



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

CENTRO DE ECOLOGIA UACPyP - CCH

BIBLIOTECA
CENTRO DE ECOLOGIA

ESTRUCTURA Y VARIACION GENETICA EN
CUATRO ESPECIES DE *Aechmea* (BROMELIACEAE)
en México: *A. mexicana* (Baker), *A. lueddemanniana*
(K. Koch) Brongn. ex Mez in Engl., Pflanzenr., *A.*
macvaughii, L. B. Smith y *A. tuitensis* (P. Magaña y
E. Lott).

T E S I S
PARA OBTENER EL TITULO DE:
DOCTORA EN ECOLOGIA
P R E S E N T A :
L I Z Y. I Z Q U I E R D O

000230167

MEXICO, D. F.

NOVIEMBRE 1995



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

..... Somos la vida y la alegría en constante lucha
contra la tristeza y la muerte.

Kopus Ron
(La política de la alegría)

Contenido

Agradecimientos

Resumen

Abstract

Capítulo 1

INTRODUCCIÓN GENERAL

Capítulo 2

SISTEMA Y SITIOS DE ESTUDIO

Capítulo 3

VARIACIÓN GENÉTICA DENTRO Y ENTRE CUATRO ESPECIES DE
Aechmea CON DISTRIBUCIONES GEOGRÁFICAS CONTRASTANTES.

Capítulo 4

ESTRUCTURA GENÉTICA EN CUATRO ESPECIES DE *Aechmea*

Capítulo 5

RELACIONES FILOGENÉTICAS, CON BASE EN DATOS ALOENZIMÁTICOS,
ENTRE CUATRO ESPECIES DE *Aechmea*

Capítulo 6

DIVERSIDAD Y ESTRUCTURA GENÉTICA INTRAPOBLACIONAL EN
Aechmea tuitensis

Capítulo 7

CONSIDERACIONES FINALES

Conclusiones

Apéndices

Bibliografía

AGRADECIMIENTOS

- A Daniel Piñero quien dirigió este trabajo y me ha dado todo su apoyo durante estos cinco años. Gracias por su paciencia para conmigo.

- A los miembros del jurado, Dra. Elena Álvarez-Buylla, Dr. Luis Eguiarte, Dr. Ken Oyama, Dr. Glenn Furnier, Dr. Victor Rico Gray y Dr. Juan Nuñez por la revisión del manuscrito y por sus valiosos comentarios. En particular me gustaría agradecer a Luis y a Ken por dedicarme parte de sus tiempos y explicarme las fallas del trabajo. A Elena, muchísimas gracias por su confianza en mí y por el apoyo que me ha dado en todas las oportunidades que se lo he solicitado.

- A la Fundación Noyes-Smith por el apoyo económico para hacer el doctorado

- A Intercambio Académico, (U.N.A.M.), por apoyarme económicamente con una beca complementaria durante año y medio del doctorado

- El trabajo de campo y el de laboratorio fue posible gracias al presupuesto operativo con que cuenta el laboratorio de genética y evolución. En las salidas de campo colaboraron, Lalo Morales, Saúl Segura, Rodolfo Solano, Walter Smichd, Ernesto Vegas, Miguel Angel Soto, Cesar Carrillo y El Charro. A todos, gracias.

- A Patricia Magaña, Clara Ramos y Esteban Martínez por sus valiosas informaciones acerca de las Bromelias y de las localidades.

- Gaby Jiménez y Alvaro Chaos, mil gracias por atender siempre mis dudas constantes de computo.

- A Virgilio, Ernesto, Gloria, Alicia, Carolina, Chelito y Paty por su apoyo en cada uno de los tramites que me ha tocado llevar a cabo.

- Por los ratos buenos, divertidos y académicos que he pasado con los compañeros del laboratorio de genética y evolución: Nidia Pérez, Fabián Vargas, Lalo Morales, Gaby Aramoni, América Castañeda, Elleli Huerta, Ella Vazquez, Erika Aguirre y Oscar Rodríguez. En especial a Ella por su amistad

y a Amériquita por su amistad, sus invitaciones a comer, solidaridad e intercambio de ideas y angustias.

- A mis amigos del Centro de ecología: Raul Alcalá, Silvia Phillip, Leticia Durán, Cris Rodríguez, Alejandra Nuñez, Marcela Osorio, Tino Macías, Julio Campos.

- Un cariño muy especial para Consuelo Bonfil, por ser tan solidaria y apapachadora, Mely Mandujano, por su amistad y solidaridad desde el primer día de clases, Pilar Rodríguez, por ser tan buena amiga, por haber sido hada madrina de un proyecto fallido y por ese caracter tan apacible que tiene, Cristina Mourelle, por su amistad y solidaridad incondicional desde que llegue a este país, Raúl Gazca, por todos los ratos en los cuales hemos intentado reconstruir y salvar el amor, la vida y los desamores, acompañados siempre de un café, Roxana Torres y Alice Altesor, por ser tan buenas amigas, solidarias, pero principalmente por nuestras coincidencias. En estos últimos meses ha sido maravilloso tener la compañía y solidaridad de Jorge Larson. Particularmente le agradezco haber respetado mis tiempos y la revisión editorial que hizo del manuscrito y sus comentarios. Todos ustedes han hecho de este tiempo algo maravilloso, han sido parte importante de mi vida en México.

- A mi madre, Guillermina, mi hermano Hugo (mi pupilo), mis hermanas, Mireya e Ivonne, gracias por estar siempre pendientes de esta mujer en tierra lejana. A mis sobrinos, Marioxi, Oswaldo, Marlon, Raúl e Isis, por haberlos visto crecer y disfrutar de sus sonrisas. A mis abuelas, por tenerlas todavía.

Y finalmente a Liz por haberlo logrado!!.

RESUMEN

Utilizando isoenzimas se investigó la estructura y variación genética en cuatro especies del subgénero *Podaechmea*, género *Aechmea* (Bromeliaceae) en México, dos de amplia distribución (*A. mexicana* y *A. lueddemanniana*) y dos endémicas extremas (*A. macavughii* y *A. tuitensis*). Se muestrearon ocho poblaciones de *A. mexicana*, siete de *A. lueddemanniana*, una de *A. macavughii* y una *A. tuitensis*. Todas las especies mostraron niveles moderadamente bajos de variación genética. *A. mexicana* presentó los valores más bajos en el número promedio de alelos por locus polimórfico (2.4), porcentaje de loci polimórficos (49%) y heterocigosis observada (0.054). Las dos especies endémicas extremas tuvieron mayores valores de alelos por locus polimórfico que el promedio de los valores de *A. lueddemanniana* (2.5 y 2.6 en *A. macavughii* y *A. tuitensis*, respectivamente). La distribución geográfica no resultó ser un buen predictor de la variación genética en estas especies. En la mayoría de las poblaciones estudiadas se observó un exceso de homocigotos. Esto indica que la autofertilización ha sido importante en la evolución del grupo. Los valores de F_{st} en las especies de amplia distribución reflejan una gran heterogeneidad entre las poblaciones, los valores promedio fueron de 0.569 en *A. mexicana* y 0.311 en *A. lueddemanniana*.

Las relaciones filogenéticas entre las especies fue examinada utilizando datos electroforéticos. Algunas poblaciones de especies diferentes estuvieron más cerca filogenéticamente que algunas que pertenecían a la misma especie. Los resultados indican que *A. macavughii* es la especie filogenéticamente más alejada dentro del grupo. Cada población pareciera tener una composición genética diferente.

Se analizó la estructura y variación genética intrapoblacional en nueve subpoblaciones de *A. tuitensis*, una especie clonal. Los niveles de polimorfismo genético encontrados fueron relativamente altos para ser una especie endémica extrema. La mayoría de las subpoblaciones estuvieron en equilibrio de Hardy-Weinberg y presentaron poca diferenciación ($F_{st} = 0.196$). También, se investigó la diversidad genética clonal en esta especie. Se detectaron 33 genotipos multilocus (genets) y una alta diversidad genética clonal (DG= 0.878). El genet más abundante tuvo una frecuencia igual a 32.11%, los genets únicos, en conjunto presentaron una frecuencia igual a 17.43%. Los resultados sugieren que en esta especie se presentan eventos de reproducción sexual.

ABSTRACT

The genetic variation and structure of four species of *Podaechmea* subgenus, *Aechmea* genus that have contrasting geographic distributions was examined by electrophoretic analysis. *Aechmea mexicana* and *A. lueddemanniana* are widely spread and *A. macavughii* and *A. tuitensis* have a restricted distribution. Eight populations of *A. mexicana* were collected, seven of *A. lueddemanniana* and one of each of the remaining two. All species had moderately low levels of genetic variation. *A. mexicana* showed the lowest mean number of alleles per polymorphic locus (2.4), percent of polymorphic loci (49%) and observed heterozygosity (0.054). The two geographically restricted species had higher mean number of alleles per polymorphic locus than *A. lueddemanniana* (2.5 for *A. macavughii* and 2.6 for *A. tuitensis*). Geographic distribution was a poor predictor of genetic diversity in these species. Most of the populations studied showed an homozygotes excess. This indicates that selfing has been an important factor in the evolution of the group. The F_{st} values found in the widespread species reflects a high differentiation between populations, mean values were 0.615 in *A. mexicana* and 0.321 in *A. lueddemanniana*.

The filogenetic relationships between these species was examined using electrophoretic data. Some populations belonging to different species are genetically closer than other from the same species. Each population seems to have a specific genetic composition.

The genetic diversity within nine subpopulations of *A. tuitensis*, a clonal herb, was analyzed. The subpopulations had high genetic polymorphism levels considering that it is an extreme endemic. Most of the subpopulations were in Hardy-Weinberg equilibrium and showed low differentiation. Clonal diversity was also examined in *A. tuitensis*. Thirty three multilocus genotypes (genets) and a high clonal diversity ($DG= 0.878$) were found. The most common genet had a frequency equal to 32.11% and the unique ones, all together, had 17.43%. These results suggest that in this species occurs sexual reproduction.

PRESENTACIÓN

Esta tesis se propone estudiar la diversidad, estructura y relaciones filogenéticas en cuatro especies del género *Aechmea* (Bromeliaceae), *A. mexicana*, *A. lueddemanniana*, *A. macvaughii* y *A. tuitensis*, que tienen distribuciones geográficas contrastantes. Con base en estos aspectos se analizarán las fuerzas evolutivas que pueden estar detrás de los patrones observados y se sugerirán las estrategias de conservación más adecuadas.

La tesis se divide en siete capítulos. El capítulo uno corresponde a la introducción general y al contexto teórico del trabajo. El capítulo dos menciona las características de las especies estudiadas y localidades muestreadas. El capítulo tres versa sobre los niveles de diversidad genética en estas especies que presentan distribuciones geográficas contrastantes. En el capítulo cuatro se analiza la estructura genética de todas las especies. Las relaciones filogenéticas entre estas especies se tratan en el capítulo cinco. En el capítulo seis se hace un análisis intrapoblacional de la distribución de la variación genética y de la diversidad genética clonal de *A. tuitensis*. Finalmente, en el capítulo siete se dan las consideraciones finales.

CAPÍTULO 1

INTRODUCCIÓN GENERAL

1. 1 GENÉTICA DE POBLACIONES

La genética de poblaciones es la disciplina que describe y analiza la variación genética dentro y entre poblaciones a partir de las frecuencias alélicas y genotípicas. La interpretación de esta variación en los organismos diploides se fundamenta en la ley de Hardy-Weinberg, la cual establece que en poblaciones panmíticas y en ausencia de fuerzas evolutivas como migración, selección, deriva y mutación, las frecuencias alélicas permanecen constantes de generación en generación, lo que permite predecir las frecuencias genotípicas a partir de las alélicas (Richardson *et al.*, 1986; Burns y Bottino, 1989; Hartl y Clark, 1989). Si los genotipos observados no guardan la relación que se esperaría por azar, entonces alguna de las fuerzas evolutivas está influyendo determinantemente en el patrón observado.

En este trabajo nos interesan la endogamia y las fuerzas evolutivas, deriva génica y flujo génico. La deriva génica es una fuerza que cambia las frecuencias alélicas simplemente por azar (errores de muestreo) durante la transmisión de genes de una generación a otra. La deriva puede ser importante en poblaciones pequeñas. Simulaciones del comportamiento de las frecuencias alélicas durante varias generaciones en poblaciones con menos de 20 individuos han demostrado, por un lado, que estas presentan fuertes fluctuaciones y, por otro, que en cada locus uno de los alelos tiende a fijarse (Lacy, 1987; Hartl y Clark, 1989; Eguiarte, 1990; Ellstrand y Elam, 1993).

Una de las consecuencias más importantes de la acción de la deriva génica es la pérdida de variación genética a nivel de la subpoblación.

La endogamia es un término que se refiere al apareamiento entre parientes y, al igual que la deriva génica, aleja a las poblaciones del equilibrio de Hardy-Weinberg e incrementa significativamente la proporción de homocigos. Existe una relación entre la endogamia, bajos niveles de heterocigosis y alta subdivisión entre poblaciones. Mucho se ha dicho acerca de los efectos negativos que causa la autofertilización, que no es más que una endogamia extrema. El ejemplo clásico es la depresión por endogamia, fenómeno que disminuye la adecuación relativa del individuo a consecuencia de la expresión de alelos letales y deletéreos (Franklin, 1980; Hartl y Clark, 1989; Eguiarte, 1990; Barrett y Kohn, 1991; Primack, 1993). Sin embargo, estos efectos pueden ser contrarrestados por la acción de la selección natural (Lynch, 1977).

