho	0.000	0.000	0.000	0.000	0.226	0.137	0.000
	h	0.000	0.000	0.000	0.000	0.354	0.194	0.000
m-3	1	0.069	0.059	0.000	0.027	0.519	0.029	0.000
	2	0.760	0.706	0.534	0.667	0.264	0.863	1.000
	3	0.171	0.235	0.466	0.306	0.217	0.108	0.000
	ho	0.270	0.274	0.448	0.409	0.396	0.274	0.000
	h	0.405	0.447	0.506	0.463	0.620	0.246	0.000
ph	1	0.132	0.098	0.086	0.108	0.019	0.059	1.000
	2	0.868	0.863	0.879	0.892	0.689	0.716	0.000
	3	0.000	0.039	0.035	0.000	0.245	0.206	0.000
	4	0.000	0.000	0.000	0.000	0.047	0.019	0.000
	ho	0.145	0.235	0.172	0.172	0.245	0.216	0.000
	h	0.224	0.247	0.222	0.193	0.467	0.446	0.000
b	1	0.141	0.196	0.466	0.016	0.858	0.931	1.000
	2	0.750	0.578	0.310	0.860	0.142	0.069	0.000
	3	0.109	0.226	0.224	0.124	0.000	0.000	0.000
	ho	0.263	0.353	0.483	0.215	0.170	0.098	0.000
	h	0.395	0.582	0.648	0.246	0.245	0.129	0.000
Pgd-2	1	0.000	0.039	0.017	0.011	0.000	0.000	0.000
	2	0.079	0.098	0.310	0.344	0.462	0.166	0.000
	3	0.898	0.853	0.638	0.645	0.538	0.814	0.000
	4	0.023	0.010	0.035	0.000	0.000	0.020	1.000
	ho	0.164	0.235	0.483	0.366	0.321	0.176	0.000
	h	0.184	0.264	0.504	0.468	0.502	0.313	0.000

Puede notarse (Fig. IV.2) que en las poblaciones silvestres (a, b y c) el rango de variación en la heterocigosis por locus es mayor que en las poblaciones cultivadas (d, e y f), probablemente debido al impacto de la domesticación en la variación genética (Brown y Moran, 1981). Tan solo el 19% de las enzimas de todas las poblaciones presentan un nivel de variación semejante a la diversidad genética multilocus, señalada por una flecha. Esta contribución desigual a la diversidad genética promedio, sugiere que debe utilizarse un mayor número de loci para tener una estimación más real de este parámetro (Yeh, 1981; Layton y Ganders, 1984). Asimismo, puede notarse una diferencia en cuanto a las enzimas que contribuyen más a la diversidad genética entre las poblaciones del centro de México (Rub, Sdh-2, Pgm-2) y las poblaciones cultivadas de Chiapas (Acph, 6Pgd-2, Pgm-2). Posiblemente la domesticación ha tenido efectos sobre la diversidad genética de las distintas enzimas.

Las medidas de variación genética que se utilizaron fueron: diversidad genética multilocus de Nei (H); número promedio de alelos (n) y número efectivo de alelos (ne). En la tabla IV.III se muestran estos valores considerando exclusivamente los loci polimórficos, mientras que en la tabla IV.IV se presentan los mismos valores para todos los loci ensayados (tanto polimórficos como monomórficos).

En Phaseolus coccineus, la diversidad genética para loci polimórficos, o porcentaje de loci heterocigos en un individuo (tabla IV.III), está muy cerca del valor promedio para loci polimórficos reportado en especies con apareamiento mixto y polinizadas por animales (0.29; Hamrick, 1983); y en especies herbáceas con tasa de entrecruzamiento alta (0.32; Brown y Moran, 1981). Wall y Wall (1975; en Hamrick, 1983) observaron la variación genética de un locus en 15 poblaciones de Phaseolus coccineus, obteniendo una diversidad genética de 0.319 y un número promedio de alelos de 3.0; los cuales son semejantes a los valores promedio para las 6 poblaciones estudiadas en este trabajo, que fueron de 0.364 y 2.91 respectivamente en una muestra de entre 5 y 6 loci polimórficos por población. Los datos de diversidad genética presentados en este trabajo son más representativos de la especie que aquellos reportados por Wall y Wall debido al mayor número de loci estudiados.

En las poblaciones silvestres de Phaseolus coccineus la diversidad genética fué significativamente mayor que en las poblaciones cultivadas (Tabla IV.III); sin embargo, cuando se compararon los valores para todos los loci, incluyendo loci monomórficos (tabla IV.IV), estos valores no difirieron significativamente entre sí. Esta diferencia puede deberse a un submuestreo de loci polimórficos, ya que esperaríamos que la diversidad genética fuese mayor en las poblaciones silvestres, de acuerdo con lo que predice la teoría (Brown y Moran, 1981).



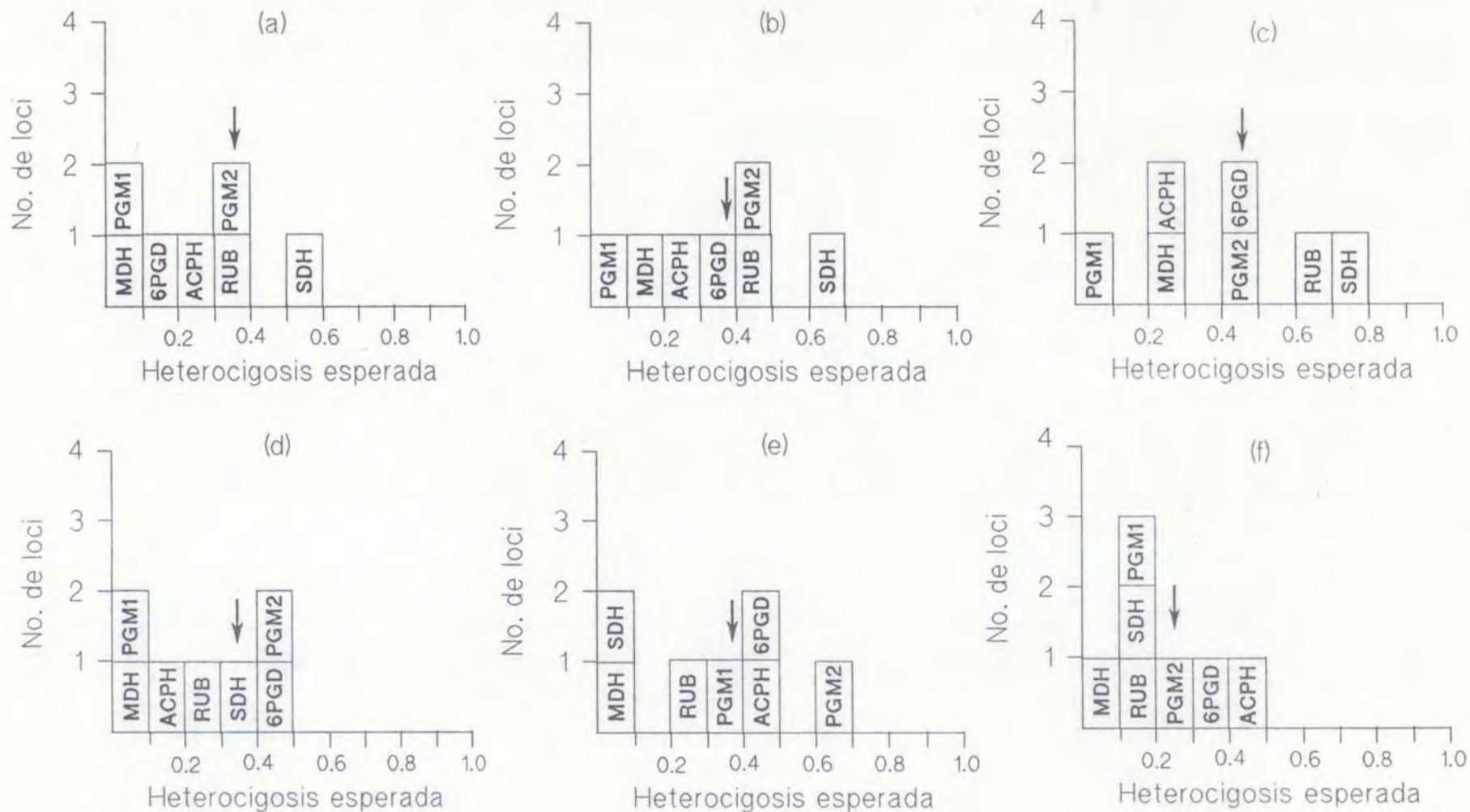


Fig.IV.2 Distribucion de las heterocigosis esperadas por locus para cada poblacion. La heterocigosis esperada o diversidad genetica total de la poblacion (H) se muestra con una flecha. a=T(S), b=H1(S), c=H2(S), d=H(C) e=CH1(C), f=CH2(C). La nomenclatura de las poblaciones corresponde a la descrita en materiales y métodos.

Tabla IV.III Diversidad genética multilocus ( $\bar{H}$ ), número promedio de alelos ( $n$ ) y número efectivo de alelos ( $ne$ ) para loci polimórficos en todas las poblaciones de Phaseolus coccineus y Phaseolus vulgaris colectadas en 1987. La desviación estándar se muestra entre paréntesis. La nomenclatura de las poblaciones corresponde a la expuesta en materiales y métodos. Los promedios de silvestres y cultivadas en P.coccineus difirieron significativamente entre sí ( $t=1.93$   $P<0.05$ ).

POBLACION	# loci	$\bar{H}$	$n$	$ne$
<u>P. coccineus</u>				
T(S)	5	0.361 (0.073)	3.00	1.66
H1(S)	6	0.388 (0.088)	3.17	1.83
H2(S)	6	0.469 (0.086)	3.00	2.11
H(C)	5	0.346 (0.056)	2.80	1.57
CH1(C)	6	0.371 (0.085)	2.50	1.72
CH2(C)	6	0.249 (0.047)	3.00	1.36
Prom.silvestres		0.406 (0.078)	3.06	1.87
Prom.cultivadas		0.322 (0.073)	2.77	1.55
<u>P. vulgaris</u>				
Hv(C)	1	0.285 (0.034)	2.00	1.40

Los valores de diversidad genética para todos los loci en Phaseolus coccineus (Tabla IV.IV) se asemejan también a los promedios reportados por Hamrick et al (1981) para especies con apareamiento mixto ( $H=0.181$ ). El valor obtenido para P. vulgaris también es semejante al reportado por los mismos autores para plantas que predominantemente se autofecundan ( $H=0.058$ ). En cuanto a la diversidad genética entre Phaseolus coccineus y Phaseolus vulgaris, la tabla IV.IV muestra valores mayores en Phaseolus coccineus. Estos resultados se ajustan a las predicciones de que dentro de poblaciones de plantas que se entrecruzan la diversidad genética será mayor que dentro de poblaciones de plantas que se autofecundan (Nevo, 1978; Brown,

1979; Shea, 1987), así como con los datos observados en especies del mismo género con sistemas reproductivos distintos: Phlox (Levin, 1978); Oenothera (Ellstrand y Levin, 1980); Gilia (Schoen, 1982) y Plectritis (Layton y Ganders, 1984).

Tabla IV.IV Diversidad genética multilocus ( $H$ ) para 12 loci enzimáticos (incluyendo monomórficos y polimórficos) en las poblaciones de P. coccineus y P. vulgaris colectadas en 1987. Se presenta también el número promedio y el número efectivo de alelos. La desviación estándar se muestra entre paréntesis. La nomenclatura de las poblaciones corresponde a la expuesta en materiales y métodos. Los promedios de silvestres y cultivadas en P. coccineus no difirieron significativamente entre sí ( $t=1.36$   $P<0.1$ ).

POBLACION	$\bar{H}$	n	ne
<u>P. coccineus</u>			
T(S)	0.150 (0.060)	1.83	1.27
H1(S)	0.194 (0.072)	2.08	1.41
H2(S)	0.235 (0.105)	2.00	1.55
H(C)	0.144 (0.056)	1.75	1.24
CH1(C)	0.185 (0.069)	1.75	1.36
CH2(C)	0.147 (0.044)	2.00	1.18
Prom.silvestres	0.193 (0.070)	1.97	1.41
Prom.cultivadas	0.159 (0.051)	1.83	1.26
<u>P. vulgaris</u>			
Hv(C)	0.024 (0.024)	1.08	1.03

### 3. ANALISIS DEL SISTEMA REPRODUCTIVO

#### 3.1) Datos preliminares sobre el sistema reproductivo

Una primera aproximación al sistema reproductivo de Phaseolus coccineus se obtuvo a partir de los resultados de las polinizaciones controladas y el movimiento de polvos fluorescentes. Los porcentajes de autocompatibilidad y autofecundación obtenidos de las polinizaciones controladas, se muestran en la Tabla IV.V. Además de estos resultados, se incluyen los obtenidos por Búrquez y Sarukhán (1984) en un cultivar de la misma localidad.

No hubo diferencias significativas entre las estimaciones de porcentaje de autofecundación manual y autofecundación espontánea en Phaseolus coccineus entre años. Sin embargo, el porcentaje de autofecundación espontánea en Phaseolus vulgaris fue significativamente mayor ( $P < 0.005$ ) que en Phaseolus coccineus.

Tabla IV.V Porcentajes de autofecundación manual y autofecundación espontánea (calculados como éxito en la producción de frutos), obtenidos a partir de las cruces controladas, en la población cultivada de Huitzilac H(C). Se muestran también los datos obtenidos por Búrquez y Sarukhán (1984) para la misma localidad. Las estimaciones con el mismo número no mostraron diferencias significativas entre sí usando una prueba de G (Sokal y Rohlf, 1981). (n) corresponde al número de flores que fueron sometidas a cada tipo de tratamiento.

ESPECIE	AÑO	% AUTOFECUNDACION MANUAL	% AUTOFECUNDACION ESPONTANEA
<u>P.coccineus</u> <sup>a</sup>	1978	50.0 <sup>1</sup> (n=110)	1.6 <sup>2</sup> (n=126)
<u>P.coccineus</u> <sup>b</sup>	1987	45.0 <sup>1</sup> (n=62)	4.3 <sup>2</sup> (n=324)
<u>P.vulgaris</u> <sup>b</sup>	1987	----	63.0 <sup>3</sup> (n=143)

<sup>a</sup> Búrquez y Sarukhán (1984)

<sup>b</sup> Este trabajo.

El alto porcentaje de éxitos en la producción de frutos en autofecundaciones manuales obtenido en *P. coccineus*, sugiere la ausencia de barreras de autoincompatibilidad en esta especie, mientras que el bajo porcentaje de autofecundación espontánea podría indicarnos que en esta especie es necesaria la visita del polinizador para que se lleve a cabo la producción de frutos. La tasa de autofecundación espontánea encontrada en *Phaseolus coccineus* en 1987 fué muy baja, por lo que, si este parámetro fuera el único determinante del sistema reproductivo, se esperaría que la tasa de entrecruzamiento fuera de 0.957 para esta población. A su vez, la tasa de entrecruzamiento de *Phaseolus vulgaris* se esperaría que fuera de 0.37. Sin embargo, algunas evidencias sugieren que hay otros factores que están actuando como determinantes del sistema reproductivo en esta especie. Por ejemplo, dada la arquitectura de las plantas de *Phaseolus coccineus* (con gran número de flores y extendidas en áreas relativamente grandes) existe la posibilidad de que se presenten eventos de autofecundación por el movimiento de polen entre las flores de una misma planta. Este fenómeno ha sido estudiado por Hessing (1988), quien además encontró que el número de autofecundaciones producidas por polinizaciones geitonógamas es proporcional al número de flores abiertas en la planta en el momento de la polinización. Esta hipótesis pudo ser contrastada mediante el uso de polvos fluorescentes, los cuales mostraron que los polinizadores mueven los polvos fluorescentes en un elevado porcentaje (30%  $\pm$  20%) de las flores de una misma planta (Tabla IV.VI).

Tabla IV.VI Movimiento de polvos fluorescentes entre las flores de una misma planta de *Phaseolus coccineus*. Las plantas que se utilizaron en cada fecha no fueron necesariamente las mismas.  $n_T$  corresponde al número total de flores abiertas en la planta en ese día y  $n_p$  corresponde al número de flores abiertas en las que se detectó la presencia de polvos fluorescentes.

Fecha	Planta 1		Planta 2		Planta 3	
	$n_T$	$n_p$	$n_T$	$n_p$	$n_T$	$n_p$
22/X/87	29	7	23	6	22	3
27/X/87	27	6	32	10	21	13
5/XI/87	23	5	28	9	25	1
8/XI/87	27	21	24	8	22	4

Aunque es conocido el hecho de que el movimiento de polvos no es totalmente equivalente al movimiento de polen y que la presencia de polen en un estigma no asegura una fecundación exitosa (Price y Waser, 1979; Schaal, 1980; Handel, 1983; Hamrick, 1987); este método nos proporciona una idea aproximada de los patrones de movimiento del polen en una planta (Feisinger, manus.). Tomando en cuenta que Phaseolus coccineus es autocompatible, existe una alta probabilidad de que se produzcan autofecundaciones por este movimiento de polen entre las flores de una misma planta.

Otro elemento que podría estar afectando el sistema reproductivo es el hecho de que el porcentaje de autofecundación espontánea en Phaseolus coccineus no se distribuyó de manera uniforme en todas las plantas analizadas: de trece plantas muestreadas, sólo cuatro contribuyeron con eventos de autofecundación (6%, 7%, 19% y 23%, respectivamente), mientras que en todas las demás el porcentaje fue de cero. Esto nos habla de una variación entre plantas en cuanto a su capacidad de autofecundarse. Una posible explicación a esta variación sería la existencia de diferencias genéticas entre las plantas, que afecten su capacidad de autofecundarse (Ennos, 1981; Hamrick, 1982).

De lo anterior se desprende que existen otros determinantes del sistema reproductivo en Phaseolus coccineus y que, la estimación de la tasa de entrecruzamiento a partir de datos de porcentaje de autofecundación espontánea, puede llevarnos a una subestimación de este parámetro.

### 3.2) Índice de fijación y tasa de entrecruzamiento.

#### a) Índices de fijación de Wright.

Todos los valores significativos del índice de fijación, tanto para un locus como para varios loci, fueron positivos (Tabla IV.VII), lo cual indica un exceso de homocigotos y una deficiencia de heterocigotos con respecto a los esperados. Por otro lado, las estimaciones del índice de fijación mostraron cierta variación entre loci para una misma población, resultado frecuentemente reportado en la literatura (Schaal, 1975; Schaal y Levin, 1976; Shea, 1987). Una explicación para esta variación podría ser que las poblaciones se encuentren estructuradas espacialmente, lo que traería como consecuencia cierta en la poza de polen, que afectaría diferencialmente las estimaciones del índice de fijación de locus sencillo. Esta hipótesis, que podría afectar también las estimaciones de la tasa de entrecruzamiento, será discutida más adelante.

a IV.VI. Índice de fijación de Wright (F) por locus para las semillas colectadas en poblaciones de *P.coccineus* y *P.vulgaris* en 1987. n corresponde al número de semillas ensayadas para cada población y Fm al índice de fijación multilocus. La desviación estándar se muestra entre paréntesis. La nomenclatura de las locaciones corresponde a la expuesta en material y método.

LOCUS	P O B L A C I O N						
	<i>P h a s e o l u s c o c c i n e u s</i>						<i>P.vulgaris</i>
	T (S)	H1 (S)	H2 (S)	H (C)	CH1(C)	CH2(C)	Hv(C)
n	160	51	29	93	53	51	105
Idh-3	----	0.292 <sup>1</sup> (0.294)	0.513 <sup>2</sup> (0.311)	----	----	----	0.598 <sup>2</sup> (0.135)
3dh-2	0.234 <sup>2</sup> (0.077)	0.277 <sup>1</sup> (0.155)	0.084 (0.188)	0.108 (0.113)	-0.019 (0.023)	0.147 (0.204)	----
Pgm-1	----	----	----	----	0.354 <sup>2</sup> (0.161)	0.287 <sup>1</sup> (0.221)	----
Pgm-3	0.267 <sup>2</sup> (0.088)	0.339 <sup>1</sup> (0.148)	0.099 (0.185)	0.081 (0.105)	0.515 <sup>2</sup> (0.149)	-0.160 (0.064)	----
Acph	0.357 <sup>2</sup> (0.120)	0.007 (0.142)	0.188 (0.255)	0.104 (0.132)	0.516 <sup>2</sup> (0.136)	0.566 <sup>2</sup> (0.143)	----
Rub	0.299 <sup>2</sup> (0.090)	0.316 <sup>1</sup> (0.135)	0.194 (0.193)	0.106 (0.124)	0.301 <sup>1</sup> (0.194)	0.233 (0.256)	----
5-Pgd-2	0.097 (0.101)	0.140 (0.171)	0.030 (0.186)	0.248 <sup>1</sup> (0.105)	0.355 <sup>2</sup> (0.129)	0.418 <sup>2</sup> (0.104)	----
Fm	0.258 <sup>2</sup> (0.043)	0.249 <sup>1</sup> (0.053)	0.147 (0.072)	0.138 (0.030)	0.408 <sup>2</sup> (0.086)	0.300 <sup>1</sup> (0.104)	----

Valores significativamente distintos de cero con <sup>1</sup> P<0.05, <sup>2</sup> P<0.01 (X<sup>2</sup>= F<sup>2</sup>n).

En cuanto a las estimaciones del índice de fijación multilocus, éstas fueron positivas en todas las poblaciones y significativamente distintas de cero en cuatro de ellas. En las dos poblaciones en que no fueron significativamente distintas de cero ( H(C) y H2(S) ), el pequeño tamaño de la muestra podría ser el responsable de la no significancia, ya que como lo ha hecho notar Schaal (1975), con valores pequeños de F se requieren tamaños de muestra muy grandes (frecuentemente más grandes de lo que es realista obtener), para que sean significativamente distintos de cero.

Dado que solamente el sistema de apareamiento o la deriva génica pueden producir patrones de índices de fijación positivos simultáneamente en todos los loci del genoma (Hedrick, 1983; Layton y Ganders, 1984), los valores encontrados indicarían la existencia de endogamia en las poblaciones estudiadas.

Para Phaseolus vulgaris sólo se obtuvo el índice de fijación en Mdh-3, el cual fue muy grande y significativamente distinto de cero. Este resultado no es sorprendente, tratándose de una especie que primordialmente se autofecunda (Miranda Colín, 1979; Delgado, 1988).

#### b) Tasa de entrecruzamiento.

A partir del índice de fijación multilocus se puede obtener una estimación de la tasa de entrecruzamiento, suponiendo que las poblaciones se encuentran en equilibrio de endogamia (Nei y Siakudo, 1958; en El-Kassaby et al, 1987). Esta tasa de entrecruzamiento de equilibrio (te) para todas las poblaciones, se muestra en la Tabla IV.VIII. Este método para obtener la tasa de entrecruzamiento supone que el sistema reproductivo es el único determinante de la estructura genética, por lo que cuando otra fuerza está actuando, puede no ser una estimación muy precisa de la tasa de entrecruzamiento (Layton y Ganders, 1984). Sin embargo, la tasa de equilibrio es una alternativa para la estimación del nivel de entrecruzamiento cuando no se cuenta con colectas de semillas por familia que permitan una mejor estimación.

La tasa de equilibrio para Phaseolus vulgaris fue menor que la de Phaseolus coccineus, lo cual está de acuerdo con lo que se esperaría de una especie predominantemente autógena, como Phaseolus vulgaris (Miranda-Colín, 1979).

Las estimaciones de la tasa de entrecruzamiento multilocus variaron de 0.44 a 0.76 entre las poblaciones de Phaseolus coccineus y para P.vulgaris fué de 0.25 (Tabla IV.VIII). Mediante una prueba de G se compararon las distintas poblaciones de Phaseolus coccineus y se encontró que sólo CH2(C) presentó diferencias significativas con todas las demás poblaciones, excepto con H2(S), con la que no mostró diferencias. La variación en la tasa de entrecruzamiento entre poblaciones de



Tabla IV.VIII Tasa de entrecruzamiento multilocus. tasa promedio por locus de varianza mínima\* y tasa de equilibrio de endogamia para las poblaciones de *P. coccineus* y *P. vulgaris* colectadas en 1987. f corresponde al número de familias utilizadas para la estimación de la tasa de entrecruzamiento en cada población y n al número promedio de individuos analizados por familia. Los valores con el mismo número no difieren significativamente entre sí usando una prueba de G (Sokal y Rohlf, 1981). La desviación estándar se muestra entre paréntesis. La nomenclatura de las poblaciones corresponde a la expuesta en materiales y métodos.

POBLACION	#loci	f(n)	TASA MULTILOCUS (tm)	TASA PROMEDIO (ts)	TASA EQUILIBRIO (te)
<i>P. coccineus</i>					
T (S)	5	18(8.83)	0.662 <sup>1</sup> (0.068)	0.626	0.590
H1 (S)	6	8(5.75)	0.760 <sup>1</sup> (0.135)	0.593	0.601
H2 (S)	6	6(4.83)	0.594 <sup>1,2</sup> (0.194)	n.d.	0.744
H (C)	5	11(8.45)	0.698 <sup>1</sup> (0.096)	0.647	0.757
CH1 (C)	6	7(7.57)	0.739 <sup>1</sup> (0.135)	0.686	0.420
CH2 (C)	6	11(4.54)	0.440 <sup>2</sup> (0.083)	0.280	0.538
<i>P. vulgaris</i>					
Hv(C)	1	11(9.54)	0.247 <sup>3</sup> ( n.d.)	0.247	0.251

n.d.: no determinado

$$* ts = \bar{t} = \left( \sum_{i=1}^n \frac{1}{v_t} \right)^{-1} \left( \sum_{i=1}^n \frac{\hat{t}_i}{v_{ti}} \right) \quad (\text{El-Kassaby et al, 1987})$$

una misma especie ha sido reportada en numerosos casos. Mitton et al (1981b) presentan una revisión y reportan seis trabajos en los que se han encontrado amplios rangos de variación, siendo uno de los más sorprendentes el de Vasek y Harding (1976), quienes encontraron un rango de variación en la tasa de entrecruzamiento de Clarkia tembloriensis de 0.08 a 0.83. También Ennos y Clegg (1982; Ipomoea); Schoen (1982; Gilia) y Ellstrand y Foster (1983; Shorgum) reportan importantes diferencias en la tasa de entrecruzamiento entre poblaciones. Varios autores han discutido las posibles causas de esta variación, y la propuesta más generalmente aceptada ha sido que la tasa de entrecruzamiento no es una característica fija de las especies totalmente controlada por factores genéticos, sino que puede sufrir importantes fluctuaciones por influencia de factores ambientales (Allard y Workman, 1963; Clegg, 1980; Mitton et al, 1981b; Shaw y Allard, 1981; Hamrick, 1982; Layton y Ganders, 1984; Shea, 1987; Hessing, 1988).

La tasa de entrecruzamiento promedio para P. coccineus fué de 0.65. Este valor se encuentra dentro del rango de las estimaciones realizadas en la misma especie por Búrquez (1979: 0.45-0.90) y Miranda-Colín (1979: 0.73). Sin embargo, el método utilizado en este trabajo permite una mayor precisión en la estimación.

En cuanto a la estimación preliminar de la tasa de entrecruzamiento en el cultivar de Huitzilac, basada en datos de autofecundación espontánea, resultó tener un sesgo hacia arriba con respecto a la estimación realizada con isozimas, que es un método más confiable y robusto.

Como era de esperarse, la tasa de entrecruzamiento de Phaseolus vulgaris fue significativamente menor que la de Phaseolus coccineus ( $G=5.3$   $P<0.05$ ), ya que se conoce que el sistema reproductivo de ambas especies es distinto (Miranda-Colín, 1979).

La tasa multilocus es probablemente la estimación más robusta de la tasa de entrecruzamiento, ya que no es tan sensible a las violaciones de las hipótesis del modelo mixto como las estimaciones de locus sencillo y no supone que la población se encuentra bajo equilibrio de endogamia como la tasa de equilibrio, te (Ritland y Jain, 1981).

### c) El equilibrio de endogamia.

Usando las estimaciones del índice de fijación y de la tasa de entrecruzamiento multilocus se construyó la gráfica de la Figura IV.3. En la gráfica, la curva muestra los valores esperados de la tasa de entrecruzamiento y el índice de fijación bajo el equilibrio de endogamia. Como puede verse, la mayoría de las poblaciones se encuentran cerca de la curva teórica, lo que indicaría que su estructura genética podría ser explicada por el sistema reproductivo, no obstante, otros factores pueden estar actuando sobre las poblaciones.

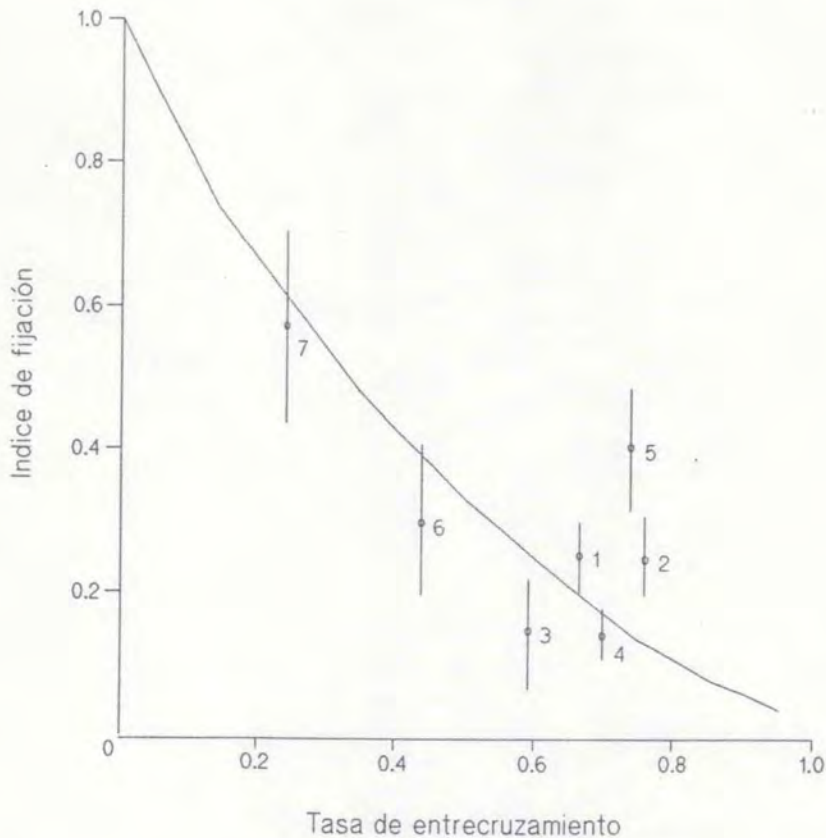


Fig. IV.3 Relación entre la tasa de entrecruzamiento y el índice de fijación estimados y aquellos esperados bajo equilibrio de endogamia para las poblaciones de *P. coccineus* y *P. vulgaris* estudiadas en 1987. Los datos fueron tomados de las Tablas IV.VII y IV.VIII. Se muestra también la desviación estándar del índice de fijación. 1: Bosque de Tlalpan T(S), 2: Huitzilac silvestre 1 H1(S), 3: Huitzilac silvestre 2 H2(S), 4: Huitzilac cultivado H(C), 5: Chiapas 1 CH1(C), 6: Chiapas 2 CH2(C), 7: *P. vulgaris* cultivado de Huitzilac Hv(C).