El flujo génico es una fuerza evolutiva cuyo efecto sobre las poblaciones naturales depende de interacciones complejas entre las otras fuerzas evolutivas (Hamrick, 1987). En general, el movimiento de genes entre poblaciones homogeniza la variación genética contenida en estas (Slatkin, 1987).

1.2. BIOLOGÍA DE LA CONSERVACIÓN

En este siglo, a consecuencia de los procesos de desarrollo y crecimiento poblacional, la destrucción de hábitats y especies está ocurriendo

a una tasa muy alta. Ello ha generado en los últimos años una preocupación activa en torno a la conservación de la diversidad biológica, tanto *in situ* como *ex situ* (Lande, 1988; Simberloff, 1988; Eguiarte *et al.*, 1992; Meffe y Carrol, 1994).

En el diseño de estrategias de conservación de especies se han utilizado datos demográficos y muy recientemente genéticos (Eguiarte y Piñero, 1990; Nunney y Campell, 1993). Estos últimos, se han convertido en información importante para establecer estrategias de conservación, debido al gran desarrollo que han tenido las diferentes técnicas moleculares en estas tres últimas décadas. Sin embargo, como es difícil conservar todo, es necesario jerarquizar, establecer prioridades.

Las especies con distribuciones geográficas restringidas, bajas densidades y que crecen en hábitats muy específicos, aislados, son más propensas a experimentar los efectos de la deriva génica y a presentar altos niveles de divergencia poblacional en comparación a aquellas que son más grandes y se encuentran menos aisladas (Godt y Hamrick, 1993). Sin embargo, este patrón puede modificarse dependiendo de los niveles de flujo génico que ocurran dentro y entre las poblaciones y del sistema de cruzamiento predominante en la especie. Las especies que estén dentro de esta categoría son las que potencialmente están en peligro de desaparecer y en consecuencia, son las más urgentes a estudiar y conservar.

1.3. EPÍFITAS

Las epífitas vasculares son plantas de vida libre, que pasan total o parcialmente su ciclo de vida unidas a otra planta y presentan una variedad de adaptaciones morfológicas y fisiológicas que facilitan su sobrevivencia en ambientes muy desfavorables. El epifitismo ha evolucionado de manera independiente en numerosas familias de plantas (Benzing, 1987; Lüttge, 1989). Los sustratos donde crecen las epífitas presentan severas restricciones al desarrollo de las poblaciones ya que, en general son hábitats discontinuos e inestables. En definitiva son hábitats extremos que seguramente han ejercido una presión particular en la evolución de plantas con esta forma de vida (Benzing, 1990).

En las Bromeliaceae, segunda familia con mayor número de especies epífitas, los aspectos fisiológicos y ecológicos determinantes en su evolución han sido extensivamente estudiados (Medina *et al.*, 1977; Smith *et al.*, 1986; Lüttge, 1989; Benzing, 1990). Sin embargo, en el contexto genético la información es bastante escasa. Qué tanta diversidad genética contienen estas poblaciones, cómo se distribuye esa variación, qué fuerzas evolutivas son más importantes. Qué tipo de estrategias reproductivas tienen para garantizar la producción de semillas en ambientes tan inestables, son preguntas por responder.

CAPÍTULO 2

SISTEMAS Y SITIOS DE ESTUDIO

2.1 EPIFITISMO

Tres de las especies seleccionadas para este trabajo se encuentran predominantemente como epífitas, que son plantas de vida libre y pasan total o parcialmente su ciclo de vida unidas a otra planta. Presentan un crecimiento lento y alta longevidad (Benzing, 1987).

El origen del epifitismo aún no está del todo claro. Se cree que evolucionó de manera independientemente en cada una de las familias de plantas vasculares y helechos que lo presentan. Hay dos hipótesis para explicar su aparición, una propone que los hábitats ancestrales fueron húmedos y oscuros y que las especies se acercaron progresivamente al dosel desde el sotobosque (Schimper, 1888). La segunda hipótesis plantea que estos ambientes primarios, en el caso de las bromelias, eran secos y expuestos (Pittendrigh, 1948). Hoy en día hay evidencias de que ambas propuestas son ciertas, pero, para diferentes linajes y que los mecanismos de fijación de carbono han sido importantes en la conquista del espacio aéreo (Griffiths, 1989). Los primeros registros geológicos que se tienen de epífitas datan de finales del Eoceno. Sin embargo, la radiación masiva parece haber ocurrido a partir del Plioceno-Pleistoceno (Benzing, 1989).

La flora epífita vascular es poco diversa en climas templados. Son plantas asociadas al trópico y subtropical, aunque su diversidad y abundancia es muy variable dentro de estas comunidades. En general, los bosques nublados o mesófilos, de elevación intermedia son los que exhiben mayor cantidad de epífitas. En el interior de un bosque la distribución vertical de estas plantas responde a condiciones microclimáticas y mecánicas (Gentry y Dodson, 1987; Benzing, 1990).

2.2 BROMELIAS

Dentro de las epífitas las Bromeliaceae ocupan el segundo lugar en número de especies con este hábito. De un total de 2,500 especies reportadas, 1,144 (45.76%) son epífitas (Benzing, 1990). La familia presenta una distribución esencialmente neotropical, aunque se encuentran desde la parte oriental de Virginia en los Estados Unidos (alrededor de los 38° N) hasta la región central de Argentina y Chile (alrededor de los 44° S). Se postulan tres centros de dispersión para el grupo: Los Andes, las tierras altas de Guayana y la región oriental de Brasil. La familia se divide en tres subfamilias: Pitcairnioidae, Bromelioideae y Tillandsioidae (Smith y Downs, 1974, 1977 y 1979).

Las especies consideradas en este trabajo pertenecen al subgénero *Podaechmea*, género *Aechmea* y subfamilia Bromelioideae. El género incluye unas 250 especies agrupadas en ocho subgéneros (Smith y Downs, 1979).

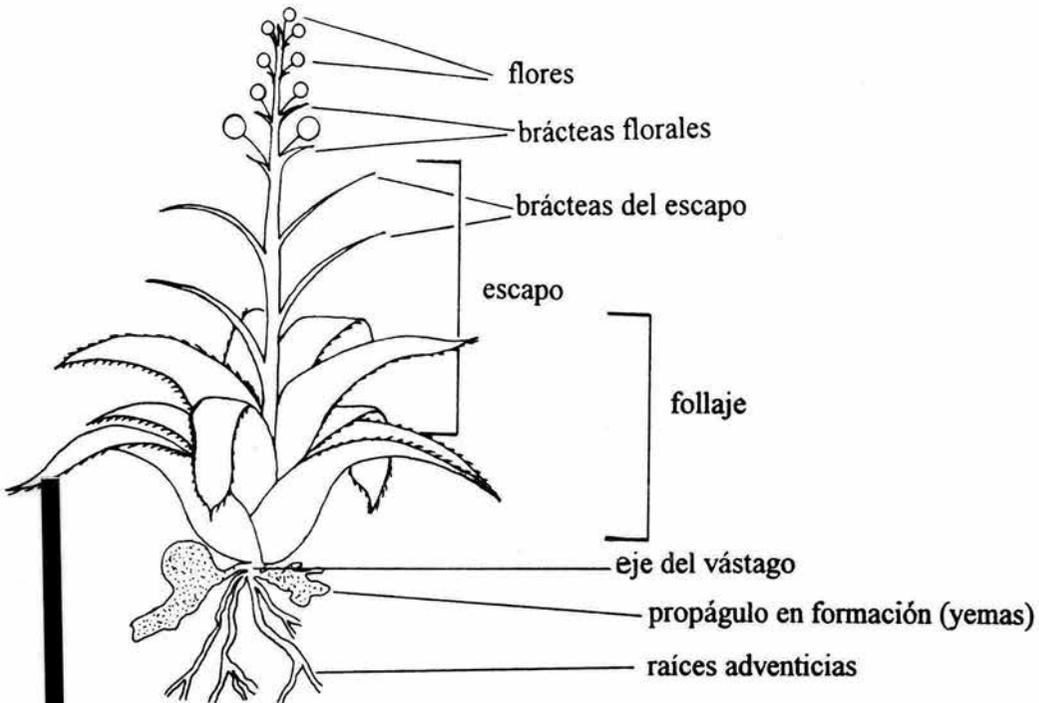


Fig. 2.1. Esquema de una planta de *Podaechmea* con su inflorescencia y yemas en la base de los ejes foliares (tomado de Benzing, 1897).

2.2.1 CARACTERÍSTICAS GENERALES

Las especies de *Podaechmea* son plantas monocotiledóneas, herbáceas, perennes, epífitas, saxícolas (que crecen sobre rocas) y raramente terrestres. Presentan una alta producción vegetativa a través de yemas que aparecen en los ejes foliares de plantas adultas con orientaciones tipo simpodial-dicásica (Fig. 2.1). Sus hojas, arrosetadas y espinosas forman en muchos casos una especie de recipiente donde se acumula agua que se utiliza en períodos de déficit hídrico y permite la asociación de una flora y fauna

particular a ese microhábitat (Pittendrigh, 1948; Benzing, 1987). El largo y el ancho de las hojas va de 30 a 120 y de 5 a 7 cm, respectivamente. La inflorescencia es terminal, con una única floración por eje y presenta varias partes que constituyen un eje central en forma de un racimo sostenido por un escapo alargado, recto o péndulo, según la especie, seguido por brácteas muy rojas. Las flores son típicas de monocotiledóneas, trímeras, bisexuales, con tres sépalos muy coloridos y compactos, tres pétalos. Los estambres se disponen en dos círculos de tres. El ovario es ínfero y resulta de la fusión de tres carpelos. Un número considerable de especies son autocompatibles y pueden producir frutos sin ser fertilizadas, pero también hay evidencias de polinización por colibríes, murciélagos y abejas (Ackerman, 1986; Bernardello *et al.*, 1991). En general, producen un néctar rico en azúcares pero bajo en aminoácidos (Bernardello *et al.*, 1991). El fruto es una baya con semillas pequeñas (2-3 mm) y sin apéndices. Son dispersadas por animales, especialmente aves, y por viento (Smith y Downs, 1974).

2.2.2 DISTRIBUCIÓN

Las especies de *Podaechmea* se distribuyen de manera discreta desde la parte meridional de México hasta Perú (Fig. 2.2). El grupo está conformado por seis especies (Smith y Downs, 1979); *Aechmea mexicana* (Baker), *A. lueddemanniana* (K. Koch) Brongn. ex Mez in Engl., Pflanzenr. IV, *A. ferruginea* L. B. Smith, Contr., *A. macvaughii*, L. B. Smith, *A. galeottei* (Baker) y *A. tuitensis* (P. Magaña y E. Lott). De estas, *A. mexicana* y *A. lueddemanniana* tienen varias poblaciones a lo largo de México y América Central, mientras que *A. macvaughii* sólo tiene reportadas dos

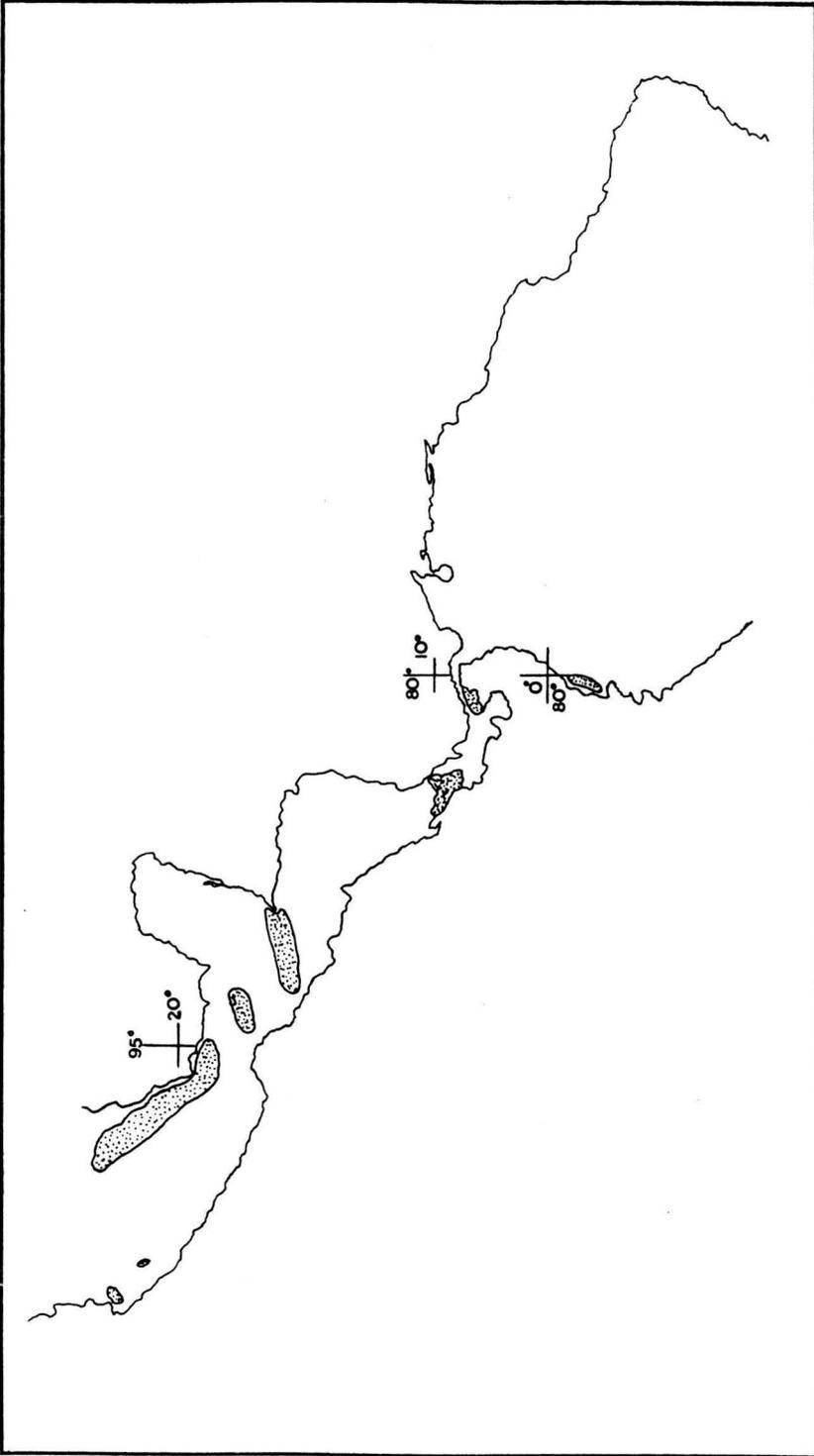


Fig. 2.2. Distribución geográfica de las especies de *Podaechmea* (Bromeliaceae)