En las poblaciones que se encuentran por arriba de la curva el índice de fijación es mayor de lo que se esperaría para su tasa de entrecruzamiento, es decir, presentan menos heterocigotos de los esperados por el sistema reproductivo. En las poblaciones que se encuentran por debajo de la curva, la  $F$  es menor de lo que se esperaría para su tasa de entrecruzamiento, es decir, tienen más heterocigotos de los que se esperarían por el sistema reproductivo.

La acción de otras fuerzas, además del sistema reproductivo, puede hacer que las poblaciones se alejen del equilibrio de endogamia, pero cuando el sistema reproductivo es el principal determinante de la estructura genética, otros factores asociados a éste, como el apareamiento entre parientes por subestructuración de las poblaciones o depresión endogámica, pueden provocar también que los puntos se desvíen hacia arriba de la curva (Hedrick y Cockerham, 1986; Shea, 1987). Cuando los puntos se encuentran por debajo de ella, la selección natural favoreciendo a los heterocigotos es la explicación más aceptada (Brown, 1979; Schoen, 1982). A estas desviaciones se les denomina paradoja de los heterocigotos (Brown, 1979).

En Phaseolus coccineus los tamaños de muestra utilizados podrían estar sesgando la posición de los puntos, particularmente en la población silvestre de Huitzilac H2(S). No obstante, algunos de los factores mencionados anteriormente podrían estar provocando las desviaciones con respecto al equilibrio.

### 3.3) Otros aspectos del sistema reproductivo: posibles violaciones a las suposiciones del modelo mixto.

#### a) Variación en la tasa de entrecruzamiento entre loci.

Cualquier violación a las suposiciones del modelo mixto básico podría traer como consecuencia errores en las estimaciones de la tasa de entrecruzamiento (Clegg, 1980, Brown et al, 1985). Sin embargo, la magnitud de los errores será mayor en el caso de las estimaciones de locus sencillo que con el estimador multilocus (Ritland y Jain, 1981; Shaw et al, 1981).

Además de la tasa de entrecruzamiento multilocus ( $t_m$ ) se estimó la tasa de entrecruzamiento por locus sencillo y estas estimaciones fueron promediadas para obtener  $t_s$  (tabla IV.VIII). Las estimaciones por locus mostraron variación dentro de una población, lo cual ha sido encontrado también en otros trabajos (Allard y Workman, 1963; Shaw y Allard, 1961; Mitton et al, 1981; Bijlsma et al, 1986; El-Kassaby et al, 1987) y explicado en términos de la existencia de una subestructuración de la población, entre otras posibles causas.

Las poblaciones naturales pueden presentar una estructura poblacional espacial, cuando el flujo de polen y semillas es limitado (Shaw y Allard, 1981; Brown et al, 1985; Brown, 1979; Ellstrand y Foster, 1983; Shea, 1987); o temporal, cuando se presentan diferencias entre los genotipos en cuanto al tiempo de floración (Bijlsma et al, 1986). Esta estructura poblacional puede traer como consecuencia una heterogeneidad en la poza de polen, es decir, que el polen de entrecruzamiento no

se distribuya al azar en toda la población (Ennos y Clegg, 1982). El movimiento restringido de polen puede provocar apareamientos entre individuos de genotipo semejante (endogamia), que un modelo de locus simple frecuentemente no discrimina de eventos de autofecundación.

Las consecuencias de este fenómeno ocurrirán a dos niveles (Fig. IV.4): 1) Por un lado, el efecto no será idéntico sobre todos los loci ensayados, ya que los eventos de entrecruzamiento serán detectados dependiendo de las frecuencias alélicas en ese locus: si un alelo tiene una frecuencia muy alta en un parche, la estimación de la tasa de entrecruzamiento será una subestimación, mientras que si las frecuencias de todos los alelos son muy parecidas, existe mayor probabilidad de que se distingan los eventos de entrecruzamiento. Es decir, habrá variación en las estimaciones de la tasa de entrecruzamiento entre loci (Brown et al, 1985; El-Kassaby et al, 1987; Shea, 1987). 2) Dado que el modelo de locus simple pasa por alto eventos de entrecruzamiento cuando hay heterogeneidad en la poza de polen, como un patrón general, el promedio de las estimaciones de locus simple ( $t_s$ ) será menor que la estimación multilocus ( $t_m$ ). Es debido a este fenómeno, que varios autores (Shaw y Allard, 1981; Ellstrand y Foster, 1983; El-Kassaby et al, 1987) han propuesto que la comparación de  $t_s$  con  $t_m$  es un buen procedimiento para detectar estructuración en una población (que es una violación a las suposiciones del modelo mixto).

Mediante una prueba de rangos con signo de Wilcoxon (Ellstrand y Foster, 1983) se comprobó que  $t_s$  fue significativamente menor que  $t_m$  en todas las poblaciones ( $T=15$ ,  $P<0.005$ ). Este hecho, aunado a la variación encontrada en las estimaciones de la tasa de entrecruzamiento por locus, sugiere una subestructuración en las poblaciones estudiadas. En el caso de las poblaciones silvestres la presencia de una estructura no sería sorprendente, dada la distribución agregada que se observa en estas poblaciones; sin embargo, en las poblaciones cultivadas no se esperaría una estructuración espacial, por lo que la variación encontrada en la tasa de entrecruzamiento entre loci podría ser explicada más bien por una estructuración temporal (Bijlsma et al, 1986).

Como puede verse en la parte final del esquema de la Fig. IV.4 la estructuración de la población puede provocar también cierta disminución en la tasa de entrecruzamiento multilocus, sin embargo, el estimador multilocus detecta más fácilmente cualquier evento de entrecruzamiento que el de locus sencillo (Ritland y Jain, 1981; Shaw et al, 1981).

Otras explicaciones alternativas de la variación en las estimaciones de la tasa de entrecruzamiento son: herencia no mendeliana en algunos loci, selección de genes ligados o errores metodológicos en las estimaciones, debidos al tamaño de la muestra.

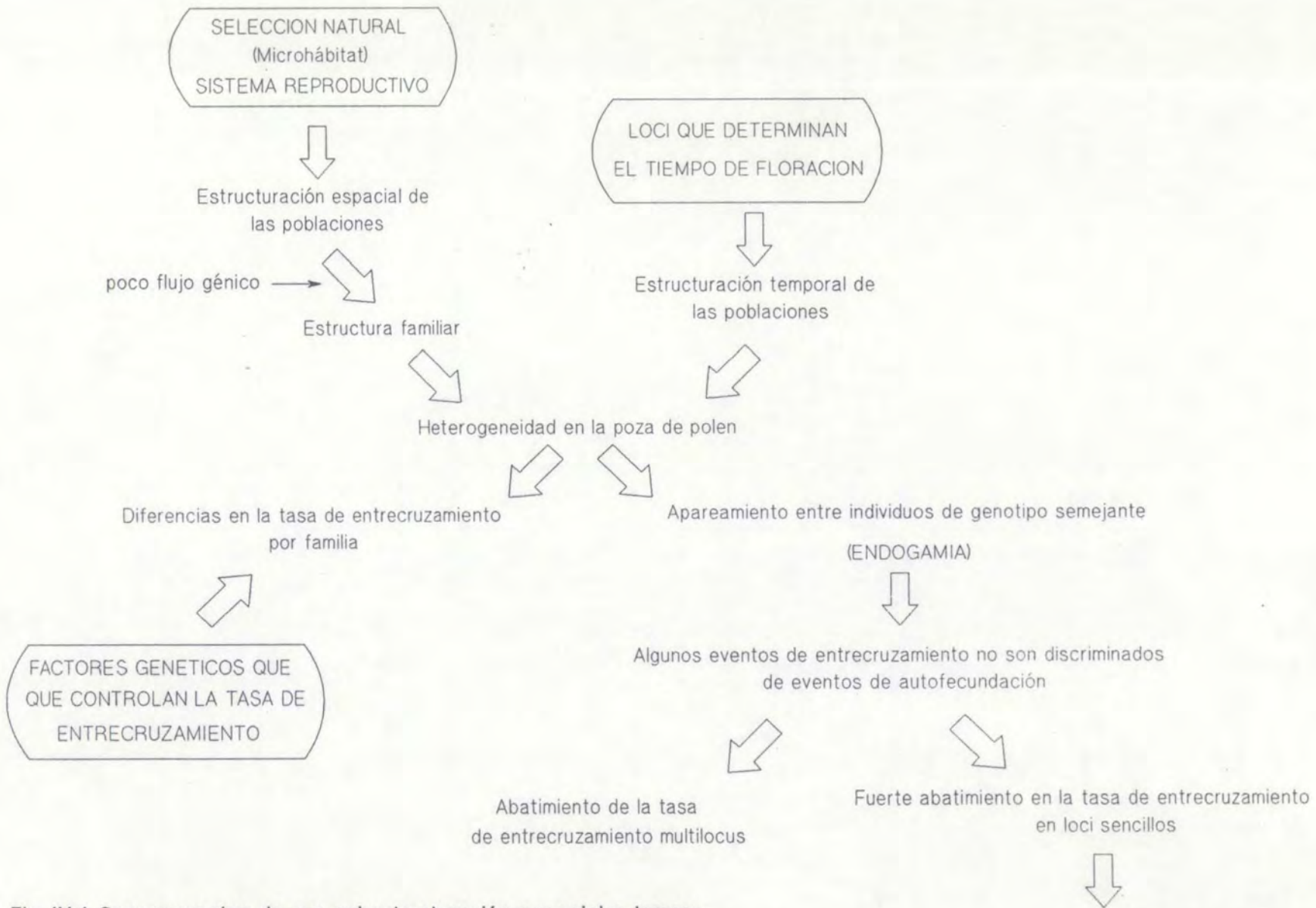


Fig. IV.4 Consecuencias de una subestructuración espacial o temporal de la población sobre las estimaciones de la tasa de entrecruzamiento multilocus y de locus sencillo.

- 1) Variación en la tasa de entrecruzamiento entre loci
- 2)  $t_s < t_m$

b) Variación en la tasa de entrecruzamiento entre individuos.

Otra violación común al modelo mixto, consiste en la existencia de variación en la tasa de entrecruzamiento entre individuos. Varios autores (Clegg, 1980; Shaw y Allard, 1981; Mitton et al, 1981b; Hamrick, 1982; Ellstrand y Foster, 1983; El-Kassaby et al, 1987) han propuesto que una posible causa de esta variación es, nuevamente, la existencia de una estructuración en la población; ya que, cuando se presenta una estructura en parches y hay heterogeneidad en la poza de polen, las madres que se encuentran dentro de un parche presentarán una tasa de entrecruzamiento aparentemente menor que las que se encuentran en la periferia, que reciben también algo de polen proveniente de otros parches (Ellstrand y Foster, 1983).

La Figura IV.5 muestra las gráficas de distribución de la tasa de entrecruzamiento entre plantas. En casi todas las poblaciones se observó un amplio rango de variación, aunque la categoría más frecuente en todas ellas fué la de 0.9-1.0. Esta tendencia puede verse más claramente en la grafica (e) en la que se incluyen todos los organismos muestreados de la especie. No obstante, esta variación encontrada en la tasa de entrecruzamiento entre individuos puede presentar sesgos debido al número de individuos ensayados de la progenie, ya que las estimaciones por familia son menos robustas que las estimaciones para un grupo de plantas.

Por su parte, Hamrick (1982) ha propuesto que la diferencia en tasa de entrecruzamiento entre individuos puede deberse también a diferencias genéticas en cuanto a su capacidad de autofecundarse. Así, los amplios rangos de variación observados en las poblaciones estudiadas, podrían ser también el resultado de variación en alguna característica morfológica o fisiológica entre plantas.

En varios trabajos se ha explorado la posibilidad de la presencia de características genéticas que afecten la tasa de entrecruzamiento entre los individuos de una población y se han obtenido algunos resultados interesantes. Rick et al (1977; en Layton y Ganders, 1984) encontraron que las diferencias en el grado de extrorsión del estigma entre las plantas de una población provocaban diferencias en su tasa de entrecruzamiento. Schoen (1982) reporta diferencias en el grado de protandria entre plantas de una misma especie relacionadas con diferencias en la tasa de entrecruzamiento. Marshall y Abbot (1984) encontraron que las diferencias genéticas que determinan la composición de flores del capítulo en Senecio vulgaris estaban relacionadas con diferencias en la tasa de entrecruzamiento entre plantas. Por último, Ennos (1981) en Ipomoea y Barrett y Shore (1987) en Turnera ulmifolia observaron una correlación entre la variación en la distancia antera-estigma y la tasa de entrecruzamiento.



BIBLIOTECA  
INSTITUTO DE ECOLOGIA  
UNAM

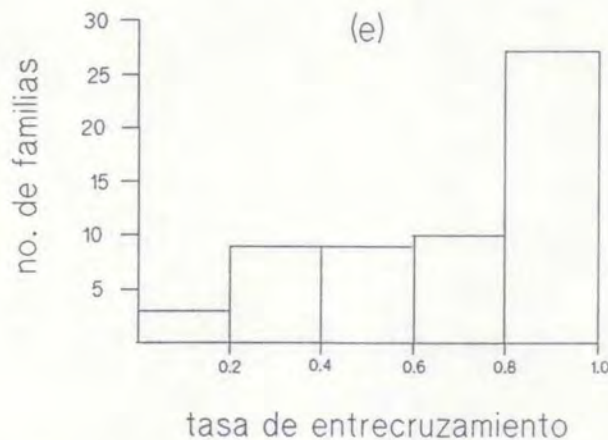
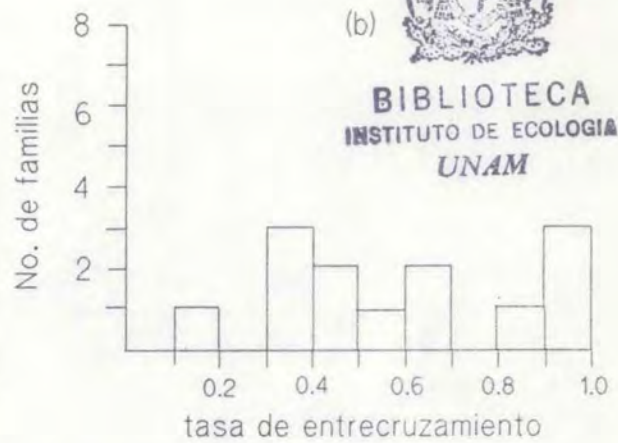
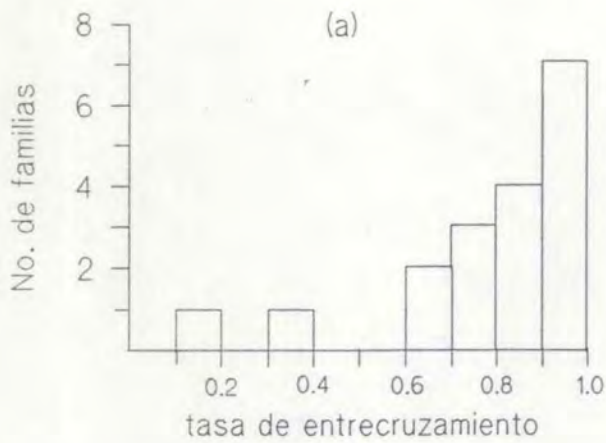


Fig. IV.5 Distribución de la tasa de entrecruzamiento por planta para cuatro localidades de *P. coccineus* estudiadas en 1987. La tasa de entrecruzamiento por planta fué obtenida utilizando el programa MLT (Ritland, 1988). Se muestra también la distribución de la tasa de entrecruzamiento por planta para la especie. a: Bosque de Tlalpan, b: Huitzilac silvestre, c: Huitzilac cultivado, d: Chiapas, e: *Phaseolus coccineus*.