poblaciones en México. Cada una de las especies restantes sólo tienen reportada una población en el mundo, *A. ferruginea*, endémica para Perú y *A. tuitensis* y *A. galeottei* endémicas a México. Es interesante señalar que sólo existe un registro de *A. ferruginea* que data del siglo pasado en el Herbario Nacional de Lima. Es posible que esta especie haya desaparecido.

Tabla 2.1. Localidades de todas las poblaciones colectadas en México de las especies: *Aechmea mexicana*, *A. lueddemanniana*, *A. macvaughii* y *A. tuitensis*.

Especie	No pobl.	Nombre	Estado	Localidad
<i>A. mexicana</i>	1	VAL	Jalisco	21.5 Km al sur del camino Pto. Vallarta a Barra de Navidad
	2	SAG	Oaxaca	San Agustín, Jacatepec, camino Tuxtepec a Matías Romero
	3	NEC	Puebla	Tlaxcalantongo, camino Nuevo Necaxa a Xicotepec de Juárez
	4	COR	Veracruz	Santa Ana, Amatlán de los Reyes.
	5	SAT	Oaxaca	San Antonio, Jacatepec
	6	HID	Veracruz	Laguna, Hidalgotitlán
	7	XIL	S.L. Potosí	Las Pozas-La Conchita, Xilitla
	8	COF	Chiapas	cerca de Crucero Corozal, camino Palenque-Bonampak
<i>A. lueddemanniana</i>	1	HID	Veracruz	Laguna, Hidalgotitlán
	2	MAR	Veracruz	camino Coyame-Tebanca, Sierra de Santa Marta
	3	TUX	Veracruz	Est. Biol. Los Tuxtlas
	4	PER	Veracruz	alrededores de Dos Amates, camino Catemaco-Sontecomapan
	5	OCO	Chiapas	Laguna Ocotitalito
	6	HUA	Oaxaca	a 15 Km de la bifurcación Huautla-Usila, vía Huautla
	7	BER	Chiapas	camino Berriozabal-Rancho El Suspiro
<i>A. macvaughii</i>	1	MACV	Colima	12 Km al SO de Pihuamo
<i>A. tuitensis</i>	1	TUIT	Jalisco	terracería hacia la mina, El Tuito

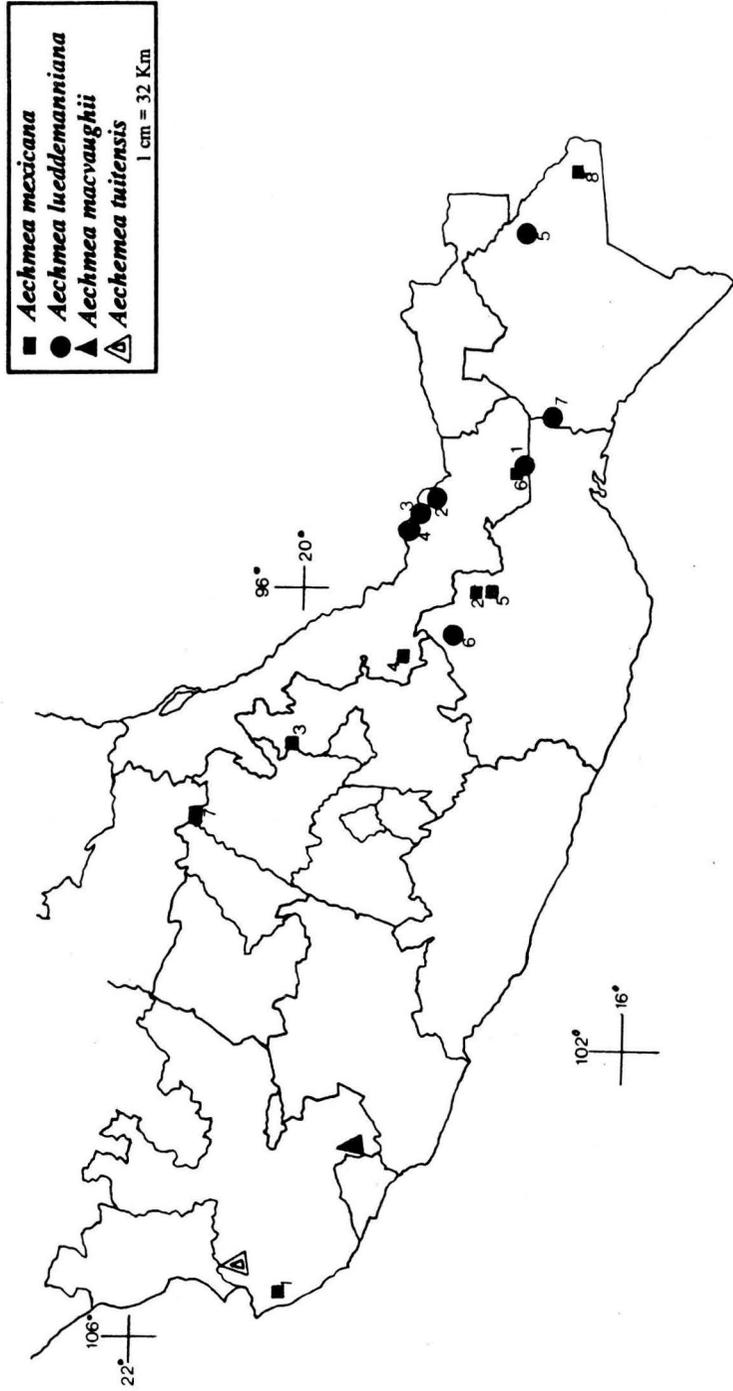
Aechmea galeotti nunca se encontró en la localidad reportada (Paso del Macho, Veracruz), ni en los sitios aledaños visitados. La ubicación geográfica de las poblaciones muestreadas en este trabajo se presentan en la tabla 2.1. y en la Fig. 2.3. *Aechmea mexicana* y *A. lueddemanniana* presentan una distribución muy disyunta y como consecuencia de la alteración de sus hábitats el número de poblaciones de estas especies ha disminuido considerablemente. En la tabla 2.2 se presentan algunas

Tabla 2.2. Características climáticas de las localidades muestreadas para las especies: *Aechmea mexicana*, *A. lueddemanniana*, *A. macvaughii* y *A. tuitensis* en México*. La precipitación, pp, se da en mm y la altitud en msnm.

Especie	No. Pobl.	Vegetación**	pp	Altitud
<i>A. mexicana</i>	1	Bosque Tropical Subcaducifolio	1,430	100
	2	Bosque Tropical Perennifolio	3,878	350
	3	Bosque Mesófilo de Montaña	2,920	550
	4	“ “	2,148	650
	5	Bosque Tropical Perennifolio	3,878	350
	6	Bosque Tropical Perennifolio	2,384	130
	7	Bosque Mesófilo de Montaña	2,023	550
	8	Bosque Tropical Perennifolio	3,304	160
<i>A. lueddemanniana</i>	1	Bosque Tropical Perennifolio	2,384	130
	2	“ “	4,562	970
	3	“ “	4,600	150
	4	“ “	4,600	700
	5	“ “	3,304	1,300
	6	“ “	2,640	800
	7	“ “	800	1,100
<i>A. macvaughii</i>	1	Bosque Tropical Caducifolio	906	550
<i>A. tuitensis</i>	1	Bosque de Pino-Encino	1,900	1,500

*tomado de García (1987). **Rzedowski (1988).

Fig. 2.3. Distribucion geográfica de las poblaciones colectadas de las especies *Aechmea mexicana*, *A. lueddemanniana*, *A. macvaughii* y *A. tuitensis* en México. Las colectas se realizaron entre enero de 1993 y mayo de 1994.



características ecológicas de las localidades muestreadas. *Aechmea mexicana* tiene reportada más poblaciones y en mayor variedad de tipos de vegetación que *A. lueddemanniana*, la cual sólo se presenta en bosques tropicales perennifolios (Smith y Downs, 1979), pero en un intervalo más amplio de altitud sobre el nivel del mar (130-1,300).

Aechmea macvaughii es una especie epífita y saxícola (crecimiento sobre rocas), se presenta en clones o como individuos aislados, es endémica para México, su tamaño poblacional es de 100-150 individuos aproximadamente. Ha sido reportada para dos localidades (Smith y Downs, 1979). Sin embargo, sólo se logró muestrear en Pihuamo, Jalisco (bosque tropical caducifolio), ya que el sitio ubicado en el municipio Ixtlahuacán en el estado de Colima, ha sido prácticamente destruido con fines agropecuarios.

Aechmea tuitensis es también endémica para México y es la única especie del grupo que no es epífita. Forma clones sobre rocas, en un bosque de pino encino a 1,500 msnm. Sólo está reportada para una localidad ubicada en El Tuito, Jalisco (Magaña y Lott, 1987).

CAPÍTULO 3

VARIACIÓN GENÉTICA DENTRO Y ENTRE CUATRO ESPECIES DE *Aechmea* CON DISTRIBUCIONES GEOGRÁFICAS CONTRASTANTES.

3.1 INTRODUCCIÓN

Numerosos estudios realizados en las últimas tres décadas han demostrado la gran cantidad de variación genética existente en poblaciones naturales, tanto dentro, como entre grupos taxonómicos, incluyendo bacterias (Selander *et al.*, 1987; Souza, 1990; Souza *et al.*, 1992), plantas (Levin, 1978; Hamrick *et al.*, 1979; Eguiarte, 1990; Hamrick y Godt, 1990) y animales (Lewontin y Hubby, 1966; Nevo, 1978). La variación genética total contenida dentro de las especies puede dividirse en regiones, poblaciones e individuos dentro de poblaciones. A través del estudio de la dinámica de la variación genética (estructura espacio-temporal) podemos tener una aproximación de como han evolucionado las especies. Esta variación resulta de la acción conjunta de la mutación, la migración, la selección y la deriva génica sobre las características ecológicas, el tamaño efectivo de la población, los sistemas de apareamiento y los mecanismos de dispersión de polen y semillas (Nevo, 1978; Loveless y Hamrick, 1984; Hamrick, 1987; Eguiarte, 1990; Hamrick y Godt, 1990; Barrett y Kohn, 1991; Eguiarte *et al.*, 1993).

Para la biología de la conservación el estudio y análisis de las especies raras es fundamental por ser éstas las más vulnerables y con mayor riesgo

(potencial) de desaparecer. Además, la rareza como fenómeno ha sido motivo de preocupación desde Darwin, quien señaló que la rareza precedía a la extinción. Watson (1870), acuñó el término en su compendio sobre las plantas de Gran Bretaña y lo utilizó para referirse a "aquellas plantas sin ninguna afinidad geográfica o hábitat específico claro". Sus ideas influenciaron mucho a Darwin, Wallace y otros. Para Darwin la definición de rareza incluía factores geológicos, evolutivos, ecológicos, geográficos y genéticos. Es interesante destacar que, después de muchas controversias (durante este siglo) en relación a las causas de la rareza, la idea de Darwin se ha retomado (Fiedler, 1986). Para Harper (1977) las poblaciones pueden ser pequeñas porque existen pocos sitios *ad hoc* muy separados entre sí que limitan la dispersión de la especie, por baja capacidad de carga del sitio o porque la colonización apenas está ocurriendo.

Las causas que determinan la rareza en cada especie pueden ser diferentes y deberse a factores ecológicos, genéticos, de historia de vida, historia evolutiva, dinámica poblacional, perturbaciones humanas y biología reproductiva (Fiedler, 1986; Soltis y Soltis, 1991; Fiedler y Ahouse, 1992). La rareza es un término relativo. Frecuentemente se piensa que las especies raras siempre tienen poblaciones pequeñas, pero no siempre es así. Existen taxa ampliamente distribuidos, pero poco abundantes o poblaciones abundantes presentes sólo en localidades muy particulares del planeta (Stebbins, 1982; Fiedler y Ahouse, 1992). Rabinowitz (1980) propuso siete formas de rarezas producto de evaluar la distribución geográfica, la especificidad de hábitat y el tamaño poblacional, asignando dos alternativas a

cada aspecto (tabla 3.1). Cada una de las combinaciones representa un tipo de rareza. Sin embargo, aquellas especies con una distribución restringida y que sólo crecen en hábitats muy específicos son las clásicas especies raras y son potencialmente las más vulnerables (Drury, 1980).

Tabla 3.1. Tipos de rareza considerando la distribución geográfica, especificidad de hábitat y tamaño poblacional (Rabinowitz, 1980).

Distribución geográfica	grande		pequeña	
	amplio	restringido	amplio	restringido
tamaño poblacional local grande, dominante en todos en todos los lugares	COMÚN localmente abundante en muchos lugares y hábitats	PREDECIBLE localmente abundante en muchos lugares pero en hábitats específicos	COMÚN localmente abundante en muchos hábitats pero restringida geográficamente	ENDÉMICA localmente abundante en muchos hábitats específicos pero restringida geográficamente
tamaño poblacional local pequeño, no dominante	ESCASA frecuente pero escasa en muchos lugares y hábitats	PREDECIBLE frecuente y escasa en muchos lugares pero en hábitats específicos	no se conocen	ENDÉMICA escasa y geográficamente restringida a hábitats específicos

Existen numerosas evidencias que demuestran que las plantas con una distribución geográfica restringida (especies raras) presentan una menor diversidad genética en relación a las especies ampliamente distribuidas (Ledig y Conkle, 1983; Billington, 1991; van Treuren *et al.*, 1991). A pesar de ello, no se debe generalizar, ya que son muy pocos los estudios donde se

comparan especies cercanas filogenéticamente y con distribuciones geográficas contrastantes. La distribución geográfica puede ser un buen predictor de la variación genética en algunos grupos pero no en todos ya que, como se mencionó en párrafos anteriores, la cantidad de variación genética presente en las poblaciones naturales es el resultado de la acción de múltiples fuerzas y procesos evolutivos.

El subgénero *Podaechmea* en México ofrece una excelente oportunidad para evaluar, por un lado, la relación entre la variación genética y la distribución geográfica y, por el otro, generar información básica que permita plantear algunas estrategias de conservación de plantas epífitas y raras. Este grupo comprende cuatro especies con distribuciones geográficas contrastantes, *Aechmea mexicana*, *A. lueddemanniana*, *A. macvaughii* y *A. tuitensis*. Las dos primeras presentan una distribución geográfica relativamente amplia, pero difieren en la especificidad de hábitat. *A. mexicana* se presenta en diferentes tipos de comunidades vegetales, mientras que *A. lueddemanniana* sólo se encuentra en el bosque tropical perennifolio. *A. macvaughii* y *A. tuitensis* constituyen especies endémicas para México y con una única población en el país (endémismo extremo).

3.2 OBJETIVO

Estimar y comparar, utilizando técnicas electroforéticas, los niveles de variación genética intra e inter específicos en cuatro especies pertenecientes al subgénero *Podaechmea* (Bromeliaceae), con distribuciones geográficas

contrastantes, *Aechmea mexicana* y *A. lueddemanniana* de amplia distribución, *A. macvaughii* y *A. tuitensis*, endémicas extremas.

3.3 MATERIALES Y MÉTODOS

3.3.1 Electroforesis

Para realizar estudios de genética de poblaciones se colectaron, entre enero de 1993 y mayo de 1994, ocho poblaciones de *Aechmea mexicana*, siete de *A. lueddemanniana*, una de *A. macvaughii* y una de *A. tuitensis* ubicadas en los estados de Chiapas, Jalisco, Oaxaca, Puebla, San Luis Potosí y Veracruz de la República Mexicana. Excepto *A. tuitensis* (especie con crecimiento extensivamente clonal), todas las especies estudiadas se presentaron en algunas localidades como individuos aislados o en grupo, formando un clon. Dentro de un clon siempre se tomó una sola muestra. Se cortaron entre dos y cuatro hojas por individuo que fueron marcadas, empaquetadas y refrigeradas. Posteriormente, se almacenaron en nitrógeno líquido y se trasladaron al laboratorio, donde se congelaron a -70°C . Se maceró en un mortero aproximadamente 1.5 cm^2 de tejido foliar hasta obtener una pasta uniforme, con 1 ml de un buffer compuesto de: ácido cítrico 0.02 M, L-histidina 0.065 M, sacarosa 0.09 M y 5% (V/V) de dimetil sulfóxido. El homogenado resultante fue absorbido en papeles de filtro de $0.7 \times 0.3 \times 0.1\text{ cm}$ y colocados verticalmente en geles de almidón (10-12%). Las soluciones para los buffers utilizados, los voltajes, amperajes, tiempos aplicados (sistemas de corrida) y recetas de tinción se describen en el apéndice I. Después de la corrida, los geles fueron cortados horizontalmente en cinco rebanadas (desechando la primera), aplicando a cada una, una receta

de tinción particular (Soltis *et al.*, 1983). En total se revelaron siete enzimas: peroxidasa catódica y anódica (APX-CPX), malato deshidrogenasa málica (MDH), diaforasa (DIA), aspartato amino transferasa (GOT), fosfogluco isomerasa (PGI), 6-fosfogluconato deshidrogenasa (6-PGD) y leucín amino peptidasa (LAP). Los genotipos se infirieron directamente de los patrones de bandeado que presentaron las enzimas. La designación de los loci y alelos, en todos lo casos, se hizo con base en la movilidad relativa de las proteínas. El locus más alejado del origen para cada enzima se etiquetó con el número uno, el siguiente con el número dos, y así sucesivamente. Se siguió el mismo criterio para los alelos.

3.3.2. Análisis de los datos

Se realizaron los siguientes cálculos:

- frecuencias alélicas: en el caso de dos alelos se utilizó la fórmula de Hedrick (1983):

$$p = (a_{11} + 1/2 a_{12})/N \quad q = (1/2 a_{12} + a_{22})/N$$

donde, a_{11} , a_{12} y a_{22} son las frecuencias absolutas de los tres genotipos y N el tamaño de la muestra. Se realizó una prueba de G (Sokal y Rohlf, 1981) para evaluar la homogeneidad de las frecuencias alélicas entre las poblaciones.

- número promedio de alelos por locus y por locus polimórfico, calculado, en ambos casos como el número total de alelos dividido entre el número total de loci analizados.

- número efectivo de alelos por locus, A_p , este índice considera la abundancia de cada alelo y le da más peso a los comunes (Hedrick, 1983),

$$A_p = 1 / \left(\sum_{i=1}^n p_i^2 \right)$$

donde: p_i es la frecuencia del i ésimo alelo en ese locus.

- porcentaje de loci polimórficos, P . Un locus se considera polimórfico si la frecuencia del alelo más común es menor o igual a 0.95 (Nei, 1973).

$$P = (\text{No. loci polimórficos} / \text{No loci analizados}) \times 100$$

- heterocigosis promedio esperada, H_e : es la heterocigosis esperada en equilibrio de Hardy-Weinberg para un locus con n alelos (Hedrick, 1983),

$$H_e = 1 - \sum_{i=1}^n p_i^2$$

donde, p_i es la frecuencia del alelo i ésimo en ese locus

Las estimaciones anteriores se realizaron a nivel de poblaciones y luego se obtuvieron los promedios a nivel de especie.

3.4 RESULTADOS

Se ensayaron 35 loci en total, pero sólo se resolvieron exitosamente diez loci para *A. mexicana*, siete para *A. lueddemanniana*, cinco para *A. macvaughii* y nueve para *A. tuitensis* (apéndice I).

Los patrones de bandeo de las enzimas que presentaron los individuos homocigotos y heterocigotos (considerando a las cuatro especies) se muestran en la Fig. 3.1. La APX presentó un sólo locus, con un total de cuatro alelos en todas las poblaciones, excepto en las SAT (Oaxaca) y HID (Veracruz) de *A. mexicana*, donde se observaron cuatro loci, de los cuales sólo uno fue polimórfico. La CPX presentó dos loci y cinco alelos, pero sólo se analizó uno, ya que el otro fue inconsistente. La PGI mostró dos loci y tres alelos en

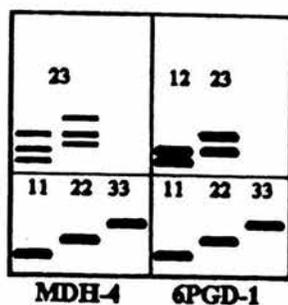
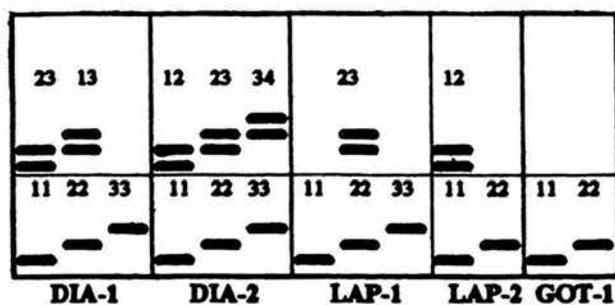
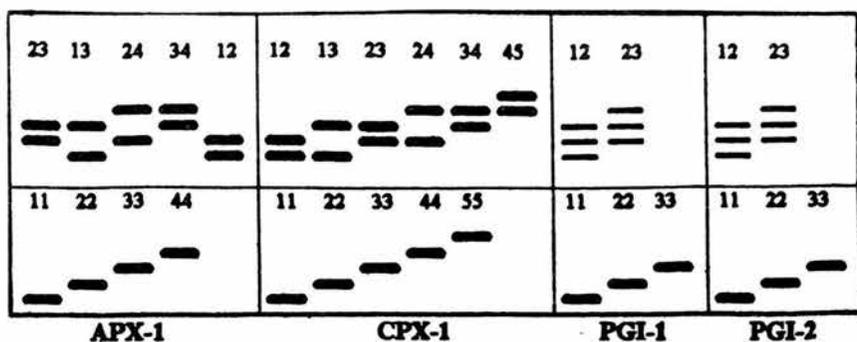


Fig. 3.1. Patrones de bandeado de los todos genotipos homocigotos y heterocigotos observados en las especies: *Aechmea mexicana*, *A. lueddemanniana*, *A. macvaughii* y *A. tuitensis* en México.

cada una, no siempre con la misma resolución entre las especies. Por esta razón se leyó PGI-1 en algunas especies y PGI-2 en otras. La DIA tiñó en tres de las especies, *A. lueddemanniana*, *A. mexicana* y *A. tuitensis*, exhibiendo dos loci, uno con tres alelos y el otro con cuatro. Sólo pudo resolverse LAP para *A. mexicana* y *A. tuitensis*, mostrando dos loci, con tres y dos alelos. La GOT se resolvió para todas las especies y siempre presentó un locus y dos alelos. La MDH exhibió casi siempre cuatro loci. Sin embargo, sólo se leyó el número 4, que invariablemente tiñó y presentó variación (tres alelos). La 6-PGD fue exitosa en *A. mexicana*, *A. lueddemanniana* y *A. tuitensis* y mostró un único locus con tres alelos.

En la tabla 3.2 se muestran los estimadores de diversidad: número promedio de alelos por locus y locus polimórfico, porcentaje de loci polimórficos para cada población y la heterocigosis observada y esperada por población y por especie (promedio). El número promedio de alelos/población por locus y por locus polimórfico fue mayor en las especies endémicas *A. macvaughii* y *A. tuitensis*. Sin embargo, el número efectivo de alelos por locus mostró otro patrón. El máximo valor lo presentó *A. lueddemanniana* (1.32), luego siguió *A. mexicana* con 1.19. Mientras que, las dos especies endémicas presentaron el mismo valor (1.18). El porcentaje de loci polimórficos varió entre 48.75 % (*A. mexicana*) y 80% (*A. macvaughii*). En relación a la heterocigosis observada las dos especies endémicas mostraron valores por encima de *A. mexicana* y por debajo de *A. lueddemanniana*.

Dentro de *A. mexicana* las poblaciones SAG (Oaxaca) y HID (Veracruz) fueron las que presentaron mayor número de alelos/locus. Sin

Tabla 3.2. Valores de varios estimadores de diversidad genética en diez loci para ocho poblaciones de *Aechmea mexicana*, siete loci y siete poblaciones de *A. lueddemanniana*, cinco y nueve loci de *A. macvaughii* y *A. tuitensis*, respectivamente, en México (los errores estándar se muestran entre paréntesis).