En el caso de Phaseolus coccineus, si las diferencias en la tasa de entrecruzamiento entre plantas se debieran a factores genéticos, la posición del estigma con respecto a los estambres podría ser el factor que estuviera determinando estas diferencias. Delgado (1988) ha hecho notar la gran variación que presenta Phaseolus coccineus en cuanto al grado de extrorsión del estigma y en este trabajo se encontró que hay diferencias entre plantas en cuanto a su capacidad de autofecundarse. Estos dos elementos sugieren que pequeñas variaciones en cuanto al grado de extrorsión del estigma podrían explicar las diferencias encontradas en la tasa de entrecruzamiento entre plantas.

### 3.4) Consecuencias del sistema reproductivo: depresión endogámica.

Uno de los factores que puede producir una disminución de heterócigos, provocando desviaciones con respecto al equilibrio de endogamia, y que además tiene un papel importante en la evolución de los sistemas reproductivos es la depresión endogámica (Lande y Schemske, 1985; Charlesworth y Charlesworth, 1987; Shea, 1987).

La depresión endogámica consiste en una disminución en la adecuación de los organismos producidos por autofecundación o apareamiento entre parientes, en relación con los producidos por entrecruzamiento. Frecuentemente se manifiesta como una disminución en la viabilidad y puede afectar cualquier etapa del ciclo de vida del organismo (Schemske y Lande, 1985). Para explicar las posibles causas de la depresión endogámica y de su contraparte: la heterosis (incremento en el vigor general de un organismo asociado con un aumento en la heterocigosis; Allendorf y Leary, 1986) se han propuesto básicamente dos teorías: la de la dominancia, por recesivos deletéreos, y la de la sobredominancia o ventaja del heterocigoto (Charlesworth y Charlesworth, 1987). En ambas teorías la depresión endogámica se considera como una consecuencia de la disminución en la heterocigosis asociada con la autofecundación o los apareamientos entre parientes.

De la Fig. IV.3 se observó que algunas poblaciones de P. coccineus presentan una deficiencia de heterócigos con respecto a lo esperado por el sistema reproductivo. En estas poblaciones la depresión endogámica podría ser uno de los factores responsables de las desviaciones. De todas las poblaciones que se encuentran por arriba de la curva, sólo se obtuvieron datos para indagar este fenómeno en la población del Bosque de Tlalpan. El estimador utilizado fué el porcentaje de abortión de semillas por planta (calculado como el promedio del número de semillas abortadas respecto al número total de óvulos por vaina), que representa sólo una de las etapas del ciclo de vida donde la depresión endogámica puede manifestarse (Shea, 1987).

Se obtuvo una buena correlación (Fig. IV.6) entre la tasa de entrecruzamiento y el porcentaje de aborción por planta, observándose un mayor porcentaje de aborción en aquellas plantas con menor tasa de entrecruzamiento. Williams y Free (1975; en Kendall y Smith, 1976) encontraron una relación semejante también para *P. coccineus*, según la cual las plantas que se autofecundan producen menor número de vainas que aquellas que se entrecruzan. Resultados semejantes han sido encontrados para otras especies e interpretados como evidencia de depresión endogámica (Price y Waser, 1979; Levin, 1984; Ledig, 1986).

Sin embargo, los datos de la Fig. IV.6 pueden tener otras explicaciones alternativas, distintas a la depresión endogámica. Una de estas explicaciones podría darse en términos de selección sexual, suponiendo que algunas de las plantas abortan primordialmente las semillas producidas por fecundación cruzada, mientras que las semillas producidas por autofecundación no son abortadas. Esto provocaría que la estimación de la tasa de entrecruzamiento para estas plantas fuera baja, mientras que para otras plantas que no abortan las semillas de entrecruzamiento, se obtendrían estimaciones más altas de este parámetro.



Fig. IV.6 Relación entre la tasa de entrecruzamiento por planta y el porcentaje de aborción de semillas para la población del Bosque de Tlalpan T(S) de *P. coccineus* en 1987 ( $Rho = -0.749$ ,  $t = 3.92$   $P < 0.01$ ).

Las polinizaciones geitonógamas observadas en P.coccineus podrían ser una causa de depresión endogámica. Hessing (1988) encontró un aumento en el porcentaje de abortición y una disminución en el peso promedio de las semillas producidas por este tipo de apareamiento, en relación a las semillas de entrecruzamiento, y concluye que este tipo de polinización generalmente produce depresión endogámica. Por otro lado, la ausencia de clorofila detectada en algunas de las plántulas producidas por autofecundación, podría ser otra evidencia de depresión endogámica en Phaseolus coccineus; ya que este fenómeno ha sido reportado como consecuencia de la homocigosis para alelos recesivos que producen carencia de clorofila (Schoen, 1983).

Un análisis más completo, incluyendo mayor número de poblaciones y abarcando la totalidad de las etapas del ciclo de vida sería necesario para obtener una buena medida de la magnitud de la depresión (Levin, 1984; Lande y Schemske, 1985; Ledig, 1986).

El estudio de la depresión endogámica puede ser interesante desde dos puntos de vista:

1) Por un lado, varios autores han sugerido que la evolución de los sistemas reproductivos se ha visto fuertemente influenciada por la depresión endogámica y la heterosis (Schoen, 1983; Lande y Schemske, 1985; Charlesworth y Charlesworth, 1987). En particular, Lande y Schemske (1985) han propuesto que en la naturaleza existen dos posibles estados estables del sistema reproductivo: especies que predominantemente se autofecundan, con tasa de entrecruzamiento menor de 0.2; o especies que predominantemente se entrecruzan, con tasa de entrecruzamiento mayor de 0.8. La magnitud de la depresión endogámica será lo que determine hacia qué extremo evolucionará una especie con sistema de apareamiento mixto. Phaseolus coccineus presenta una tasa de entrecruzamiento intermedia y por lo tanto se encuentra en un estado inestable (según el modelo de Lande y Schemske, 1985), por lo que cabría esperar que evolucione hacia cualquiera de los dos extremos. Una buena cuantificación de la depresión, así como la heredabilidad de la tasa de entrecruzamiento sería necesaria para establecer cualquier predicción acerca de la posible ruta que seguiría esta especie (Schemske y Lande, 1985; Schoen, 1983; Barret y Shore, 1987).

2) Por otro lado, el conocimiento de los niveles de depresión endogámica podría ayudar al mejoramiento de las técnicas de manejo de las poblaciones cultivadas (Ritland, 1983; Ledig, 1986), controlando los niveles de entrecruzamiento para maximizar la producción de semillas sanas. Esto podría llevarse a cabo mediante la selección de genotipos con tasas de entrecruzamiento altas en aquellas especies donde se haya comprobado la existencia de depresión por endogamia.

### 3.5) Paternidad múltiple en Phaseolus coccineus.

A pesar de que el concepto de paternidad múltiple en plantas con frutos de semillas múltiples está implícito en las suposiciones del modelo mixto, muy pocos trabajos se han enfocado a la determinación de los patrones de paternidad. Schoen y Clegg (1984; 1986) han puesto de manifiesto la posibilidad de que en algunas especies no exista más de un padre por fruto, y proponen el modelo de apareamientos correlacionados como un método alternativo al modelo mixto, para la estimación de la tasa de entrecruzamiento. De los pocos trabajos enfocados a la determinación de los patrones de paternidad son los de Marshall y Ellstrand (1985; 1986) y Ellstrand y Marshall (1986), quienes encontraron que más de un padre está involucrado en la fecundación de cada fruto en Raphanus sativus.

Una aproximación al patrón de paternidad en Phaseolus coccineus se obtuvo mediante la utilización de los datos del genotipo paterno más probable de cada semilla. Estos datos fueron obtenidos con el programa MLT de Ritland (1988).

Para todas las semillas analizadas de una misma vaina se comparó el genotipo paterno más probable con el genotipo de la madre, con el fin de determinar el número de eventos de entrecruzamiento por vaina, considerándose como autofecundaciones los casos en que el genotipo paterno fuera igual al de la madre. Posteriormente se contó el número de padres de entrecruzamiento distintos para cada vaina y con estos datos se construyó la regresión de la Fig. IV.7. Puede observarse que al aumentar el número de eventos de entrecruzamiento por flor aumenta también el número de padres. Estos datos sugieren la existencia de paternidad múltiple en P. coccineus, es decir, que más de un padre está involucrado en la fecundación de los óvulos de una flor. De la misma figura IV.7 se desprende también que P. coccineus se ajusta mejor a las predicciones del modelo mixto, según el cual cada evento de entrecruzamiento es independiente, que a las predicciones del modelo de apareamientos correlacionados (Schoen y Clegg, 1984; 1986), según el cual un sólo padre de entrecruzamiento es el que fecunda todos los óvulos de una flor.

Esta posible paternidad múltiple en Phaseolus coccineus, al igual que en otras especies, puede tener dos explicaciones: por un lado, podría ser que distintos polinizadores depositen polen de distintas plantas en visitas sucesivas a una misma flor y por otro lado, podría deberse a la depositación simultánea en un estigma de polen de varias plantas por el mismo polinizador. A esto último se le ha llamado arrastre de polen (Marshall y Ellstrand, 1985; 1986; Epperson y Clegg, 1987). Sin embargo, para Raphanus sativus e Ipomoea purpurea, se ha demostrado que las visitas consecutivas no producen paternidad múltiple, ya que la probabilidad de fecundación disminuye después de la primera polinización (Marshall y Ellstrand, 1986; Epperson y Clegg, 1987). Por su parte, el arrastre de polen ha sido

comprobado para varias especies (Lupinus texensis, Schaal, 1980; Ipomoea purpurea, Ennos y Clegg, 1982), por lo que se considera como el mecanismo más probable de paternidad múltiple.

Sin embargo, para verificar este aparente patrón de paternidad múltiple en Phaseolus coccineus, sería necesario realizar un estudio específico.

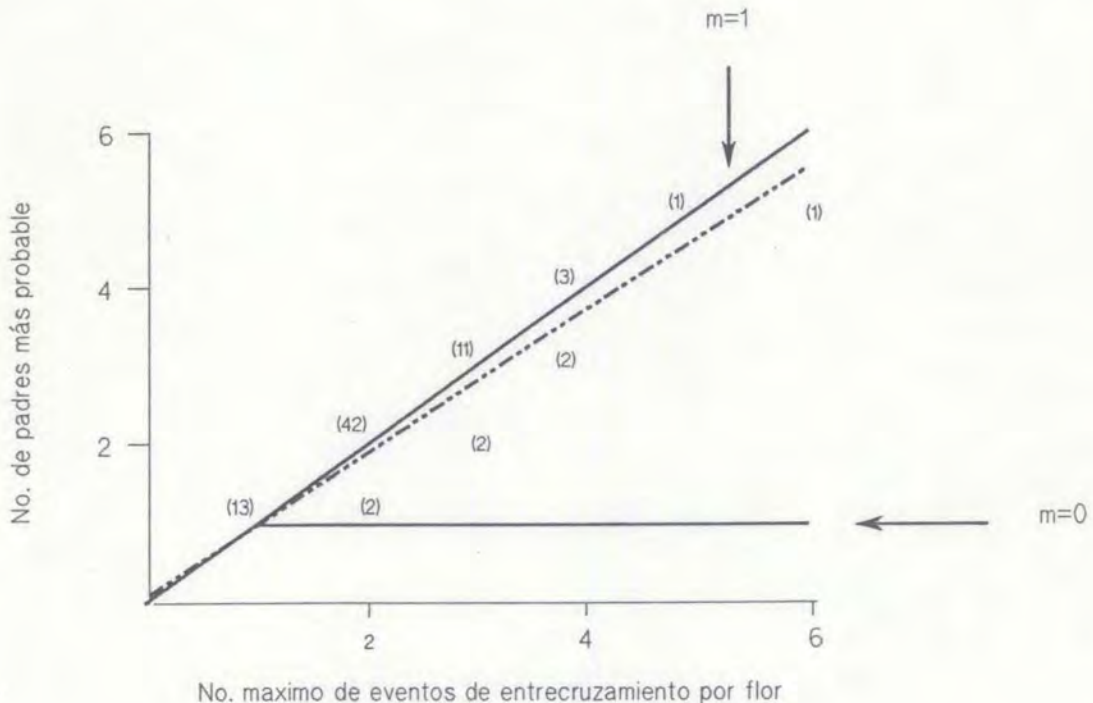


Fig. IV.7 Relación entre número de padres y número de eventos de entrecruzamiento en Phaseolus coccineus en 1987. Las líneas continuas muestran los valores teóricos esperados bajo las suposiciones del modelo mixto ( $m=1$ ), y del modelo de apareamientos correlacionados ( $m=0$ ). La línea punteada representa el ajuste de los datos de las poblaciones del Bosque de Tlalpan, Huitzilac silvestre y Huitzilac cultivado. Los números representan la cantidad de datos en cada punto ( $m=0.88$ ;  $r=0.95$   $P<0.001$ ).

#### 4.- DIFERENCIACION GENETICA ENTRE POBLACIONES

##### 4.1) Estadísticos-F

Valores positivos de  $F$  indican una deficiencia de heterocigotos con respecto a los esperados en Hardy-Weinberg. Esta deficiencia puede ser debido al efecto de varias fuerzas como selección natural, deriva génica y sistemas reproductivos (Nei, 1987). En las poblaciones naturales, estas fuerzas generalmente actúan conjuntamente (Mayr, 1969) y resulta de interés conocer cuál de ellas es la que primordialmente moldea la estructura genética. Los estadísticos-F de Wright nos permiten fraccionar el índice de fijación total ( $F_{it}$ ) en componentes que son producto del sistema reproductivo ( $F_{is}$ ) o de otras fuerzas que provoquen diferenciación genética entre subpoblaciones ( $F_{st}$ ) en poblaciones estructuradas. Estos índices de fijación han sido usados extensivamente en genética de poblaciones de plantas a partir de los trabajos pioneros de Levin y Kerster (1974) y Schaal (1975).

En todas las comparaciones entre las poblaciones de Phaseolus coccineus se observaron valores de  $F_{is}$  mayores a los de  $F_{st}$ , sugiriendo ésto que el sistema reproductivo es la principal fuerza que está determinando la estructura genética (Tabla IV.IX). Sin embargo, los valores significativamente distintos de cero encontrados en  $F_{st}$  hablan de la acción de otras fuerzas que actúan en las poblaciones de Phaseolus coccineus.

El valor de  $F_{st}$  obtenido entre las siete poblaciones estudiadas de P. coccineus (0.203) es semejante a aquellos observados en otras especies de herbáceas (Tabla IV.X), e indica la existencia de cierta diferenciación genética entre las poblaciones estudiadas.

Para las poblaciones silvestres,  $F_{st}$  varió de 0.02 entre las poblaciones de Tlalpan a 0.07 entre las cuatro poblaciones silvestres estudiadas; mientras que en las poblaciones cultivadas el rango de valores fué de 0.102 entre las poblaciones de Chiapas a 0.219 cuando se compararon las tres poblaciones cultivadas. De aquí que las poblaciones cultivadas parecen estar más diferenciadas entre sí que las poblaciones silvestres. Sin embargo, la población cultivada de Huitzilac mostró una menor diferenciación genética cuando se la comparó con las poblaciones silvestres de la misma localidad (0.089) o incluso cuando se incluye con las poblaciones silvestres del Centro de México (0.088). De lo anterior se desprende que esta población se asemeja más a las silvestres del Centro de México que a las cultivadas de Chiapas, sugiriendo ésto un patrón de diferenciación geográfica.

Tabla IV.IX. Estadísticos-F dentro y entre poblaciones silvestres y cultivadas de *P. coccineus* colectadas en 1987. Se muestran los niveles de significancia para los valores distintos de cero. La nomenclatura de las poblaciones corresponde a la expuesta en materiales y métodos.