Especie	No. Pobl.	Cod.* Pobl.	No. ind. prom. por locus	No. alelos prom. por locus	No. alelos prom/locus polimórfico	% loci polimórficos	Heterocigosis observ.	Heterocigosis esper.
<i>A. mexicana</i>	1	VAL	30.0 (.0)	1.4 (.2)	2 (0)	40.0	.063 (.042)	.095 (.041)
	2	SAG	26.9 (1.3)	2.0 (.3)	3 (0)	50.0	.081 (.043)	.17 (.066)
	3	NEC	29.5 (.3)	1.8 (.3)	2.4 (.3)	50.0	.081 (.034)	.146 (.056)
	4	COR	15.1 (.3)	1.8 (.2)	2.4 (.2)	50.0	.039 (.027)	.212 (.069)
	5	SAT	20.5 (.3)	1.6 (.2)	2.3 (.3)	30.0	.029 (.019)	.125 (.059)
	6	HID	23.1 (1.0)	2.0 (.2)	2.3 (.2)	70.0	.072 (.033)	.264 (.067)
	7	XIL	29.5 (.3)	1.5 (.2)	2.4 (.3)	40.0	.023 (.013)	.077 (.039)
	8	COF	29.2 (.5)	1.7 (.2)	2 (0)	60.0	.045 (.018)	.164 (.052)
promedio				1.73 (.20)	2.4 (.11)	48.75 (11.7)	.054 (.02)	.157 (.057)
<i>A. lueddemanniana</i>	1	HID	27.9 (2.0)	1.7 (.2)	2 (0)	57.1	.039 (.026)	.211 (.080)
	2	MAR	19.7 (.3)	1.9 (.3)	2.2 (.2)	57.1	.114 (.083)	.189 (.083)
	3	TUX	20.3 (1.2)	2.1 (.4)	2.5 (.5)	28.6	.068 (.033)	.156 (.078)
	4	PER	19.4 (1.0)	2.0 (.2)	2.2 (.2)	85.7	.136 (.061)	.223 (.054)
	5	OCO	26.9 (1.1)	2.4 (.5)	2.6 (.4)	57.1	.048 (.027)	.212 (.085)
	6	HUA	29.0 (.0)	2.6 (.4)	2.7 (.4)	71.4	.113 (.064)	.264 (.068)
	7	BER	26.7 (1.4)	2.4 (.3)	2.6 (.3)	100.0	.062 (.042)	.443 (.026)
promedio				2.16 (.30)	2.4 (.10)	65.29 (21.40)	.083 (.035)	.243 (.087)
<i>A. macvaughii</i>	1	MACV	30	2.2 (.4)	2.5 (.29)	80.00	.067 (.028)	.148 (.051)
<i>A. tuitensis</i>	1	TUIT	112	2.2 (.4)	2.6 (.25)	55.00	.062 (.026)	.155 (.044)

* nombres de las poblaciones (su ubicación geográfica se da en el capítulo dos, tabla 2.1.

embargo, considerando sólo los loci polimórficos los valores más altos correspondieron a las poblaciones NEC (Puebla), COR (Veracruz) y XIL (San Luis Potosí). El porcentaje de loci polimórficos varió entre 30 (SAT, Oaxaca) y 70% (HID, Veracruz). Finalmente, la mayor heterocigosis observada correspondió a las poblaciones SAG (Oaxaca) y NEC (Puebla).

Para *A. lueddemanniana* los valores fueron ligeramente mayores, presentando en promedio, 2.16 y 2.4 alelos/población por locus y por locus polimórfico, respectivamente. En ambos casos el valor más alto lo exhibió la población HUA (Oaxaca). En relación al porcentaje de loci polimórficos, los valores estuvieron entre 28.6% y 100%. Este último lo presentó la población BER (Chiapas). Los valores de heterocigosis fueron relativamente bajos, pero en general, mayores a los de *A. mexicana*. Estos valores relativamente altos reflejan que existe diversidad alélica aunque desproporcionada. Es decir, un alelo con alta frecuencia y otro o varios con una frecuencia bastante baja.

3.5 DISCUSIÓN

Los niveles de variación genética presentes en *A. mexicana*, una especie monocotiledónea, herbácea, de vida larga, con una distribución amplia y con autofertilización como sistema de apareamiento predominante, son moderadamente bajos y están alrededor a los encontrados en especies con este mismo tipo de características (Hamrick, 1989). Sin embargo, hay discrepancias entre los diferentes estimadores en relación a la literatura. En particular, el porcentaje de loci polimórficos (49%) es más alto que el reportado por Hamrick y Godt (1990), a nivel

de especie, para monocotiledóneas, hierbas perennes y con distribución tropical (40, 39 y 33%, respectivamente). Los valores reportados por estos autores deben tomarse (con cuidado) sólo como un marco de referencia ya que representan valores promedios, con varianzas considerables, de muchos estudios. El número efectivo de alelos promedio, A_e , fue igual a 1.19 y está dentro de los promedios reportados para especies herbáceas de larga vida.

Aechmea lueddemanniana, con características muy similares a *A. mexicana*, presenta la misma tendencia en los estimadores de diversidad genética, pero con valores un poco más altos ($P= 65\%$, $A_e= 1.3$).

Las especies endémicas, *A. macvaughii* y *A. tuitensis* presentaron mayor diversidad genética, considerando todos los estimadores, que todas las poblaciones *A. mexicana*, una especie ampliamente distribuida en el neotrópico y que otras especies raras (Billington, 1991; Baskauf *et al.*, 1994). Sin embargo, sólo los valores de alelos/locus estuvieron ligeramente por encima que el promedio para *A. lueddemanniana*, aunque algunas poblaciones de esta especie mostraron una menor diversidad genética que las especies endémicas extremas.

En la tabla 3.3 se muestran diferentes estimadores de diversidad genética para algunas especies de la familia Bromeliaceae que han sido estudiadas. *Aechmea lueddemanniana* y *A. mexicana* exhiben los valores más altos en el número promedio y efectivo de alelos por locus, porcentaje de loci polimórficos y heterocigosis esperada, mientras que los valores de H_0 presentan otra dinámica, el más bajo es para *Tillandsia recurvata* (cero) seguido por *A. mexicana* (0.054) y el

más alto lo presenta *A. magdalenae* (0.099). *Tillandsia ionantha*, una epífita con fertilización cruzada, exhibe valores de H_o menores a *A. lueddemanniana*. Esta evidencia apoya la idea de que *A. lueddemanniana* tiene un sistema de apareamiento mixto más alejado de la autofertilización que *A. mexicana*. Al comparar la diversidad genética de las especies de *Podaechmea*, con otras Bromeliaceae se observa que en esta familia prevalecen (en general) niveles moderados de variación genética. Probablemente este patrón esté relacionado con la forma de vida (herbáceas, de vida larga), abundancia (en general, presentan poblaciones con pocos individuos) y con el tipo de ambiente donde se establecen (limitados en recursos y con una distribución discreta).

Tabla 3.3. Estimadores de diversidad genética en los únicos estudios que se han hecho en especies de la familia Bromeliaceae.

Especie	Hábito	Sist. apareamiento	N	L	P	A_p	A_{ep}	H_o	H_c	F
<i>Tillandsia ionantha</i> ¹	e	cruzado	3	16	20.85	1.4	1.09	0.064	0.088	0.273
<i>T. recurvata</i> ¹	e	autofertilización	7	19	3.77	1.1	1.18	0.000	0.151	1.000
<i>T. friessii</i> ²	s	desconocido	10	14	33.84	1.4	1.14	0.090	0.078	-0.154
<i>T. muhrae</i> ²		"	11	14	26.92	1.3	1.09	0.059	0.083	0.289
<i>T. alberti</i> ²		"	10	14	34.61	1.4	1.28	0.101	0.160	0.369
<i>T. guayasayensis</i> ²		"	10	14	46.15	1.5	1.14	0.128	0.159	0.195
<i>Aechmea magdalenae</i> ³	t	autofertilización	9	18	24.10	1.3	1.16	0.099	0.084	0.179
<i>A. mexicana</i> ⁴	e, t	"	8	10	48.75	1.7	1.19	0.054	0.157	0.656
<i>A. lueddemanniana</i> ⁴	e, t	desconocido	7	7	65.29	2.2	1.32	0.083	0.243	0.658
<i>A. macvaughii</i> ⁴	e, s	"	1	5	80.00	2.2	1.18	0.067	0.148	0.547
<i>A. tuitensis</i> ⁴	s	"	1	9	55.60	2.2	1.18	0.062	0.155	0.600

e: epífita; t: terrestre; s: saxícola. N: número de poblaciones. L: número de loci. A_p : número de alelos/locus. A_{ep} : número efectivo de alelo.s. H_o : heterocigosis observada y H_c : heterocigosis esperada. F: índice de fijación.

1 Palací, 1991

2 Soltis *et al.*, 1987

3 Murawski y Hamrick, 1990

4 este estudio

Los resultados de este estudio indican que no existe una relación clara entre la distribución geográfica de una especie y su variación genética. Si bien se han encontrado niveles moderados de variación genética en algunas especies con distribución geográfica restringida (Warwick y Gotlieb *et al.*, 1985; Karron *et al.*, 1988). También, hay evidencias de una correlación significativa entre el tamaño poblacional y el nivel de variabilidad genética. Al respecto, van Treuren *et al.*, (1991) encontraron que el porcentaje de loci polimórficos y el número promedio de alelos por locus, en 14 poblaciones de *Salvia pratensis* y en 12 de *Scabiosa columbaria* incrementaba con el tamaño de la población. La misma tendencia ha sido reportada por Billington (1991). Sin embargo, la distribución geográfica resultó un mal predictor de la variación genética en *Pinus resinosa*, una especie de amplia distribución (Fowler y Morris, 1977) y también en un estudio comparativo entre cuatro especies del género *Astragalus* (Fabaceae), dos de amplia distribución y dos raras. Las dos especies raras presentaron mayor polimorfismo que una de las de amplia distribución (Karron *et al.*, 1988; Karron, 1989 y 1991). En este estudio la distribución geográfica no resultó un buen predictor de la variación genética contenida en las especies de *Podaechmea*.

Las especies *A. macvaughii* y *A. tuitensis* constituyen endémicos extremos según los criterios planteados por Rabinowitz (1980), hecho que las hace potencialmente más vulnerables en el contexto de la biología de la conservación. Sin embargo, la diversidad genética encontrada en estas especies no refleja que las mismas estén depauperadas. La única estrategia posible de conservación *in situ* de su diversidad genética es la protección de los pocos hábitats donde crecen. La única población existente de *A. macvaughii* crece en una zona rodeada de pastizales.

Probablemente el número de individuos de esta especie ha disminuido notablemente a consecuencia de la extensión de las zonas agrícolas. Los individuos muestreados se encontraron en un cerro con pendientes muy fuertes. Este hecho ha impedido la desaparición del hábitat de *A. macvaughii*. En relación a *A. tuitensis*, la situación es un poco diferente. Esta especie se desarrolla en un bosque de pino-encino que constituye una isla dentro de la zona. Además, está rodeado de zonas poco alteradas. Es probable que existan allí otras especies endémicas.

En relación a las especies de amplia distribución, *A. mexicana* y *A. luteddemanniana* las estrategias de conservación a plantear dependerán de la estructura genética que presenten (Capítulo cuatro).

CAPÍTULO 4

ESTRUCTURA GENÉTICA EN CUATRO ESPECIES DE *Aechmea*

4.1 INTRODUCCIÓN

La manera como se distribuye la variación genética dentro y entre poblaciones constituye su estructura genética e involucra el estudio, tanto espacial como temporal, de las proporciones genotípicas. Describir la estructura genética de las poblaciones es el paso previo para entender que fuerzas evolutivas han prevalecido en la evolución de las poblaciones organismos (Allendorf, 1983; Loveless y Hamrick, 1984).

En las plantas existe una gran diversidad de sistemas de apareamiento. Las posibilidades de cruce forman un continuo dentro del cual la autofertilización y la fertilización cruzada estrictas constituyen las alternativas extremas. Las plantas que predominantemente se autofertilizan presentan, en general, bajo niveles de heterocigosis y alta diferenciación entre poblaciones (Brown, 1978; Hamrick *et al.*, 1979;). Este hecho se relaciona estrechamente con el limitado movimiento de polen que ocurre en este tipo de plantas (Knigh y Waller, 1987). Sin embargo, Brown (1979) señala que los niveles de heterocigosis encontrados en plantas que se autofertilizan frecuentemente son mayores a los esperados, mientras que, en plantas con fertilización cruzada son menores. Esta paradoja puede deberse a variaciones espacio-temporales en los sistemas de apareamientos. Según Brown, en plantas que predominantemente se entrecruzan una menor heterocigosis tiene que ver con el flujo génico, efecto Wahlund y con las asociaciones entre loci, mientras

que en plantas que se autofertilizan un exceso de heterocigotos puede estar relacionado con eventos esporádicos de fertilización cruzada.

Barrett y Eckert (1990) señalan que el establecimiento de una u otra forma de fertilización dependerá de la interacción compleja de factores genéticos (variación en los caracteres florales, niveles de endogamia, depresión endogámica), demográficos (estructura poblacional, abundancia), físicos (altitud, humedad, hábitat) y ecológicos (polinizadores). Para Lande y Schemske (1985) el factor clave será el valor de la depresión por endogamia. Arroyo y Squeo (1990) hacen énfasis en la la forma de vida (hierba, árbol).