	No. de poblaciones	F <sub>IS</sub>	F <sub>IT</sub>	F <sub>ST</sub>
POB. SILVESTRES				
T1(S)-T2(S)	2	0.236 <sup>2</sup>	0.251 <sup>2</sup>	0.020 <sup>1</sup>
H1(S)-H2(S)	2	0.234 <sup>1</sup>	0.263 <sup>1</sup>	0.038 <sup>1</sup>
H(S)-T(S)	4	0.234 <sup>3</sup>	0.287 <sup>3</sup>	0.070 <sup>3</sup>
POB. CULTIVADAS				
CH1(C)-CH2(C)	2	0.342 <sup>3</sup>	0.409 <sup>3</sup>	0.102 <sup>3</sup>
CH(C)-H(C)	3	0.283 <sup>3</sup>	0.440 <sup>3</sup>	0.219 <sup>3</sup>
SILV. - CULT.				
H(S)-H(C)	3	0.213 <sup>2</sup>	0.283 <sup>3</sup>	0.089 <sup>3</sup>
Centro de México	5	0.213 <sup>3</sup>	0.283 <sup>3</sup>	0.088 <sup>3</sup>
<i>P. coccineus</i>	7	0.247 <sup>3</sup>	0.400 <sup>3</sup>	0.203 <sup>3</sup>

<sup>1</sup> P < 0.025, <sup>2</sup> P < 0.005, <sup>3</sup> P < 0.001

Los valores pequeños de Fst encontrados en general en el valle de México y en particular entre las poblaciones silvestres pueden tener dos causas: 1) la existencia de flujo génico entre las poblaciones que abata los efectos de la deriva génica y/o la selección natural; o bien 2) que la deriva génica o la selección natural estén actuando débilmente en estas poblaciones. Por otro lado, la mayor diferenciación genética observada entre las poblaciones cultivadas podría deberse a los efectos de la selección artificial asociada con distintas tradiciones de manejo, aunque también podría tener su origen en la existencia de centros de domesticación independientes en *Phaseolus coccineus* para la zona del sureste y la del Centro de México. Este patrón de diferenciación geográfica asociado a múltiples zonas de domesticación ha sido reportado por Gepts et al (1988) en poblaciones silvestres y cultivadas de *Phaseolus vulgaris*.

Tabla IV.X Estadísticos-F para algunas especies de plantas herbáceas (Modificada de Cuguen et al, 1988)

Especie	Número de loci	Fis	Fst	Fit
<u>Polygonum pensylvanicum</u> <sup>a</sup>	3	0.67	0.12	0.71
<u>Liatris cylindracea</u> <sup>b</sup>	15	0.41	0.07	0.43
<u>Sarracenia purpurea</u> <sup>c</sup>	4-5	-0.10	0.23	--
<u>Phlox cuspidata</u> <sup>d</sup>	5	0.67	0.41	0.80
<u>Phlox roemariana</u> <sup>d</sup>	4	0.04	0.21	0.54
<u>Oenothera laciniata</u> <sup>e</sup>	5	0.13	0.24	0.37
<u>Oenothera grandis</u> <sup>e</sup>	6	0.04	0.09	0.19
<u>Desmodium nudiflorum</u> <sup>f</sup>	5	0.04	0.17	0.20
<u>Gilia achilleifolia</u> <sup>g</sup>	10	--	0.18	--
<u>Cynosurus cristatus</u> <sup>h</sup>	4	0.01	0.01	0.01
<u>Plectritis congesta</u> <sup>i</sup>	8	--	0.15	--
<u>Phaseolus coccineus</u> <sup>j</sup>	5-6	0.25	0.20	0.40

a Kubetin y Schall (1979), b Schaal (1975), c Schwaegerle y Schaal (1979), d Levin (1978), e Ellstrand y Levin (1980), f Schaal y Smith (1980), g Schoen (1982), h Ennos (1985), i Layton y Ganders (1985), j este trabajo.

Como un intento para distinguir las causas de la diferenciación genética dentro de poblaciones silvestres y cultivadas se construyó la gráfica de la figura IV.8. Las poblaciones silvestres se ajustan mejor a las predicciones teóricas de diferenciación al azar de frecuencias alélicas por deriva génica que las poblaciones cultivadas (ver capítulo 2 de la introducción). Por su parte, en las poblaciones cultivadas existe una mayor dispersión en los puntos, quizá como consecuencia de la selección artificial que actúa sobre ellas. Esta metodología para diferenciar efectos de la deriva génica y la selección natural, ha sido reportada en poblaciones de caracoles terrestres (Selander, 1975 y Selander y Whittam, 1983; en Nei, 1987) pero no en poblaciones de plantas.



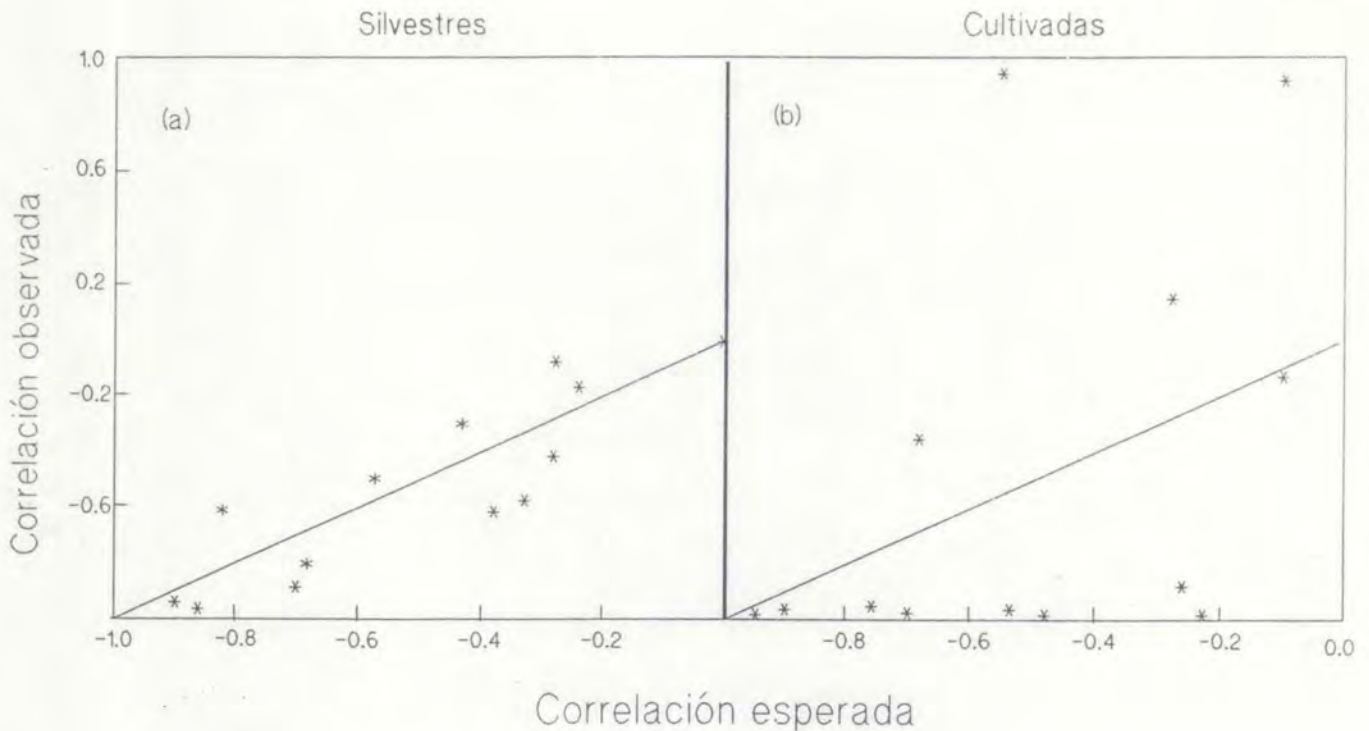


Fig. IV.8 Correlación entre las frecuencias alélicas observadas y las esperadas bajo un modelo de diferenciación al azar por deriva génica para (a) poblaciones silvestres y (b) poblaciones cultivadas de *P. coccineus* en 1987. La recta corresponde a las predicciones del modelo.

De lo anterior, es probable que en las poblaciones silvestres la deriva génica sea la causa de los valores encontrados en  $F_{st}$ , mientras que en las poblaciones cultivadas, la selección artificial o la existencia de diferencias históricas en la domesticación de las poblaciones, sean la causa de las  $F_{st}$  observadas.

#### 4.2) Identidades genéticas

Otra medida de diferenciación entre poblaciones alternativa a  $F_{st}$ , es la identidad genética de Nei (Schoen, 1982; Nei, 1987). La identidad genética es una medida de la semejanza entre dos poblaciones en términos de sus frecuencias alélicas. El rango de valores de este estimador va de cero, cuando dos poblaciones no comparten ningún alelo a uno, cuando todos los alelos en las dos poblaciones tienen la misma frecuencia (Nei, 1987).

Las poblaciones silvestres mostraron un nivel de identidad genética (Nei, 1987) promedio de 0.961, observándose la mayor identidad entre las poblaciones de Tlalpan (T1(S) y T2(S)) y la menor entre T1(S) y H2(S). Estos valores promedio se ajustan a aquellos reportados por Crawford (1983) entre poblaciones de la misma subespecie (0.87-1.0). Las poblaciones cultivadas, por su parte, mostraron un promedio de identidad genética de 0.856, el cual fué menor al observado entre las poblaciones silvestres.

Los resultados obtenidos están de acuerdo con aquellos observados para  $F_{st}$ , en donde las poblaciones silvestres están menos diferenciadas genéticamente entre sí que las poblaciones cultivadas.

Tabla IV.X Identidades genéticas de Nei entre las poblaciones de *P. coccineus* y *P. vulgaris* estudiadas en 1987. La nomenclatura de las poblaciones corresponde a la expuesta en materiales y métodos.

	<u>P h a s e o l u s   c o c c i n e u s</u>				<u>P.vulgaris</u>			
	T1(S)	T2(S)	H1(S)	H2(S)	H(C)	CH1(C)	CH2(C)	Hv(C)
T1(S)	--	0.988	0.981	0.922	0.955	0.746	0.834	0.467
T2(S)		--	0.979	0.934	0.975	0.801	0.869	0.430
H1(S)			--	0.962	0.934	0.759	0.843	0.495
H2(S)				--	0.914	0.840	0.886	0.589
H(C)					--	0.807	0.838	0.403
CH1(C)						--	0.922	0.478
CH2(C)							--	0.471

Cuando se incluye a la población cultivada de Huitzilac dentro del grupo de poblaciones silvestres, la identidad genética promedio disminuye ligeramente (0.954); mientras que al excluir esta población del grupo de las cultivadas de Chiapas, el valor promedio de identidad aumenta a 0.922. Mc.Leod et al (en Crawford, 1983) también encontraron altos niveles de identidad genética entre subespecies silvestres y cultivadas interfértiles de Capsicum y sugieren que aunque la selección artificial ejercida sobre las poblaciones cultivadas puede generar divergencia morfológica, es probable que no altere los patrones de variación isozímica. Sin embargo, esta similitud genética también puede ser explicada por altos niveles de flujo génico entre las poblaciones silvestres y el cultivar de Huitzilac, como veremos más adelante.

Por otro lado, cuando se comparan las poblaciones del centro de México con los cultivares de Chiapas, los valores promedio de identidad genética alcanzan su valor más bajo dentro de Phaseolus coccineus (0.822), sugiriendo también, un patrón de diferenciación genética entre ambas regiones. Esto puede ser interpretado como consecuencia de un aislamiento geográfico, hecho que se ve apoyado también por la presencia de alelos endémicos en las dos regiones (como se discutió anteriormente).

Con respecto a Phaseolus vulgaris, las identidades genéticas con Phaseolus coccineus fueron menores, observándose un rango de 0.403-0.589, con una identidad promedio de 0.476. Este valor resultó muy por debajo del promedio reportado en especies del mismo género, que es de 0.67 (Crawford, 1983). Sin embargo es probable que la identidad genética observada sea una subestimación, ya que se analizó una sola población de P. vulgaris.

El dendrograma de la figura IV.9, construido por el método UPGMA (Sokal y Michener, 1958; en Nei, 1987), presenta las relaciones entre las poblaciones estudiadas de Phaseolus coccineus además de la población control de Phaseolus vulgaris.

Puede notarse un agrupamiento de las poblaciones del centro de México a una distancia genética de 0.07; mientras que las poblaciones cultivadas de Chiapas se unen a una distancia de 0.081. Entre ambos grupos de poblaciones existe una distancia genética de 0.2, que es mayor a la distancia genética encontrada entre las poblaciones que se entrecruzan de Gilia achilleifolia (Schoen, 1982). Esto viene a confirmar que las poblaciones del valle de México están altamente diferenciadas de las poblaciones cultivadas de Chiapas. Esta diferenciación puede deberse a que distintas fuerzas están operando en ambas regiones, o a la existencia de dos distintos centros de domesticación de la especie.

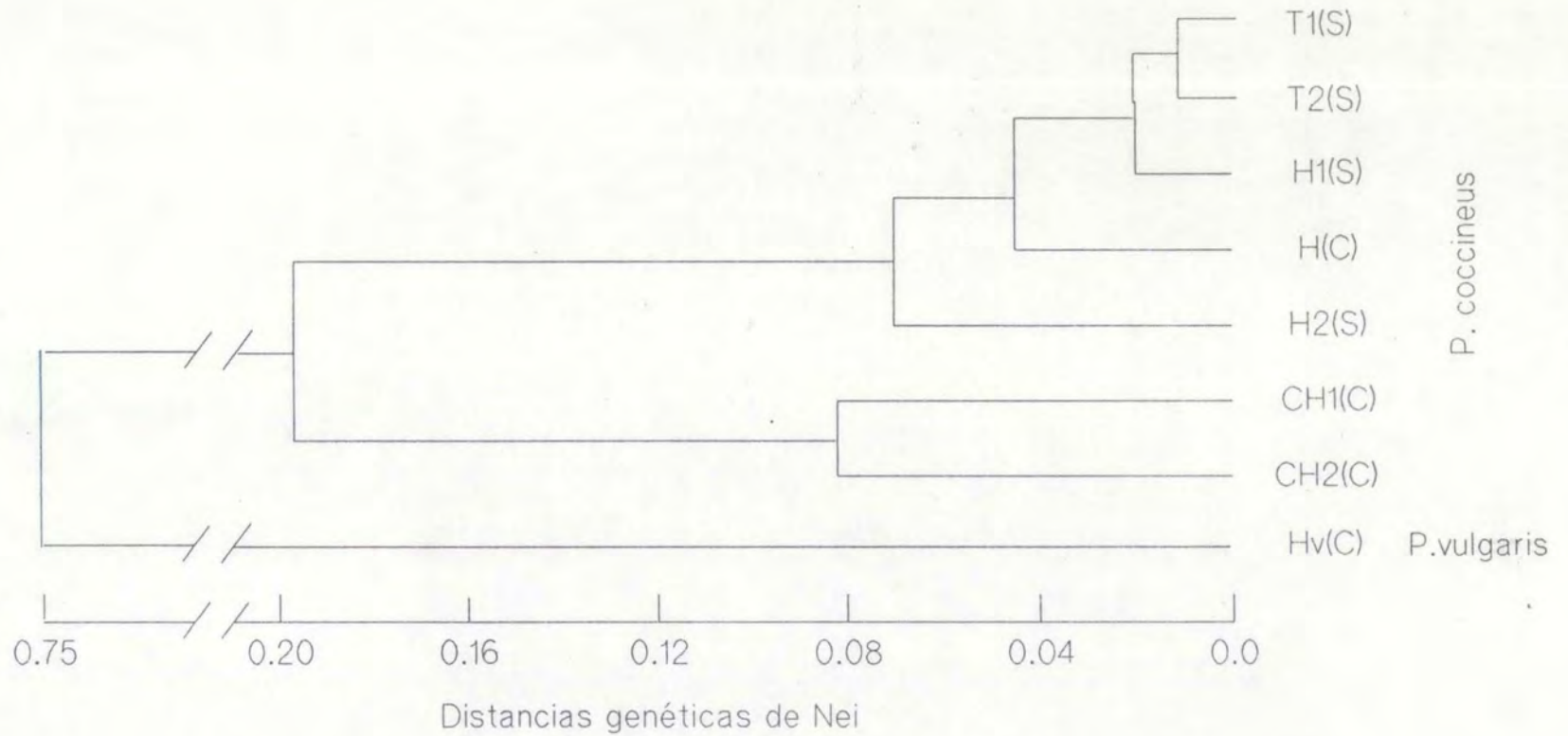


Fig.IV.9 Dendrograma reconstruido por el método UPGMA que muestra las relaciones entre las poblaciones estudiadas de *P. coccineus* y una población de *P. vulgaris* en 1987. La nomenclatura de las poblaciones corresponde a la expuesta en material y método.