La estructura poblacional de una especie influye en la dinámica de intercambio de genes. Es difícil estimar los niveles reales de flujo génico dentro de una especie. Se han desarrollado las aproximaciones directas e indirectas. Las estimaciones directas involucran observaciones relacionadas con el movimiento de gametos o individuos. Sin embargo, estas no siempre son confiables ya que la capacidad de dispersión de una especie no siempre refleja que tanto flujo génico existe entre sus poblaciones (Slatkin, 1987). Los métodos indirectos utilizan datos de frecuencias alélicas, polimorfismos en los sitios de restricción o secuencias de ADN y a partir de estos generan estimadores del número de gametos o individuos que se mueven. Tienen la ventaja de que incorporan los efectos temporales de todas las formas de dispersión. Sin embargo, dependen de las premisas relacionadas con los procesos que afectan a las frecuencias alélicas y ello constituye una desventaja (Slatkin, 1987; Slatkin y Barton, 1989).

Las estimaciones indirectas de flujo génico se han incorporado a dos modelos de flujo génico. Uno de estos modelos es el de aislamiento por distancia, el cual supone que las poblaciones se distribuyen como un continuo y el intercambio de genes entre estas disminuye con la distancia (Hartl y Clark, 1989; Slatkin, 1993). El otro es el "stepping stone", que se aplica a aquellas especies cuyas poblaciones se organizan en colonias discretas y asume que la migración sólo ocurre entre los demos más cercanos (Hedrick, 1983; Hartl y Clark, 1989).

En las revisiones que se han hecho sobre la cantidad y organización de la variación genética en plantas las epífitas como grupo han estado ausentes (Hamrick, 1983; 1987 y 1989). Esto a pesar de que constituyen una fracción importante en la composición florística de los bosques tropicales (Benzing, 1990). La información que se tiene sobre la evolución y ecología de estas plantas involucra solamente los aspectos morfológicos y fisiológicos asociados a las partes vegetativas (Lüttge, 1989).

Las especies de *Podaechmea* son predominantemente epífitas. Las plantas con este hábito han desarrollado una serie de estrategias de historia de vida relacionadas con la forma de crecimiento y la reproducción (entre otras) que les ha permitido ocupar este habitat cuyos sustratos tienen una distribución agregada y presentan severas restricciones en el suministro de agua y nutrientes (Benzing, 1990). En este proceso es probable que algunas fuerzas evolutivas hayan sido más importantes que otras en la distribución de la variación genética dentro y entre sus poblaciones.

4.2 OBJETIVOS

- Conocer y comparar la estructura genética en cuatro especies del subgénero *Podaechmea*, género *Aechmea* (Bromeliaceae): *A. mexicana*, *A. lueddemanniana*, *A. macvaughii* y *A. tuitensis*.
- Establecer si la distribución geográfica que presentan las poblaciones de las especies de amplia distribución, *Aechmea mexicana* y *A. lueddemanniana* se ajustan al modelo de aislamiento por distancia.

4.3 MATERIALES Y MÉTODOS

4.3.1 Análisis de los datos

A partir de las frecuencias alélicas se calcularon:

- las frecuencias genotípicas para cada locus y se evaluó si estaban en equilibrio de Hardy-Weinberg a través de una prueba de χ^2 , aplicándoles previamente la corrección de Levene (1949) y la de Yates (Sokal y Rohlf, 1981).
- el índice de fijación, F , que es una medida del equilibrio de Hardy-Weinberg y se define, para el caso de un locus con dos alelos, como (Hartl y Clark, 1989):

$$F = 1 - \text{proporción de heterocigos observados} / 2pq$$

Este índice toma valores de -1 a +1 donde el valor cero quiere decir que la población está en equilibrio, cuando se aleja de este valor hay exceso de heterocigotos (< 0) o de homocigotos (> 0). Para evaluar si los valores eran

distintos de 0 se hizo una prueba de χ^2 igual a $F^2 N(k-1)$, con $k(k-1)/2$ grados de libertad, donde N es el tamaño de la muestra y k el número de alelos (Workman y Niswander, 1970).

- los estadísticos F de Wright (Hedrick, 1983; Hartl y Clark, 1989) por el programa Biosys (Swofford y Selander, 1989) que permiten analizar las proporciones de heterocigotos a tres niveles de complejidad, dentro de cada subpoblación (F_{is}), entre subpoblaciones (F_{st}) y en la población completa (F_{it})

*la F_{is} (F individuo-subpoblación): refleja la diferenciación a nivel de subpoblación, toma valores entre -1 y +1, y se calcula de la siguiente manera (Nei y Chakravarti, 1977):

$$F_{is} = (H_s - H_o) / H_s$$

donde H_o y H_s son las proporciones de heterocigotos promedio observada y esperada, respectivamente, dentro de las subpoblaciones. Si F_{is} es mayor que cero indica que hay diferenciación entre las subpoblaciones a consecuencia de la endogamia local, mientras que si es negativo refleja algún tipo de selección que favorece a los heterocigotos (Eguiarte, 1990).

*la F_{st} (F subpoblación-total): corresponde a la diferenciación entre las poblaciones, toma valores entre 0 y 1 y se calcula como:

$$F_{st} = (H_t - H_s) / H_t$$

donde H_s y H_t representan las proporciones promedios de heterocigotos esperadas a nivel de subpoblación y a nivel global, respectivamente. Si F_{st} es igual a cero indica que todas las poblaciones son iguales y si vale uno que todas son distintas. También refleja como se reparte la variación genética en la especie, es decir, que proporción de la diversidad genética está contenida dentro y entre poblaciones. Mientras más cerca de uno esten los valores de

F_{st} se requerirá un mayor número de poblaciones para tener toda la variación genética de la especie. Dos fuerzas pueden ser responsables de la diferenciación, la deriva y la selección. Probablemente habrá selección si los valores de F_{st} son heterogéneos, ya que esta fuerza actúa de manera discreta, puntual y sobre un carácter particular. La deriva se presenta en el caso contrario ya que su acción es al azar y la variación entre loci sería más homogénea (Wright, 1978). Por otro lado, la F_{st} refleja que tanto flujo génico existe entre las poblaciones (Slatkin, 1985).

*la F_{it} (F individuo-total) es la diferenciación total, ya sea por endogamia o deriva génica, toma valores entre -1 y +1 y esta relacionada con F_{is} y F_{st} . Se calcula así (Nei y Chakravarti, 1977):

$$F_{it} = (H_t - H_o) / H_t \quad \text{ó} \quad F_{it} = F_{is} + (1 - F_{is})F_{st}$$

Para saber si las F_{is} y F_{it} eran distintas de cero se realizó la misma prueba de χ^2 aplicada al índice de fijación F (Workman y Niswander, 1970) y para las F_{st} se utilizó la fórmula $2NF_{st}(k-1)$, con $(k-1)(s-1)$ grados de libertad. N es el tamaño muestral, k, el número de alelos y s el número de subpoblaciones.

- los estadísticos F de Wright, F , θ y f (Weir y Cockerham, 1984), equivalentes a las F_{it} , F_{st} y F_{is} , respectivamente. Este análisis involucra explícitamente, dándoles peso, al número de individuos y a las localidades muestreadas. Además, los estimadores que se generan no tienen sesgo. El modelo parte de la premisa de que un número r de poblaciones del mismo tamaño han descendido en forma independiente de una sola población ancestral que estaba en equilibrio de Hardy-Weinberg y de ligamiento. En consecuencia, las poblaciones se mantienen bajo las mismas condiciones y las diferencias observadas tienen que ver con el muestreo genético entre

generaciones y el estadístico de los individuos. Así, los estadísticos diferirán de los parámetros por múltiplos de las frecuencias alélicas esperadas. El cálculo de los estimadores propuestos por Weir y Cockerham se hizo a través de un programa de computación (Alvárez *et al.*, en prensa).

- el producto del tamaño efectivo y la tasa de migración (N_m) utilizando un método indirecto. Se empleó la fórmula propuesta por Crow y Aoki (1984):

$$F_{st} = 1/(4a N_m + 1) \Rightarrow N_m = 1 - F_{st}/4F_{st} a$$

donde $a = [n/(n-1)]^2$ y n es el número de subpoblaciones.

Slatkin y Barton (1989) compararon tres métodos indirectos a través de los cuales es posible estimar los niveles de flujo génico entre poblaciones o especies, las F_{st} (Wright, 1951), la cuantificación de los alelos raros (Slatkin, 1985) y el método de máxima verosimilitud (Barton *et al.*, 1983). Cada uno de estos métodos fue aplicado a varios modelos poblacionales (principalmente a los modelos de islas y al "stepping stone"). Sus resultados señalan que el método más idóneo (considerando todos los modelos) para estimar el flujo génico entre poblaciones es el de Wright.

- tamaño efectivo de la población, N_e , el cual siempre es menor al real y corresponde al número de individuos reproductivos en una población ideal (diploide, con reproducción sexual, apareamientos al azar, con generaciones discretas y con la posibilidad de autofertilizarse), donde la disminución de la heterocigosis tendría la misma magnitud que en una población real. Muchos factores pueden causar desviaciones a este ideal teórico y ello permite conocer que fuerzas evolutivas han sido importantes en la evolución de un grupo particular (Hartl y Clark, 1989). Numerosos métodos, tanto directos

como indirectos, han sido propuestos (Hedrick, 1983; Eguiarte *et al.*, 1993). Las medidas directas han empleado diversos escenarios (sexos separados, autofertilización, variaciones temporales, estructura de edades) mientras que los métodos indirectos utilizan las frecuencias alélicas. En este trabajo se utilizó un método indirecto propuesto por Slatkin y Barton (1989):

$$N_e = 2 \times 3.1416 \times N_m$$

donde N_e se refiere al tamaño de la vecindad genética (que considera el área total de distribución de las subpoblaciones) y N_m se obtiene a partir de la fórmula de Crow y Aoki (1984).

- medida de flujo génico (\hat{M}) entre pares de poblaciones en un modelo de islas (Slatkin, 1993):

$$\hat{M} = (1 - F_{st}/4F_{st})$$

El cálculo de M puede hacerse también con G_{st} (Nei, 1973). Sin embargo, la definición de esta medida no considera las diferencias en el tamaño muestral y en algunos casos puede llegar a subestimar los niveles de flujo génico (Slatkin y Barton, 1989).

- matriz de distancias e identidades genéticas entre pares de poblaciones. Esta distancia (Nei, 1972) representa el número de sustituciones de codones que ha ocurrido desde que dos taxa divergieron y supone que la tasa de sustitución génica por locus es uniforme, es decir, que se cumpla el reloj molecular (Swofford y Olsen, 1990).

$$I = J_{xy}/(J_x J_y)^{1/2} \quad D = -\ln I$$

donde, $J_{xy} = \sum p_{ix} \cdot p_{ij}$ es la probabilidad de seleccionar un par de alelos, uno de la población x y otro de la y , y que sean idénticos por descendencia;

$J_x = \sum p_i^2$ es la probabilidad de seleccionar un par de alelos de la población x idénticos por descendencia y $J_y = \sum p_i^2$ es la probabilidad de seleccionar un par de alelos idénticos por descendencia de la población y .

La identidad de Nei, I , toma valores entre 0 y 1, cero indica que las poblaciones no comparten ni un alelo y 1 que los comparten todos, con frecuencias idénticas. Por su parte, D va desde 0 a infinito y si las frecuencias alélicas son iguales D será igual a cero.

4.4 RESULTADOS

Las frecuencias alélicas de los loci muestreados para todas las especies se presentan en el apéndice II. En *A. mexicana* todos los loci, excepto GOT, presentaron heterogeneidad ($p = 1 \times 10^{-5}$) en sus frecuencias alélicas (90%) mientras que en *A. lueddemanniana* fue el 100%.

De los cinco loci muestreados en *A. macvaughii* sólo APX (20%) presentó heterogeneidad ($p = 1 \times 10^{-5}$) en las frecuencias alélicas. Por su parte, *A. tuitensis* mostró diferencias significativas en 67% de sus loci (CPX, DIA-1, DIA-2, LAP-2, MDH-4 y 6PGD).

Se calcularon las frecuencias genotípicas para todos los loci en las cuatro especies del estudio y se evaluó si estaban en equilibrio de Hardy-Weinberg a través de una prueba de χ^2 con corrección de Levene (1949) y Yates (Sokal y Rohlf, 1981) para tamaños poblacionales pequeños. En

algunos casos fue necesario agrupar categorías porque las frecuencias esperadas eran menores que 1 y se estimó nuevamente si estaban o no en equilibrio de Hardy-Weinberg (apéndice II). La mayoría de las poblaciones de *A. mexicana* y *A. lueddemanniana* mostraron más de un locus en desequilibrio. En relación con las especies endémicas, *A. macvaughii* presentó un sólo locus (PGI-2) con desvío de las proporciones esperadas y *A. tuitensis* tres, CPX, MDH-4 y 6PGD.

Se calcularon 44 índices de fijación para *A. mexicana* (Tabla 4.1). De estos, ocho fueron negativos y 36 positivos. El 61.4% de los índices

Tabla 4.1. Índices de fijación (F) para los loci polimórficos en ocho poblaciones de *Aechmea mexicana* en México.