La presencia de la población cultivada de Huitzilac, (H(C)), entre las dos poblaciones silvestres de la misma localidad (H1(S) y H2(S)) podría ser explicado por la existencia de flujo génico entre estas poblaciones. Smartt (1979) y Delgado (1988) han puesto de manifiesto la posibilidad de flujo génico entre poblaciones silvestres y cultivadas de Phaseolus coccineus.

En la figura IV.10 se muestra una serie de fotografías que sugieren flujo génico entre poblaciones silvestres y cultivadas de Huitzilac. La fotografía (a) muestra los genotipos maternos para Mdh-3 en la población cultivada, en ella puede observarse que las madres estuvieron fijas para el alelo 1. En (b) se muestran los genotipos maternos de las poblaciones silvestres. Nótese la variación existente, así como la presencia de un segundo alelo. Por último, en la fotografía (c) se muestra parte de la descendencia de las madres de la población cultivada con la presencia de un individuo heterócigo, probablemente producto de flujo génico desde las poblaciones silvestres que rodean al campo. Sin embargo, dado que no se obtuvo el genotipo materno para la totalidad de las plantas del campo de cultivo, no se puede descartar la posibilidad de que este alelo estuviera ya presente en la población.

Otras evidencias de este tipo no pudieron ser detectadas debido a la presencia de alelos comunes entre las poblaciones silvestres y la cultivada; y a que, cuando se presentó algún otro alelo en las poblaciones silvestres, ausente en el campo de cultivo, éste tuvo frecuencias muy bajas.

La cantidad de flujo génico en Huitzilac fué estimada por medio del modelo de alelos raros de Slatkin (1985). El modelo toma en cuenta que, mientras más alelos distintivos tengan dos poblaciones, el número promedio de inmigrantes entre ellas ( $N_{em}$ ) será menor. Así, se observó que  $N_{em}=2.16$  entre H1(S) y H2(S);  $N_{em}=1.47$  entre H2(S) y H(C) y que  $N_{em}=0.91$  entre H1(S) y H(C). Estos valores de  $N_{em}$  no pueden tomarse como definitivos, ya que, como lo ha discutido Hamrick (1987), el modelo de alelos raros sobreestima en varios ordenes de magnitud los niveles de flujo génico cuando se compara con otros métodos alternativos. Sin embargo, cualitativamente hablando, puede verse que existe un mayor flujo génico entre las dos poblaciones silvestres que entre las poblaciones silvestres y el cultivar de Huitzilac; y que la población adyacente al cultivar (H2(S)) presenta un mayor flujo génico con la población cultivada que la población más alejada del campo de cultivo.

Por lo tanto, el flujo génico puede ser una fuerza importante que está actuando en las poblaciones de Huitzilac, abatiendo los efectos de la deriva génica y la selección (Slatkin, 1985; Hamrick, 1987). Esta fuerza podría explicar el bajo nivel de diferenciación genética encontrado entre las poblaciones silvestres y entre las poblaciones silvestres y cultivadas de Huitzilac.



BIBLIOTECA  
INSTITUTO DE ECOLOGIA  
UNAM

a) Genotipos maternos para Mdh-3 en la población cultivada de Huitzilac H(C).

b) Genotipos maternos para Mdh-3 de la población silvestre de Huitzilac H2(S).

c) Algunos genotipos de la progenie de la población cultivada de Huitzilac H(C).

Figura IV.10 Fotografías que muestran una posible evidencia de flujo génico en Phaseolus coccineus en 1987, entre las poblaciones silvestres y la población cultivada de Huitzilac. a) Genotipos maternos para Mdh-3 en la población cultivada, b) Genotipos maternos para la misma enzima en la población silvestre adyacente al campo y c) Genotipos de la progenie de las madres cultivadas.

## V. CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS.

Del análisis de la estructura genética y sistema reproductivo de seis poblaciones de Phaseolus coccineus se llegó a las siguientes conclusiones:

1) Phaseolus coccineus es una especie que presenta altos niveles de variación genética ( $P=0.5$  y  $H=0.176$ ), semejantes a los encontrados en otras especies de plantas que primordialmente se entrecruzan.

2) Los índices de fijación positivos encontrados en todas las poblaciones estudiadas, pueden ser explicados básicamente por el sistema reproductivo.

3) El análisis del sistema reproductivo de todas las poblaciones mostró lo siguiente:

a) Presenta un sistema de apareamiento mixto, con predominancia de entrecruzamiento ( $t=0.65$ ).

b) La tasa de autofecundación promedio encontrada para la especie ( $s=0.35$ ) no parece deberse a autofecundación espontánea, por lo que apareamientos geitonógamos o autofecundaciones con mediación del polinizador podrían ser importantes.

c) La variación encontrada en la tasa de entrecruzamiento entre poblaciones nos indica que esta característica no se encuentra fija en la especie, sino que puede variar por efecto de factores ambientales y genéticos.

d) El análisis de las estimaciones de la tasa de entrecruzamiento de locus simple indica la posible existencia de una subestructuración en las poblaciones estudiadas, lo cual podría traer como consecuencia la presencia de apareamientos consanguíneos.

e) Aunque la mayoría de las plantas de P. coccineus presentan una tasa de entrecruzamiento cercana a uno, se encontró un amplio rango de variación en esta característica.

f) La relación encontrada entre la tasa de entrecruzamiento y el porcentaje de abortión por planta sugiere la existencia de depresión endogámica en esta especie.

g) Datos preliminares sugieren la existencia de paternidad múltiple en los frutos de esta especie.

4) Se encontró que otros factores determinantes de la estructura genética podrían ser la deriva génica y flujo génico en el caso de las poblaciones silvestres, y la selección artificial en las cultivadas.



5) En lo que se refiere a los patrones de diferenciación entre poblaciones se encontró lo siguiente:

a) El grado de diferenciación genética entre las poblaciones silvestres es menor que entre las poblaciones cultivadas.

b) La población cultivada de Huitzilac se diferenció menos de las silvestres de la misma localidad que de las cultivadas de Chiapas. Este hecho podría ser explicado por la existencia de flujo génico entre las poblaciones silvestres y el cultivar de Huitzilac.

c) Se observó un patrón de diferenciación genética por aislamiento geográfico entre las poblaciones del centro de México y las de Chiapas. No obstante, existe la hipótesis alternativa de distintos centros de domesticación.

Para complementar y corroborar algunos de los resultados obtenidos en este trabajo sería interesante analizar algunos de los siguientes puntos:

1) Incrementar el número de familias y de individuos por familia en cada localidad, así como el número de poblaciones de la especie.

2) Analizar la estructura genética de algunas poblaciones silvestres de Chiapas, con la finalidad de comprobar si el patrón de diferenciación geográfica se mantiene al incluirlas en el análisis, y si estas poblaciones se asemejan más a las cultivadas de la misma localidad que a las silvestres del centro de México.

3) Determinar el efecto de la variación en algunos factores ambientales (temperatura, precipitación, actividad de los polinizadores, número de flores por planta, etc.) sobre la tasa de entrecruzamiento.

4) Investigar la posible relación entre la variación en características determinadas genéticamente (tiempo de floración, distancia antera-estigma, grado de extrorsión del estigma, etc.) y la tasa de entrecruzamiento.

5) Llevar a cabo estimaciones de la heredabilidad de la tasa de entrecruzamiento y de la magnitud de la depresión endogámica para poder establecer predicciones sobre la futura evolución del sistema reproductivo de la especie.

### APENDICE

#### ESTIMACION DE TASAS DE ENTRECruzAMIENTO MEDIANTE METODOS DE MAXIMA VEROSIMILITUD.

En la introducción se describió someramente la metodología para obtener tasas de entrecruzamiento utilizando arreglos de la progenie. En este apéndice se expondrán en detalle algunos de los métodos mencionados.

En primer lugar, es importante definir en qué consiste una estimación de máxima verosimilitud. Con frecuencia ocurre que los datos de los que se dispone están sólo indirectamente relacionados con los parámetros que se desean obtener, como sería el caso de obtener la tasa de entrecruzamiento a partir de los números de los genotipos de la progenie producidos a partir de cada genotipo materno. El método de máxima verosimilitud, desarrollado primeramente por Fisher, nos permite obtener un único valor para ese parámetro, y corresponderá a aquél que maximice la probabilidad de los datos observados.

Como ejemplo para ilustrar en qué consiste una estimación de máxima verosimilitud se puede considerar la estimación de la tasa de entrecruzamiento a partir del número de descendientes heterócigotos producidos por una madre homocigota. En este caso los datos con los que contamos son  $N_1$  = número de descendientes homócigos y  $N_2$  = número de descendientes heterócigos producidos por una madre homóciga ( $N_1 + N_2 = N_t$ ). Por el modelo mixto sabemos que la probabilidad de  $N_1 = s + tp$  y la de  $N_2 = tq$ . Así, la probabilidad total de estos datos será:

$$\text{Prob} = \frac{N_t!}{N_1! N_2!} (s+tp)^{N_1} (tq)^{N_2} \quad (\text{A.1})$$

Si graficamos la función de probabilidad contra la tasa de entrecruzamiento (Figura A.1) puede notarse que para un cierto valor de  $t$  la probabilidad alcanza un valor máximo, que corresponde al valor de la tasa de entrecruzamiento que maximiza la probabilidad de los datos observados. Para obtener una estimación algebraica de la tasa de entrecruzamiento, se debe igualar a cero la derivada de la probabilidad con respecto a  $t$  y resolver para  $t$ . Sin embargo, como el procedimiento algebraico puede volverse complicado podemos simplificarlo al derivar el entrecruzamiento que maximiza la probabilidad es el mismo que maximiza el logaritmo de la probabilidad. Si denominamos  $L$  a la función de verosimilitud equivalente al logaritmo natural de la probabilidad, tenemos:

$$L(t) = N_1 \ln(s+tp) + N_2 \ln(tq) + c \quad (\text{A.2})$$

$$L(t) = N_1 \ln(1-t(1-p)) + N_2 \ln(tq) + c \quad (\text{A.3})$$

Derivando con respecto a  $t$  e igualando a cero tenemos:

$$\frac{dL}{dt} = -\frac{N_1 q}{1-tq} + \frac{N_2}{t} = 0 \quad (\text{A.4})$$

$$\hat{t} = \frac{N_2}{N_1 q} \quad (\text{A.5})$$

Esta expresión que es la que se mencionó en la introducción para el cálculo de la tasa de entrecruzamiento a partir de los descendientes heterocigotos de una madre homocigota es una estimación de máxima verosimilitud para la tasa de entrecruzamiento.

Así, las estimaciones de máxima verosimilitud nos permiten obtener el valor de los parámetros que maximizan la probabilidad de los datos observados. Los métodos que se discutirán a continuación para la estimación de la tasa de entrecruzamiento son estimaciones de máxima verosimilitud y se basan en lo que aquí se ha expuesto.

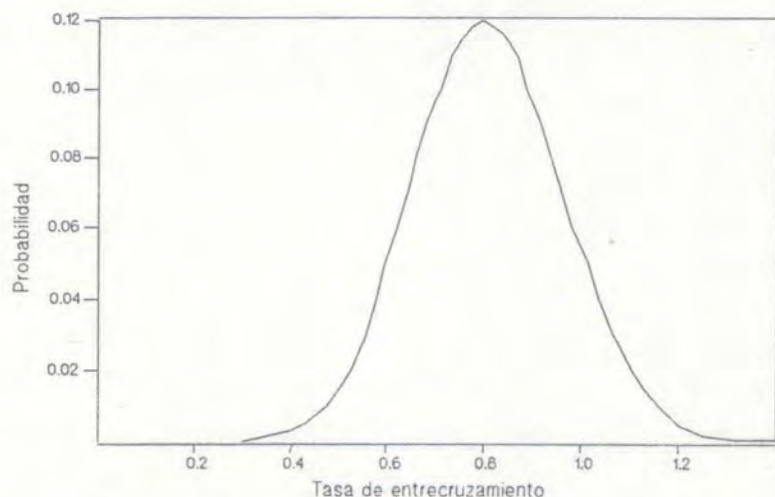


Figura A.1 Probabilidad de la muestra con respecto a la tasa de entrecruzamiento. Se observa que para  $t=0.8$  la probabilidad alcanza su valor máximo ( $p=0.5$ ,  $N_1=30$ ,  $N_2=20$ ).

1) Estimación de la tasa de entrecruzamiento en un locus, considerando todos los genotipos maternos.

a) Genotipo materno conocido.

El procedimiento debe clasificar los datos de los genotipos de la progenie en una matriz ( $\mathbf{X}$ ) de frecuencias padres-hijos, en donde las familias de igual genotipo materno serán puestas juntas. Sea  $\mathbf{N}$  una matriz de  $3 \times 3$  cuyo  $i$ - $j$ -ésimo elemento corresponde al número de individuos del genotipo  $i$  producidos por madres de genotipo  $j$  y  $N_T$  como el número total de individuos analizados en la progenie de todas las madres. Entonces, la matriz de frecuencias padres-hijos ( $\mathbf{X}$ ) será el producto escalar de  $1/N_T$  con cada uno de los elementos de la matriz  $\mathbf{N}$ .

$$X_{ij} = \frac{1}{N_T} N_{ij}$$

(nótese que  $\sum_i \sum_j X_{ij} = 1$ )

El  $i$ -jésimo elemento de  $\mathbf{X}$  corresponderá a la frecuencia del genotipo  $i$  en la progenie de madres con genotipo  $j$ .

Ahora bien, si se ha estimado previamente la frecuencia alélica de polen o si se tienen bases para pensar que la frecuencia alélica de polen no difiere significativamente de las frecuencias alélicas encontradas en los hijos, entonces se dice que la frecuencia de polen es conocida.

ii.1) Frecuencia de polen conocida

El procedimiento de máxima verosimilitud para la estimación de la tasa de entrecruzamiento debe considerar las siguientes variables:

- La probabilidad condicional de un genotipo  $i$  dada una madre de genotipo  $j$  (matriz  $\mathbf{P}$ , definida en la introducción).
- La frecuencia observada del genotipo  $i$  dada una madre con genotipo  $j$  (matriz  $\mathbf{X}$ ).

Según la matriz de transición de probabilidades ( $\mathbf{P}$ ), la probabilidad de encontrar un descendiente con genotipo  $i$  es una función del genotipo materno ( $j$ ), de la tasa de entrecruzamiento ( $t$ ) y de la frecuencia alélica de polen ( $p$ ). Si el genotipo materno y la frecuencia alélica de polen es conocida, entonces la probabilidad depende exclusivamente de un parámetro, que es la tasa de entrecruzamiento ( $t$ ). La probabilidad total de los datos será (omitiendo la combinatoria):

$$\text{Prob} = \prod_j (\prod_i P_{ij}^{X_{ij}}) \quad (\text{A.6})$$

y la función de verosimilitud equivalente al logaritmo natural de la probabilidad será (Ritland, 1983):

$$L(\mathbf{X}, \mathbf{P}) = \sum_i \sum_j X_{ij} (\ln P_{ij}) \quad i, j = 1..3 \quad (\text{A.7})$$

Para encontrar el valor de  $t$  que maximiza (A.7), es necesario resolver la ecuación igualada a cero de la derivada de  $L(\mathbf{X}, \mathbf{P})$  con respecto a  $t$ , esto es:

$$\begin{aligned} \frac{dL(\mathbf{X}, \mathbf{P})}{dt} &= \sum_i \sum_j X_{ij} \frac{1}{P_{ij}} \left( \frac{d}{dt} ((1-t)S_{ij} + tT_{ij}) \right) = 0 \\ &= \sum_i \sum_j X_{ij} \left( \frac{T_{ij} - S_{ij}}{P_{ij}} \right) = 0 \end{aligned} \quad (\text{A.8})$$

en donde:

-  $\mathbf{T}$  y  $\mathbf{S}$  son las matrices de transición para eventos de entrecruzamiento y autofecundación definidas en la introducción.