Locus	Población							
	1	2	3	4	5	6	7	8
APX-1	-.200	.620 ¹		.870 ¹	-.024	.802 ¹		.918 ¹
CPX-1	-.176	-.227	-.075	-.032	.415	.457 ²	-.040	
DIA-1				1.000 ¹		.202		
DIA-2			-.154					.760 ¹
LAP-1						.778 ¹		.649 ¹
LAP-2					1.000 ¹	-.020		-.080
PGI-1	1.000 ¹	1.000 ¹	1.000 ¹	.211	1.000 ¹	.885 ¹	.911 ¹	.256
MDH-4	1.000 ¹	.217	.411 ²	1.000 ¹	-.024	.833 ¹	.345	.923 ¹
6PGD-1		.915 ¹	.700 ¹	1.000 ¹		1.000 ¹	1.000 ¹	1.000 ¹

1: $p < 0.001$; 2: $p < 0.05$

resultaron significativamente diferentes de cero (todos positivos), indicando un exceso de homocigotos. Para *A. lueddemanniana* se estimaron 38 índices de fijación (Tabla 4.2) de los cuales, nueve fueron menores que 0 y 29 mayores. De éstos últimos, 27 (71% del total) resultaron estadísticamente diferentes de cero.

Tabla 4.2. Índices de fijación (F) para los loci polimórficos en siete poblaciones de *Aechmea lueddemanniana* en México.

Locus	Población						
	1	2	3	4	5	6	7
APX-1	-.091	-.174	.590 ¹	-.050	.361	.542 ¹	.446
CPX-1		.616 ³	-.023	.750 ¹	.526 ¹	-.128	.774 ¹
DIA-2	1.000 ¹		-.024	-.200		1.000 ¹	1.000 ¹
PGI-1	.784 ¹	-.053	.551 ²	1.000 ¹		.824 ¹	1.000 ¹
GOT-1					1.000 ¹		1.000 ¹
MDH-4	1.000 ¹	1.000 ¹	1.000 ¹	-.077	1.000 ¹	.843 ¹	.902 ¹
6PGD-1	1.000 ¹			.916 ¹	.817 ¹	1.000 ¹	1.000 ¹

1: $p < 0.001$; 2: $p < 0.01$; 3: $p < 0.05$

Los índices de fijación para los 4 loci polimórficos de *A. macvaughii* se presentan en la tabla 4.3. Sólo dos fueron positivos y estadísticamente diferentes de cero (PGI-2 y GOT-1), mientras que en *A. tuitensis* (tabla 4.4), de un total de 9 loci, sólo dos presentaron valores negativos de F. Sólo los índices positivos fueron significativos, indicando un déficit de heterocigotos.

Tabla 4.3. Índices de fijación (F) de los loci polimórficos en *Aechmea macvaughii* en México.

	Locus			
	APX-1	CPX-1	PGI-2	GOT-1
F	-0.040	-0.071	.530 (p= .001)	1.000 (p= 1x10 ⁻⁵)

Tabla 4.4. Índices de fijación (F) de los loci polimórficos en *Aechmea tuitensis* en México.

	Locus							
	APX-1	CPX-1	DIA-1	DIA-2	LAP-1	LAP-2	MDH-4	6PGD-1
F	.386	.703 ¹	-0.053	.230 ²	-0.009	1.000 ¹	.867 ¹	.965 ¹

1: p < 0.001; 2: p < 0.01

El análisis de la estructura genética de las poblaciones en *A. mexicana* a través de los estadísticos F se presenta en la tabla 4.5. Las estimaciones de las F de Wright a través del programas Biosys resultaron positivos en todos los niveles jerárquicos. Se aplicó una prueba de χ^2 para ver si los valores eran estadísticamente diferentes de cero, demostrándose que, a excepción de dos casos, todos lo fueron. Los valores de F_{is} estuvieron entre 0.045 y 0.912, con una media igual a 0.648. Las F_{it} exhibieron como valor mínimo 0.667 y 0.981 como máximo, ubicándose el promedio en 0.848 y, finalmente, el valor promedio para las F_{st} fue de 0.569 y el intervalo de valores fue de 0.236 a 0.929. Los resultados del análisis a través de los estadísticos propuesto por

Weir y Cockerham mostraron la misma tendencia que los de Biosys. Así, los valores de $F (F_{it})$ estuvieron entre 0.673 y 1.235, con un valor promedio igual a 0.860, las $\theta (F_{st})$ se ubicaron entre 0.259 y 0.933, con una media igual a 0.615 y, por último, las $f (F_{is})$ presentaron un promedio igual a 0.643, dentro del intervalo 0.018-1.042. Los valores de los errores estándar al 95%, (apéndice II) se emplearon para calcular los intervalos de confianza y así

Tabla 4.5. Valores promedio de los estadísticos F de los loci analizados en *Aechmea mexicana* en México (entre paréntesis se muestra la desviación estándar).

Loci	Weir y Cockerham				Biosys		
	F (F_{it})	θ (F_{st})	f (F_{is})	Nm	F_{it}	F_{st}	F_{is}
APX-1	.732	.259	.640	.548	.742	.268	.647
CPX-1	.736	.726	.018	.072	.667	.651	.045*
DIA-1	.673	.757	.407	.062	.795	.514	.578
DIA-2	.921	.868	.441	.029	.915	.871	.345*
LAP-1	.982	.933	.762	.014	.981	.929	.733
LAP-2	1.235	.407	1.042	.279	.789	.275	.710
PGI-1	.930	.594	.817	.131	.877	.462	.772
MDH-4	.822	.320	.721	.407	.788	.236	.722
6PGD-1	.954	.603	.881	.126	.957	.512	.912
prom.	.860	.615	.643	.185	.848	.569	.648
		(.043)	(.087)	(.100)			

*N. S. ($p < 0.05$)

evaluar si estos eran o no significativos. Sólo un valor no lo fue, el cual además coincidió con uno de los no significativos utilizando el análisis de Biosys.

La estructura genética en *A. lueddemanniana* se presenta en la tabla 4.6. Los valores de las F_{is} van desde 0.244 hasta 1.00, con un promedio igual a 0.651 y todos fueron significativos excepto para el locus APX (este locus no fue significativo en ninguno de los niveles). Las F_{it} presentaron un valor promedio igual a 0.760 y el intervalo estuvo entre 0.317 y 1.00. Finalmente, las F_{st} se ubicaron dentro y el intervalo de valores fue de 0.096 a 0.498, con

Tabla 4.6. Valores promedio de los estadísticos F de los loci analizados en *Aechmea lueddemanniana* en México (entre paréntesis se muestra la desviación estándar).

Loci	Weir y Cockerham				Biosys		
	F (F_{it})	θ (F_{st})	f (F_{is})	Nm	F_{it}	F_{st}	F_{is}
APX-1	.374	.105	.300	1.633	.317*	.096*	.244*
CPX-1	.741	.498	.477	.193	.740	.498	.482
DIA-2	.832	.172	.753	.921	.627	.146*	.563
PGI-1	.876	.375	.797	.319	.857	.373	.772
GOT-1	1.000	.347	1.000	.360	1.000	.207*	1.000
MDH-4	.941	.421	.891	.263	.913	.315	.874
6PGD-1	.960	.247	.949	.583	.967	.267	.955
prom.	.781	.321	.675	.611	.760	.311	.651
		(.086)	(.067)	(.120)			

* N. S. al 95%

la media en 0.311. Sólo los loci CPX-1, PGI-1 y MDH-4 fueron diferentes de cero. Con el análisis de Weir y Cockerham todos los loci fueron distintos de cero, las $f(F_{is})$ estuvieron entre 0.30 y 1.00, con la media en 0.675, las $F(F_{it})$

se ubicaron entre 0.374 y 1.000, con un valor promedio de 0.781 y las $\theta(F_{st})$ presentaron valores desde 0.105 hasta 0.498, con una media igual a 0.321.

Se hizo un análisis de regresión entre las F de Biosys y las de Weir y Cockerham y se graficaron las pendientes para cada especie (Fig. 4.1). En *A. mexicana* las pendientes fueron: $F_{is} = 0.89$ ($r^2 = 0.81$, $p = 0.01$), $F_{st} = 0.95$ ($r^2 = 0.90$, $p = 0.0001$), $F_{it} = 0.43$ ($r^2 = 0.187$, $p = 0.243$) y en *A. lueddemanniana*: $F_{is} = 0.97$ ($r^2 = 0.94$, $p = 0.0003$), $F_{st} = 0.91$ ($r^2 = 0.82$, $p = 0.005$), $F_{it} = 0.95$ ($r^2 = 0.95$, $p = 0.001$). Todas las regresiones, excepto la de F_{it} para *A. mexicana*, fueron significativas.

La Fig. 4.2 muestra los intervalos de confianza al 95% para las F_{st} de Weir y Cockerham (1984) de los diferentes loci en las especies *A. mexicana* y *A. lueddemanniana*. En *A. mexicana* se observa mayor heterogeneidad en el solapamiento de los intervalos. Se forman dos grupos, uno constituido por los loci APX, LAP-2, PGI, MDH y 6PGD con cierto nivel de homogeneidad al interior. El segundo grupo quedó conformado por los loci CPX, DIA-1, DIA-2 y LAP-1 y es bastante heterogéneo. Este patrón podría estar reflejando que la selección natural está operando sobre los grupos dos y tres. En *A. lueddemanniana* el patrón es mucho más homogéneo. Los únicos intervalos que prácticamente no presentaron solapamiento con el resto fueron los pertenecientes a los loci APX y DIA-2.

En la Tabla 4.5 y 4.6 se presentan los valores de flujo génico (Nm) para cada locus y el promedio para las especies *Aechmea mexicana* y

W
E
I
R

Y

C
O
C
K
E
R
H
A
M

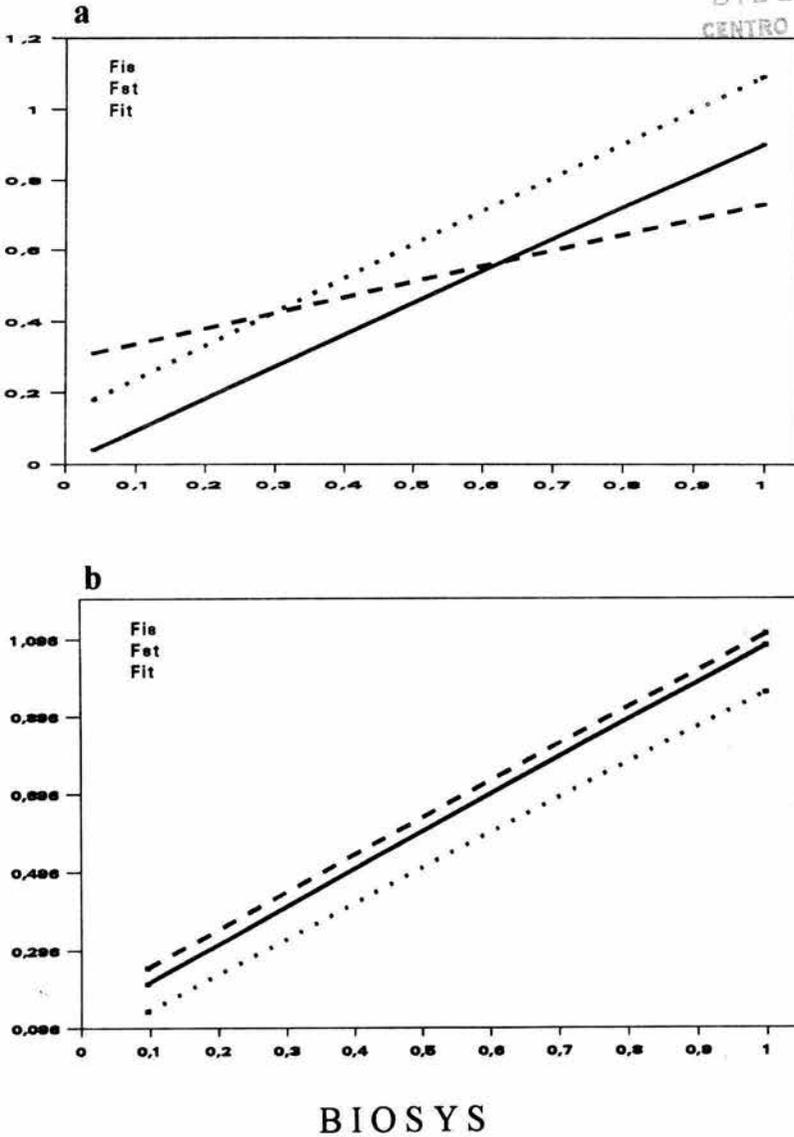


Fig. 4.1. Pendientes de las regresiones entre dos estimadores de las F de Wright en *Aechmea mexicana* (a) y *A. lueddemanniana* (b).