La ecuación (A.8) puede ser resuelta por varios métodos; una forma de resolverla es iterar la siguiente ecuación (Ritland, 1981; 1983):

$$t_{k+1} = \frac{\sum_i \sum_j X_{ij} (t_k T_{ij})}{P_{ij}} \quad (\text{A.9})$$

la cual converge consistentemente para  $t < 1$ . Cuando  $t_{k+1} = t_k = \hat{t}$ , decimos que ésta es la tasa de entrecruzamiento que maximiza la función de verosimilitud y por lo tanto, es la tasa que buscamos.

La varianza en la tasa de entrecruzamiento, será el valor esperado (E) del inverso de la segunda derivada de la función de verosimilitud con respecto a  $t$ , pero con signo negativo (Ritland, 1981, 1983), esto es:

$$-E \left( \frac{d^2 L(\mathbf{X}, \mathbf{P})}{dt^2} \right) = \frac{\sum_i \sum_j f_j (T_{ij} - S_{ij})^2}{P_{ij}^2} \quad (\text{A.10})$$

y la varianza en  $\hat{t}$  será:

$$v(\hat{t}) = \frac{1}{\sum_i \sum_j f_j \frac{(T_{ij} - s_{ij})^2}{P_{ij}}} \quad (\text{A.11})$$

siendo  $f$  el vector de frecuencias genotípicas maternas esperadas:

$$f = \hat{t} (I - (1-\hat{t})S)^{-1} f_0 \quad (\text{A.12})$$

con  $I$  = matriz identidad de  $3 \times 3$ ; y  $f_0$  = vector de frecuencias genotípicas maternas en Hardy-Weinberg.

### ii.2) Frecuencia de polen desconocida

Cuando no se tienen estimaciones previas de la frecuencia de polen o bien, se sospecha fuertemente que existe subestructuración en la población (Brown et al, 1985), es necesario hacer una estimación conjunta de la tasa de entrecruzamiento y la frecuencia alélica de polen ( $p$ ). En éste caso, la matriz de transición de probabilidades ( $P$ ) depende de dos parámetros desconocidos:  $t$  y  $p$ .

Partiendo de la misma ecuación de verosimilitud observada en (A.7), se pretende encontrar los valores de  $t$  y  $p$  que maximicen esa función.

El procedimiento consiste en resolver simultáneamente las ecuaciones:

$$\frac{d L(X,P)}{dt} = 0 \quad (\text{A.13})$$

$$\frac{d L(X,P)}{dp} = 0 \quad (\text{A.14})$$

para obtener los valores de  $\hat{t}$  y  $\hat{p}$ , respectivamente, que maximizan  $L(X,P)$ .

Como se vió antes, una solución equivalente a resolver (A.13) es iterar la ecuación (A.9).

Ritland (1983) obtiene una solución equivalente a resolver (A.14) mediante la siguiente iteración:

$$P_{k+1} = \frac{\sum_i \sum_j x_{ij} (P_k U_{ij})}{P} \quad (\text{A.15})$$

$$\text{en donde } U = \begin{bmatrix} 1 & 1/2 & 0 \\ 0 & 1/2 & 1 \\ 0 & 0 & 0 \end{bmatrix}$$

Las ecuaciones (A.9) y (A.15) deben ser iteradas conjuntamente y suelen converger simultáneamente cuando  $p_{k+1} = p_k = p$  y  $t_{k+1} = t_k = t$ , que son los valores de la frecuencia alélica de polen y la tasa de entrecruzamiento que buscamos.

La varianza de la estimación conjunta de  $\hat{t}$  y  $\hat{p}$ , se encuentra al invertir la matriz de información de  $L(X,P)$  (Li, 1978; Ritland y Jain, 1981).

Debido a que dos parámetros son estimados, la matriz de información será de  $2 \times 2$ ; y los elementos de ésta matriz ( $I$ ) son (Li, 1978):

$$I = \begin{bmatrix} -E \left( \frac{d^2 L(X,P)}{dt^2} \right) & -E \left( \frac{d^2 L(X,P)}{dtdp} \right) \\ -E \left( \frac{d^2 L(X,P)}{dtdp} \right) & -E \left( \frac{d^2 L(X,P)}{dp^2} \right) \end{bmatrix}$$

en donde  $E$  denota el valor esperado.

El elemento  $I_{11}$  de la matriz de información se calcula utilizando (A.10); mientras que el elemento  $I_{22}$  es:

$$\frac{-E \left( \frac{d^2 L(X,P)}{dp^2} \right)}{dp^2} = \frac{\sum_i \sum_j f_j (\hat{t}^2 T'_{ij}{}^2)}{P_{ij}} \quad (A.16)$$

en donde  $f$  es el vector de frecuencias genotípicas maternas visto anteriormente y  $T'$  es una matriz cuyos elementos son la derivada con respecto a  $p$  de la matriz  $T$ , esto es:

$$T' = \begin{bmatrix} 1 & 1/2 & 0 \\ -1 & 0 & 1 \\ 0 & -1/2 & -1 \end{bmatrix}$$

Por último, los elementos  $I_{12} = I_{21}$  serán:

$$\frac{-E \left( \frac{d^2 L(X,P)}{dtdp} \right)}{dtdp} = \frac{\sum_i \sum_j f_j (\hat{t} T'_{ij}) (T_{ij} - s_{ij})}{P_{ij}} \quad (A.17)$$

Así, vemos que la matriz de información queda constituida con los elementos obtenidos de las ecuaciones:

$$I = \begin{bmatrix} \text{ec. (A.10)} & \text{ec. (A.17)} \\ \text{ec. (A.17)} & \text{ec. (A.16)} \end{bmatrix}$$

Por último, ésta matriz de información debe ser invertida, constituyéndose en una matriz de varianzas y covarianzas cuyos elementos son los siguientes:

$$I^{-1} = \begin{bmatrix} V(t) & \text{Cov}(p \text{ y } t) \\ \text{Cov}(p \text{ y } t) & V(p) \end{bmatrix}$$

### iii) Genotipo materno desconocido

Cuando el genotipo materno es desconocido, es necesario hacer un procedimiento de dos etapas: la primera etapa consiste en inferir el genotipo materno con base en los genotipos de la prole y estimaciones preliminares de los parámetros del sistema reproductivo ( $p, t, f$ ); procediéndose posteriormente a la construcción de la matriz  $X$  de frecuencias padres-hijos. La segunda etapa consiste en el cálculo de los parámetros del modelo ( $t$  y  $p$ ) siguiendo la metodología descrita en las secciones anteriores.

#### 1ª etapa: obtención del genotipo materno más probable

Dadas  $k$  familias colectadas, los datos de los genotipos de la prole deben ser colocados en una matriz  $D$  de dimensiones  $3 \times k$ , cuyo  $i$ - $k$ -ésimo elemento contiene el número de individuos de genotipo  $i$  en la  $k$ -ésima familia, esto es:

$$D = \begin{bmatrix} d_{11} & d_{12} & \dots & d_{1k} \\ d_{21} & d_{22} & \dots & d_{2k} \\ d_{31} & d_{32} & \dots & d_{3k} \end{bmatrix}$$

Si definimos  $M$  como una matriz de dimensiones  $k \times 3$ , cuyo  $1$ - $j$ -ésimo elemento contiene la probabilidad de que el genotipo  $j$  sea el genotipo materno de la  $k$ -ésima familia.



$$M = \begin{bmatrix} m_{11} & m_{12} & m_{13} \\ m_{21} & m_{22} & m_{23} \\ \vdots & \vdots & \vdots \\ m_{k1} & m_{k2} & m_{k3} \end{bmatrix}$$

Los elementos k-j de la matriz M se obtienen utilizando el teorema de Bayes de probabilidad a posteriori. La metodología es la siguiente (Brown y Allard, 1970; Ritland, 1981; 1983):

$$m_{kj} = f_j \prod_i (P_{ij}^{D_{ik}}) \quad \text{con } P_{ij} \neq 0$$

Esto es, el k-j-ésimo elemento de M es estimado al elevar cada elemento de la j-ésima columna de P a la potencia de cada elemento correspondiente en la k-ésima columna de D y multiplicando el producto de éstos tres términos por la j-ésima frecuencia genotípica materna ( $f_j$ ). Finalmente se normaliza el producto con respecto a todo el renglón de M. De este modo, tenemos que  $M_{kj}$  es entonces la probabilidad de que el genotipo j sea el verdadero progenitor materno de la k-ésima familia, dados P, f, y los datos de la k-ésima columna de D.

Una vez que se tiene la matriz M completa existen dos posibilidades:

1) Escoger el genotipo materno con mayor probabilidad para cada familia como el único a usar en subsiguientes cálculos; entonces, los elementos de los renglones de M se convertirán en cero excepto el máximo valor de cada renglón, en el cual éste valor será de uno. (Brown y Allard, 1970). De este modo, la matriz X de frecuencias padres-hijos será:

$$X = D M$$

donde X es el producto de dos matrices y tendrá necesariamente valores enteros en sus elementos.

2) Respetar la probabilidad de cada genotipo materno en la matriz M sin modificarla. En este caso, al igual que antes,  $X=DM$ . Aquí, los valores de X no serán necesariamente enteros.

2ª etapa: Una vez que se tiene la estimación de la matriz X, se procede a calcular la tasa de entrecruzamiento y la frecuencia de polen de igual manera como se describió anteriormente.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Allard, R. W. & P.L. Workman. 1963. Population studies in predominantly self-pollinated species. IV. Seasonal fluctuations in estimated values of genetic parameters in lima bean populations. Evolution 17: 470-480.
- Allen, G. 1983. La ciencia de la vida en el siglo XX. Breviarios 342, Fondo de Cultura Económica, México.
- Allendorf, F.W. & R.F. Leary. 1986. Heterozygosity and fitness in natural populations of animals. En Soulé M.E. (Ed.) Conservation biology. Sinauer Associates Pub. USA.
- Alvarez, J., J. Carabias, J. Meave, P. Moreno, D. Nava, F. Rodríguez, C. Tovar y A. Valiente. 1986. Proyecto para la creación de una reserva en el Pedregal de San Angel. Cuadernos de ecología No.1 Facultad de Ciencias, UNAM.
- Barrett, S.C. & J.S. Shore. 1987. Variation and evolution of breeding systems in the Turnera ulmifolia complex (Turneraceae). Evolution 41(2):340-354.
- Bassiri, A. & M.W. Adams. 1978. An electrophoretic survey of seedling isozymes in several Phaseolus species. Euphytica 27:447-459.
- Bijlsma, R., R.W. Allard & A.L. Kahler. 1986. Nonrandom mating in an open-pollinated maize population. Genetics 112:669-680.
- Blackwall, F.L.C. 1971. A study of the plant/insect relationship and pod-setting in the runner bean (Phaseolus multiflorus). J. Hort. Sci. 46:365-379.
- Brown, A.H.D. 1979. Enzyme polymorphism in plant populations, Theor. Pop. Biol. 15:1-42.
- Brown, A.H.D., A.C. Matheson, K.G. Eldridge. 1975. Estimation of the mating system of Eucalyptus obliqua L'Hérit by using allozyme polymorphisms, Aust. J. Bot. 23:931-949.
- Brown, A.H.D. & G.F. Moran. 1981. Isozymes and the genetic resources of forest trees, En Proceedings of the symposium on isozymes of North American forest trees and forest insects, Berkeley, Cal. USA. pp:1-10.
- Brown, A.H.D., S.C.H. Barrett, G.F. Moran. 1985. Mating system estimation in forest trees: models, methods and meanings,. En Gregorius, H.R. (Ed.) Population genetics in forestry, Springer-Verlag, Berlin. pp:32-49.
- Buishand, T.J. 1956. The crossing of beans (Phaseolus spp.). Euphytica 5:41-50.
- Búrquez, J.A. 1979. Biología floral de poblaciones silvestres y cultivadas de Phaseolus coccineus L. Tesis de Licenciatura, Facultad de Ciencias, UNAM.
- Búrquez, A. y J. Sarukhán. 1980. Biología floral de poblaciones silvestres y cultivadas de Phaseolus coccineus L. I. Relaciones planta-polinizador. Bol. Soc. Bot. México 39:5-27
- Búrquez, A., J. Sarukhán. 1984. Biología floral de poblaciones silvestres y cultivadas de Phaseolus coccineus L. II. Sistemas reproductivos,. Bol. Soc. Bot. México 46:3-12.

- Charlesworth, D., B. Charlesworth. 1987. Inbreeding depression and its evolutionary consequences, . Ann. Rev. Ecol. Syst. 18:237-268.
- CIAT. 1980. Diversidad genética de las especies cultivadas del género Phaseolus. CIAT, Colombia.
- Clegg, M.T. 1980. Measuring plant mating systems, Bio-Science 30(12):814-818.
- Clegg, M.T., A.L. Kahler, R.W. Allard. 1978. Estimation of life cycle components of selection in an experimental plant population, . Genetics 89:765-792.
- Clegg, M.T. & A.H.D. Brown. 1983. The founding of plant populations. En Schonewald-Cox, et al (Eds.) Genetics and conservation. Benjamin/Cummings Pub. Co. Inc. USA. pp:216-228.
- Clegg, M. & B.K. Epperson. 1985. Recent developments in population genetics, En Advances in Genetics, Academic Press, USA. pp:235-268.
- Crawford, D.J. 1983. Phylogenetic and systematic inferences from electrophoretic studies, . En Tanskey, S.D. and T.J. Orton (Eds.) Isozymes in plant genetics. Elsevier Sci. Amsterdam pp:257-287.
- Crow, J.F. 1986. Basic concepts in populations, quantitative, and evolutionary genetics. H.W.Freeman & Cia. N.Y.
- Crow, J.F. & M. Kimura. 1970. An introduction to population genetics theory. Harper & Row Pub. London.
- Cuguen, J., Merzeau, D. & B. Thiebaut. 1988. Genetic structure of the european beech stands (Fagus sylvatica L.) F-statics and importance of mating system characteristics in their evolution. Heredity 60:91-100.
- Delgado, A. 1988. Variation, taxonomy, domestication and germplasm potentialities in Phaseolus coccineus. In P. Gepts (Ed.) Genetic resources of Phaseolus beans. Kluwer Academic Publ. Dordecht, pp:441-463.
- Dobzhansky, T. 1975. Genética del proceso evolutivo. Extemporáneos, México.
- Ehrlich, P.R. & P.H. Raven. 1969. Differentiation of populations. Science 165:1228-1231.
- Ellstrand, N.C. 1984. Multiple paternity within the fruits of the wild radish, Raphanus sativus. Am.Nat. 123:819-828.
- Ellstrand, N.C. & D.A. Levin. 1980. Recombination system and population structure in Oenothera. Evolution 34(5):923-933.
- Ellstrand, N.C. & K.W. Foster. 1983. Impact of population structure on the apparent outcrossing rate of grain sorghum (Sorghum bicolor). Theor. Appl. Genet. 66:323-327.
- Ellstrand, N.C. & D.L. Marshall. 1985. Interpopulation gene flow by pollen in wild radish, Raphanus sativus. Amer. Natur. 126(5):606-616.
- Ellstrand, N.C. & D.L. Marshall. 1986. Patterns of multiple paternity in populations of Raphanus sativus. Evolution 40(4):837-842.

- El-Kassaby, Y.A., M.D. Meagher, J. Parkinson, F.T. Portlock. 1987. Allozyme inheritance, heterozygosity and outcrossing rate among *Pinus monticola* near Ladysmith, British Columbia. Heredity 58:173-181.
- Endler, J.A. 1986. Natural selection in the wild. Princetown Univ. Press, USA.
- Ennos, R.A. 1981. Quatitative studies of the mating system in two sympatric species of *Ipomoea* (Convolvulaceae),. Genetica 57:93-98.
- Ennos, R.A. 1985. The mating system and genetic structure in a perennial grass, *Cynosurus cristatus* L. Heredity 55:121-126.
- Ennos, R.A. & M.T. Clegg. 1982. Effect of population substructuring on estimates of outcrossing rate in plant populations. Heredity 48(2):283-292.
- Epperson B.K. & M.T. Clegg. 1987. First-pollination primacy and pollen selection in the morning glory, *Ipomoea purpurea*. Heredity 58:5-14.
- Falconer, D.S. 1970. Introducción a la genética cuantitativa. CECSA, México.
- Feissinger, P. 1984. Using fluorescent powders to trass the movement of pollen and pollinators, and to obtain relatives estimates of male reproductive success. (manuscrito).
- Fernández, M.P. 1979. Ciclos de vida comparativos de poblaciones de Phaseolus coccineus L. (Leguminosae). Tesis doctoral, Facultad de Ciencias, UNAM.
- Futuyma, D.J. 1986. Evolutionary biology. 2nd. Edition. Sinauer Assoc. Inc. Publishers. USA.
- Fyfe, J.L., N.T.J. Bailey. 1951. Plant breeding studies in leguminous forages crops. J. Agric. Sci. 41:371-378.
- Gepts, P., Kmiecik, K., Pereira, P. & F.A. Bliss. 1988. Dissemination pathways of common bean (*Phaseolus vulgaris*, Fabaceae) deduced from phaseolin electrophoretic variability. I The Americas. Economic Botany 42(1):73-85.
- González de León, D.R. 1985. Horizontal starch gel electrophoresis of plant isozymes: a laboratory guide. (manuscrito).
- Gottlieb, L.D. 1981. Electrophoretic evidence and plant populations, Progr. Phytochem. 7:1-46.
- Guries, R.P. & F.T. Ledig. 1981. Genetic structure of populations and differentiation in forest trees. En Thompson-Conkle, M. (Ed.) Proceedings of the symposium on isozymes of North American forest trees and forest insects. Berkeley, Cal. USA. pp:
- Hamrick, J.L. 1982. Plant population genetics and evolution. Amer. Jour. Bot. 69(10):1685-1693.
- Hamrick, J.L. 1983. The distribution of genetic variation within and between natural plant populations. En Schonewald-Cox, et al (Eds.) Genetics and conservation. Benjamin/Cummings Pub. Co. USA. pp:335-348
- Hamrick, J.L. 1987. Gene flow and distribution of genetic variation in. En Differentiation patterns in higher plants. Academic Press, USA. pp:53-66.

- Hamrick, J.L., J.B. Mitton & Y.B. Linhart. 1981. Levels of genetic variation in trees: influence of life history characteristics, En Proceedings of the symposium on isozymes of North American forest trees and forest insects Berkeley, Cal. USA pp:35-41.
- Hamrick, J.L. & M.D. Loveless. 1986. Isozyme variation in tropical trees: procedures and preliminary results. Biotropica 18(3):201-207.
- Handel, S.N. 1983. Pollination ecology, plant population structure and gene flow. En Real, L. (Ed.) Pollination biology Academic Press N.Y.
- Hedrick, P.W. 1983. Genetics of populations. Science Books Int. USA.
- Hedrick, P.W. 1987. Estimation of the rate of partial inbreeding. Heredity 58:161-166.
- Hedrick, P.W. 1988. Mating systems and evolutionary genetics. In press.
- Hedrick, P.W. & C.C. Cockerham. 1986. Partial inbreeding: Equilibrium heterozygosity and the heterozygosity paradox. Evolution 40(4):856-861.
- Hessing, M.B. 1988. Geitonogamous pollination and its consequences in Geranium caespitosum. Amer. J. Bot. 75(9):1324-1333.
- Jacquard, A. 1970. The genetic structure of populations. Springer Verlag, Berlin, Alemania.
- Jain, S.K. 1979. Estimation of outcrossing rates: some alternative procedures. Crop. Sci. 19:23-26.
- Kaplan, L. 1981. What is the origin of the common bean? Economic Botany 35(2):240-254.
- Kendall, D.A. & B.D. Smith. 1976. The pollinating efficiency of honeybee and bumblebee visits to flowers of the runner bean Phaseolus coccineus L. Jour. Appl. Ecol. 13(3):749-752.
- Kimura, M. 1983. The neutral theory of molecular evolution. Cambridge Univ. Press, USA.
- Lande, R., D.W. Schemske. 1985. The evolution of self-fertilization and inbreeding. Evolution 39(1):24-40.
- Layton, Ch. R., F.R. Ganders. 1984. The genetic consequences of contrasting breeding systems in Plectritis (Valerianaceae),. Evolution 38(6):1308-1325.
- Ledig, T.F. 1986. Heterozygosity, heterosis and fitness in outbreeding plants. En Soulé, M.E. (Ed.) Conservation biology. Sinauer Associates Pub. USA.
- Levin, D.A. 1978. Genetic variation in annual Phlox: self-compatible versus self-incompatible species. Evolution 32:245-263.
- Levin, D.A. 1984. Inbreeding depression and proximity-dependent crossing success in Phlox drummondii. Evolution 38(1):116-127.
- Levin, D.A., H.W. Kerster. 1974. Gene flow in seed plants. Evol. Biol. 7:139-220.
- Lewontin, R.C. 1974. The genetic basis of evolutionary change. Columbia Univ. Press, USA.

- Lewontin, R.C. 1985. Population genetics. In Greenwood, P.J. et al (Eds.) Evolution. Essays in honour of John Maynard Smith. Cambridge University Press, USA.
- Lewontin, R.C., J.L. Hubby. 1966. A molecular approach to the study of genic heterozygosity in natural populations. II. Amount of variation and degree of heterozygosity in natural populations of Drosophyla pseudooscura. Genetics 54:595-609.
- Li, C.C. 1978. First course in population genetics. The Boxwood Press, USA.
- Loveless, M.D. & J.L. Hamrick. 1984. Ecological determinants of genetic structure in plant populations,. Ann. Rev. Ecol. Syst. 15:65-95.
- Manshardt, R.M., M.J. Bassett. 1984. Inheritance of stigma position in Phaseolus vulgaris X Phaseolus coccineus hybrid populations, J. Hered. 75:45-50.
- Marshall, D.F. & R.J. Abbott. 1984. Polymorphism for outcrossing frequency at the ray floret locus in Senecio vulgaris L. III. Causes. Heredity 53(1):145-149.
- Marshall, D.L. & N.C. Ellstrand. 1985. Proximal causes of multiple paternity in wild radish, Raphanus sativus. Amer. Natur. 126(5):596-605.
- Marshall, D.L. & N.C. Ellstrand. 1986. Sexual selection in Raphanus sativus: experimental data on nonrandom fertilization, maternal choice and consequences of multiple paternity. Amer. Natur. 127(4):447-461.
- Mayr, E. 1969. Animal species and evolution. Harvard Univ. Press, USA.
- Mayr, E. 1980. Some thoughts on the History of the Evolutionary Synthesis. En Mayr, E. & W.B. Provine (Eds.) The Evolutionary Synthesis. Harvard Univ. Press, USA. pp:1-48.
- Meagher, T.R. 1986. Analysis of paternity within a natural population of Chamaelirium luteum I. Identification of most-likely male parents. Amer. Natur. 128(2): 199-215.
- Meagher, T.R. & E. Thompson. 1986. The relationship between single parent and parent pair genetic likelihoods in genealogy reconstruction. Theor. Pop. Biol. 29: 87-106.
- Miranda-Colín, S. 1967. Infiltración genética entre Phaseolus coccineus L. y Phaseolus vulgaris L. Serie de investigación No.9. Colegio de Postgraduados, Chapingo, México.
- Miranda-Colín, S. 1979. Evolución de Phaseolus vulgaris y Phaseolus coccineus. En Engelman, E.M. (Ed.) Contribuciones al conocimiento del frijol (Phaseolus) en México. Colegio de Postgraduados, Chapingo, México. pp:83-99.
- Mitton, J.B., P. Knowles, K.B. Sturgeon, Y.B. Linhart. 1981a. Associations between heterozygosity and growth rate variables in three western forest trees, En Proceedings of the symposium on isozymes of North American forest trees and forest insects. Berkeley, Cal. USA. pp:27-34.

- Mitton, J.B.; Y.B. Linhart, M.L. Davis & K.B. Sturgeon. 1981b. Estimation of outcrossing in ponderosa pine, Pinus ponderosa Laws., from patterns of segregation of protein polymorphisms and from frequencies of albino seedlings. Silvae Genetica 30:117-121.
- Nei, M. 1987. Molecular evolutionary genetics. Columbia University Press, USA.
- Nevo, E. 1978. Genetic variation in natural populations: patterns and theory. Theor. Pop. Biol. 13:121-1
- Piñero, D. 1982. Correlation between enzyme phenotypes and physical environment in California populations of Avena barbata and Avena fatua. Ph.D. Thesis. University of California, Davis, USA.
- Piñero, D., L. Eguiarte. 1988. The origin and biosystematic status of Phaseolus coccineus ssp. polyanthus: electrophoretic evidence, Euphytica 37:199-203.
- Price, M.V. & Waser. N.M. 1979. Pollen dispersal and optimal outcrossing in Delphinium nelsoni. Nature 277:294-297.
- Richardson, B.J., P.R. Baverstock, M. Adams. 1986. Allozyme electrophoresis. Academic Press, Australia.
- Ritland, K. 1983. Estimation of mating systems,. En S.D. Tanksley y T.J.Orton (Eds.) Isozymes in plant genetics. Part A. Elsevier Sci.,Amsterdam. pp:289-302.
- Ritland, K. 1984. The effective proportion of self-fertilization with consanguineous matings in inbred populations,. Genetics 106:139-152.
- Ritland, K. 1986. Joint maximum likelihood estimation of genetic and mating structure using open-pollinated progenies. Biometrics 42: 25-43.
- Ritland, K. & S. Jain. 1981. A model for the estimation of outcrossing rate and gene frequencies using n independent loci. Heredity 47(1):35-52.
- Ritland, K. & F.R. Ganders. 1985. Variation in the mating system of Bidens menziesii (Asteraceae) in relation to population substructure. Heredity 55:235-244.
- Roughgarden J. 1979. Theory of population genetics and evolutionary ecology: an introduction. Mc. Millan, USA.
- Schaal, B.A. 1975. Population structure and local differentiation in Liatris cylindracea. Amer. Natur. 109(969):511-528.
- Schaal, B.A. 1980. Measurement of gene flow in Lupinus texensis. Nature 284:450-451.
- Schaal, B.A. & D.A. Levin. 1976. The demographic genetics of Liatris cylindracea Michx. (Compositae). Amer. Natur. 110:191-206.
- Schemske, D.W., R. Lande. 1985. The evolution of self-fertilization and inbreeding. Evolution 39(1):41-52.
- Schoen, D.J. 1982. Genetic variation and the breeding system of Gillia achilleifolia. Evolution 36(2):361-370.
- Schoen, D.J. 1983. Relative fitnesses of selfed and outcrossed progeny in Gilia achilleifolia (Polemoniaceae). Evolution 37(2):292-301.

- Schoen, D.J. & M.T. Clegg. 1984. Estimation of mating system parameters when outcrossing events are correlated. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 81: 5258-5262.
- Schoen, D.J. & M.T. Clegg. 1986. Monte Carlo studies of plant mating system estimation models: the one-pollen parent and mixed mating models. Genetics 112: 927-945.
- Selander, R.K., D.A. Caugant, H. Ochman, J.M. Musser, M.N. Gilmour & T.S. Whittam. 1986. Method of multilocus enzyme electrophoresis for bacterial population genetics and systematics. Appl. and Environ. Microbiol. 51(5):873-884.
- Selander, R.K., J.M. Musser, D.A. Caugant, M.N. Gilmour & T.S. Whittam. 1987. Population genetics of pathogenic bacteria. Microbial Pathogenesis 3:1-7.
- Shaw, D.V. & R.W. Allard. 1981. Analysis of mating system parameters and population structure in Douglas-fir using single locus and multilocus methods. En Thompson-Conkle, M. (Ed.) Proceedings of the symposium on isozymes of North American forest trees and forest insects. Berkeley, USA.
- Shaw, D.V., A.L. Kahler, R.W. Allard. 1981. A multilocus estimator of mating system parameters. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 78(2):1298-1302.
- Shaw, D.V., A.H.D. Brown. 1982. Optimum number of marker loci for estimating outcrossing in plant populations. Theor. Appl. Genet. 61:321-325.
- Shea, K.L. 1987. Effects of population structure and cone production on outcrossing rates in Engelmann spruce and subalpine fir. Evolution 41(1):124-136.
- Slatkin, M. 1985. Rare alleles as indicators of gene flow, Evolution 39(1):53-65.
- Sokal, R.R. & F.J. Rohlf. 1981. Biometry: the principles and practice of statistics in biological research. Second ed. W.H. Freeman, San Francisco.
- Soltis, D.E., C.H. Haufler, D.C. Darrow & G.J. Gastony. 1983. Starch gel electrophoresis of ferns: a compilation of grinding buffers, gel and electrode buffers, and staining schedules. Amer. Fern J. 73:9-27.
- Sousa, M. y A. Delgado. 1979. Herramientas y consideraciones para la revisión del género Phaseolus. En Engleman, E.M. (Ed.) Contribuciones al conocimiento del frijol (Phaseolus) en México. Colegio de Postgraduados, Chapingo, México. pp:59-82.
- Smartt, J. 1970. Interspecific hybridization between cultivated american species of the genus Phaseolus. Euphytica 19:480-489.
- Smartt, J. 1979. Interspecific hybridization in the grain legumes - A review. Economic Botany 33(3): 329-337.
- Thompson-Conkle, M. 1981. Isozyme variation and linkage in six conifer species. En Thompson-Conkle, M. (Ed.) Proceedings of the symposium on isozymes of North American forest trees and forest insects, Berkeley, Cal.



- Vallejos, C.E. 1983. Enzyme activity staining. En Tanksley, S.D. and T.J. Orton (Eds.) Isozymes in plant genetics and breeding, Vol A. Elsevier, Amsterdam. pp:469-516.
- Van Dijk, H. & W. Van Delden. 1981. Genetic variability in Plantago species in relation to their ecology. Theor. Appl. Genet. 60:285-290.
- Waddington, C.H. 1976. Paradigma para un proceso evolutivo. En C.H.Waddington, et al (Eds.) Hacia una biología teórica. Alianza universidad 156, Alianza Ed., España. pp:325-247.
- Wall, J.R. 1970. Experimental introgression in the genus Phaseolus I. Effect of mating systems on interspecific gene flow. Evolution 24:367-377.
- Wall, J.R. & T.L. York. 1957. Inheritance of seedling cotyledon position in Phaseolus species. J. Hered. 48:71-74.
- Warwick, S.I. & L.D. Gottlieb. 1985. Genetic divergence and geographic speciation in Layia (Compositae). Evolution 39(6):1236-1241.
- Wright, S. 1931. Evolution in Mendelian populations,. Genetics 16:97-159.
- Wright, S. 1969. Evolution and the genetics of populations, Vol.2 The theory of gene frequencies. Univ. Chicago Press, Chicago.
- Yeh, F.C. 1981. Analyses of gene diversity in some species of conifers, En Proceedings of the symposium on isozymes of North American forest trees and forest insects, Berkeley, Cal. USA:48-52.