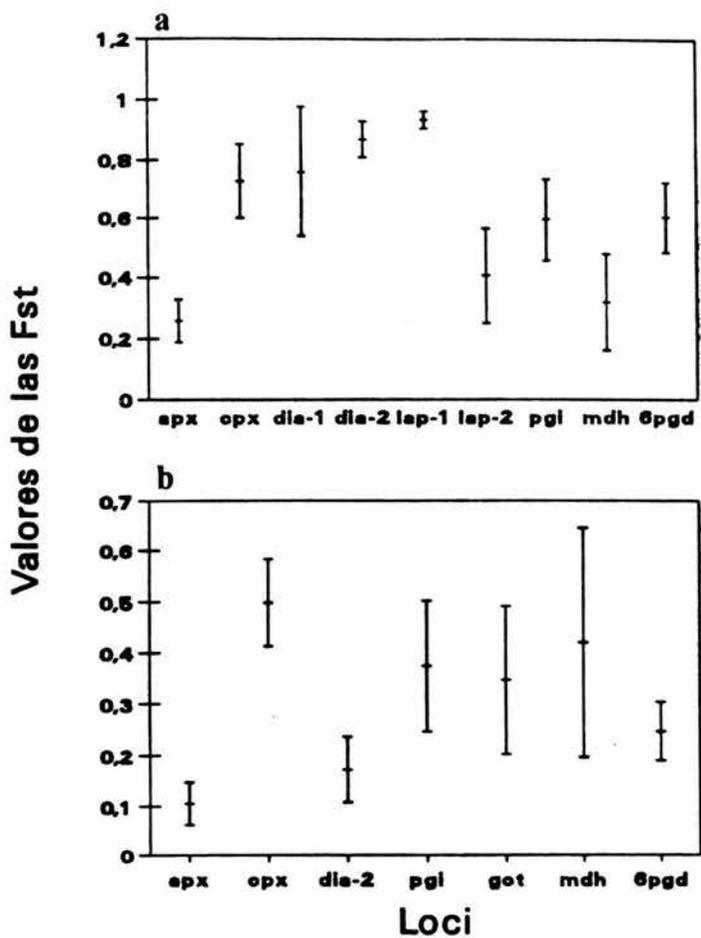


Fig. 4.2. Intervalos de confianza de las F_{st} (Weir y Cockerham, 1984) en *Aechmea mexicana* (a) y *A. lueddemanniana* (b).

A. lueddemanniana, respectivamente. En ambos casos el promedio es menor que 1, indicando un reducido flujo génico entre las poblaciones. Sin embargo, el valor promedio de Nm en *A. lueddemanniana* (0.611) es 3.3 veces mayor que el de *A. mexicana* (0.185), indicando un mayor intercambio de genes entre las poblaciones de esta especie en relación a las de *A. mexicana* o, un menor tiempo de separación entre las poblaciones de *A. lueddemanniana*. Los valores de N_e fueron iguales a 1.16 y 3.83 para *A. mexicana* y *A. lueddemanniana*, respectivamente, manteniendo la misma relación de 3:1 entre las dos especies.

Con la finalidad de ver si la relación entre la flujo génico y la distancia geográfica seguía un modelo de aislamiento por distancia (Slatkin, 1993) se evaluó si los valores del $\log_{10} \hat{M}$ vs \log_{10} de la distancia geográfica entre pares de poblaciones para las dos especies de amplia distribución se ajustaban a una recta. El ajuste para las poblaciones de *A. mexicana* fue significativo ($r^2 = 0.197$, $p = 0.02$) y se muestra en la Fig. 4.3. Para *A. lueddemanniana* no fue ($r^2 = 0.10$, $p = 0.17$). Los valores de flujo génico entre pares de poblaciones estimados a través de \hat{M} , utilizando θ (Slatkin, 1993) muestran la misma tendencia que Nm . Dentro de *A. mexicana* el intervalo de valores fue de 0.060 a 5.582 ($x = 0.472$, $s.d = 0.101$) y en *A. lueddemanniana* los valores estuvieron entre 0.23 y 2.73 ($x = 0.684$, $s.d = 0.560$). Claramente se observa que *A. lueddemanniana* tiene mayor flujo génico promedio por población que *A. mexicana*.

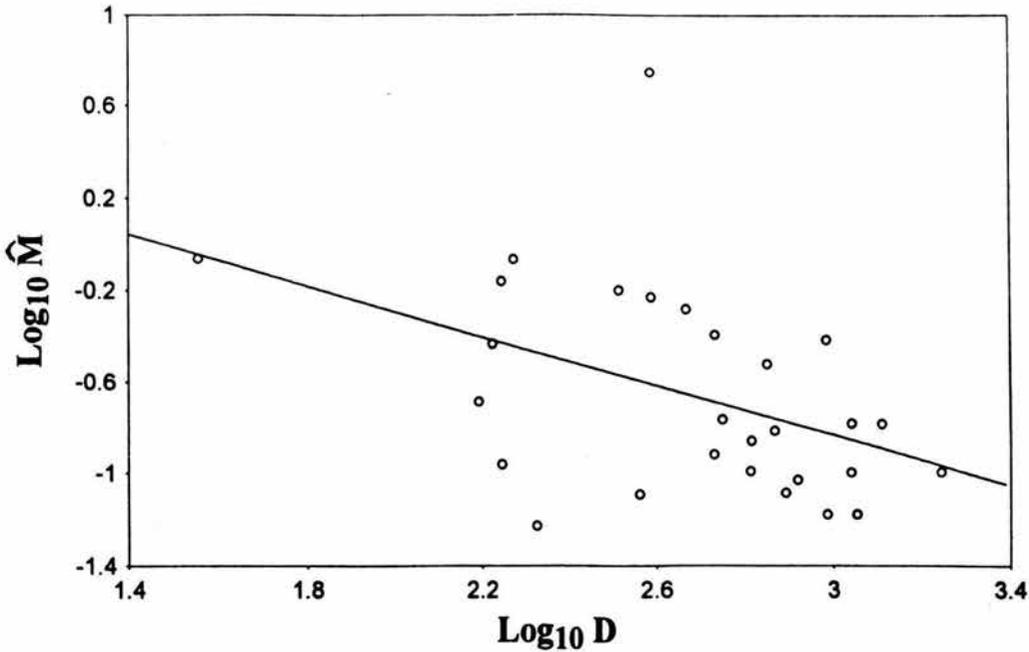


Fig. 4.3. Ajuste lineal entre el flujo génico ($\text{Log}_{10} \hat{M}$) y la distancia geográfica en Km ($\text{Log}_{10} D$) entre pares de poblaciones de *A. mexicana*.

Las matrices de distancias genéticas entre pares de poblaciones (Nei, 1978) en *A. mexicana* y *A. lueddemanniana* se muestran en las tablas 4.7 y 4.8, respectivamente. La distancia promedio entre pares de poblaciones en *A. mexicana* (0.345) resultó dos veces mayor que entre las poblaciones de *A. lueddemanniana* (0.172). Asimismo, el intervalo de valores fue mucho más amplio en *A. mexicana*.

Tabla 4.7. Matriz de distancias genéticas (arriba de la diagonal) y geográficas, en Km (abajo de la diagonal), entre ocho poblaciones de *Aechmea mexicana* en México.

Población	1	2	3	4	5	6	7	8
1	—	.487	.456	.481	.536	.281	.505	.256
2	1096	—	.056	.008	.064	.529	.099	.544
3	828	364	—	.072	.045	.510	.079	.538
4	968	156	212	—	.082	.549	.104	.577
5	1100	36	388	176	—	.581	.069	.664
6	1284	168	536	328	188	—	.623	.130
7	736	540	176	388	560	708	—	.723
8	1748	652	964	780	648	464	1.128	—

Tabla 4.8. Matriz de distancias genéticas (arriba de la diagonal) y geográficas, en Km (abajo de la diagonal), entre siete poblaciones de *Aechmea lueddemanniana* en México.

Población	1	2	3	4	5	6	7
1	—	.290	.145	.338	.135	.089	.275
2	172	—	.174	.146	.173	.129	.192
3	172	20	—	.183	.082	.023	.216
4	160	24	12	—	.289	.186	.066
5	356	468	452	444	—	.067	.219
6	260	180	204	204	612	—	.201
7	84	248	260	248	252	367	—

4.5 DISCUSION

El análisis de las frecuencias genotípicas reveló que algunos loci de las especies estudiadas no están en equilibrio de Hardy-Weinberg, ello se ve a través de los índices de fijación los cuales fueron (en su mayoría) positivos y significativamente diferentes de cero. El déficit de heterocigotos es mucho más alto de lo que se esperaría por azar. En las especies de *Podaechmea* predomina la autofertilización y/o el apareamiento entre parientes o vecinos genéticamente muy parecidos. El sistema de apareamiento pareciera estar jugando un papel determinante en los patrones de variación genética encontrados.

El que sean especies que predominantemente se autofertilizan podría constituir una estrategia ventajosa ya que, la producción de semillas por esta vía es independiente de la disponibilidad de los polinizadores. La evolución de esta alternativa reproductiva se favorecerá si el costo de producir la progenie es menor y la adecuación de los individuos resultantes es igual o mayor a la de los producidos a través de la fertilización cruzada (Barrett y Eckert, 1990; Waller, 1993).

Una de las consecuencias de la autofertilización es la depresión por endogamia. Hay numerosas evidencias acerca del efecto negativo de la endogamia en poblaciones naturales (Jain, 1976; Schemske, 1983; Schemske y Lande, 1985; van Treuren *et al.*, 1993). Sin embargo, es posible que las especies de *Podaechmea* hayan evolucionado sin padecer significativamente

los efectos de depresión por endogamia. Ello dependerá de la manera como se establezca la relación entre el fenómeno de depresión por endogamia y la tasa de autofertilización (Barrett y Kohn, 1991). Se han planteado varios escenarios, asociados a la base genética de la depresión endógamica, para explicar esta relación. Las alternativas planteadas involucran dos contextos diferentes, dominancia y sobredominancia. Los valores de heterocigosis encontrados en las especies de *Podaechmea*, aunque bajos, indican que hay eventos de fertilización cruzada con cierta frecuencia. Estos entrecruzamientos permitirían, por un lado, el mantenimiento de cierta variabilidad genética y, por el otro, evitarían la aparición de alelos recesivos delétereos (Wright, 1978).

Se ha reportado que el acarreo de alelos delétereos (carga genética) es menor en las especies herbáceas en comparación a las leñosas (Barrett y Eckert, 1990). Arroyo y Squeo (1990) encontraron en una comunidad alpina en la Patagonia chilena que las especies herbáceas y de menor tamaño presentaban menores niveles de entrecruzamiento y ello parece estar asociado con una menor carga genética en este tipo de plantas. Es probable que las epífitas por ser plantas herbáceas padezcan en menor grado los efectos de depresión endogámica. La forma de vida parece ser importante en la evolución de los sistemas de apareamiento.

La autofertilización restringe el flujo génico entre las poblaciones e incrementa su diferenciación. En las poblaciones en *A. mexicana* y *A. lueddemanniana* los dos estimadores de diferenciación genética, F_{st} y D

(tablas 4.5 a 4.8), apoyan esta afirmación. Los valores de F_{st} son extremadamente altos, esto indica que ambas especies están muy estructuradas genéticamente (sobre todo en *A. mexicana*) y que el flujo génico no es una fuerza importante en la evolución del grupo. Valores tan altos de F_{st} han sido encontrados en pocas especies (Hamrick, 1983). Dentro de las Bromeliaceae estos valores son moderados en comparación a los reportados para *Tillandsia recurvata* (0.906), una bromelia epífita autógama ampliamente distribuida desde el sur de los Estados Unidos hasta Argentina (Soltis *et al.*, 1987).

En general se encontró una alta correlación entre los dos estimadores de la estructura genética (F_{st} y θ), ello puede tener que ver con que los tamaños de muestra fueron homogéneos entre las poblaciones y siempre estuvieron alrededor de 30 individuos. Los estimadores de F de Weir y Cockerham parecen ser mejor predictores cuando el tamaño de muestra es pequeño y heterogéneo entre las poblaciones. Tal vez sería posible, utilizando muchos datos, establecer un factor de corrección entre ambos métodos.

Todos los valores de Nm (excepto para el locus APX en *A. lueddemanniana*, tabla 4.6) y los de \hat{M} (Fig. 4.3) fueron menores que uno. Este resultado corrobora la idea del escaso flujo génico que hay entre las poblaciones de estas especies. Sin embargo, tampoco puede decirse que son extremadamente bajos si los comparamos con los reportados para otras plantas que se autofertilizan (Govindaraju, 1989).

En las poblaciones de *A. mexicana* hay aislamiento por distancia (Slatkin, 1987 y 1993), es decir, el flujo génico disminuye con la distancia física que separa a las poblaciones (Fig. 4.3). En *A. lueddemanniana* no se encontró patrón alguno en relación al flujo génico.

En la Fig. 4.4 se muestra gráficamente la relación entre valores promedios de H y G_{st} con Nm en 34 especies que predominantemente se autofertilizan (Govindaraju, 1989). Nm presentó una correlación positiva con la heterocigosis ($r=0.504$, $p= 1 \times 10^{-5}$) y negativa con G_{st} ($r= -0.622$, $p= 0.02$). Los datos de *A. mexicana* y *A. lueddemanniana* se incorporaron en el análisis. Los valores que muestran las especies de *Aechmea* se ajustan bastante bien a este patrón. Al aumentar el flujo génico se incrementa, por un lado, la variabilidad genética y ello se refleja en la heterocigosis y por otro se disminuye, al menos en poblaciones pequeñas, la probabilidad de fijación de alelos por deriva génica.

La distribución de las epífitas es agregada porque depende de la disponibilidad de los hospederos (Benzing, 1981; Bennett, 1986). Estos no son continuos espacialmente y ello tiene un efecto directo sobre el aislamiento de las poblaciones y la fijación de alelos diferentes en cada una a través de deriva génica. El establecimiento de estas plantas está estrechamente relacionado con la presencia y calidad de los claros entre las ramas y con la textura, porosidad, humedad y composición química-biológica (presencia de plantas criptogamas) de la corteza (Sugden, 1981; Bennett,

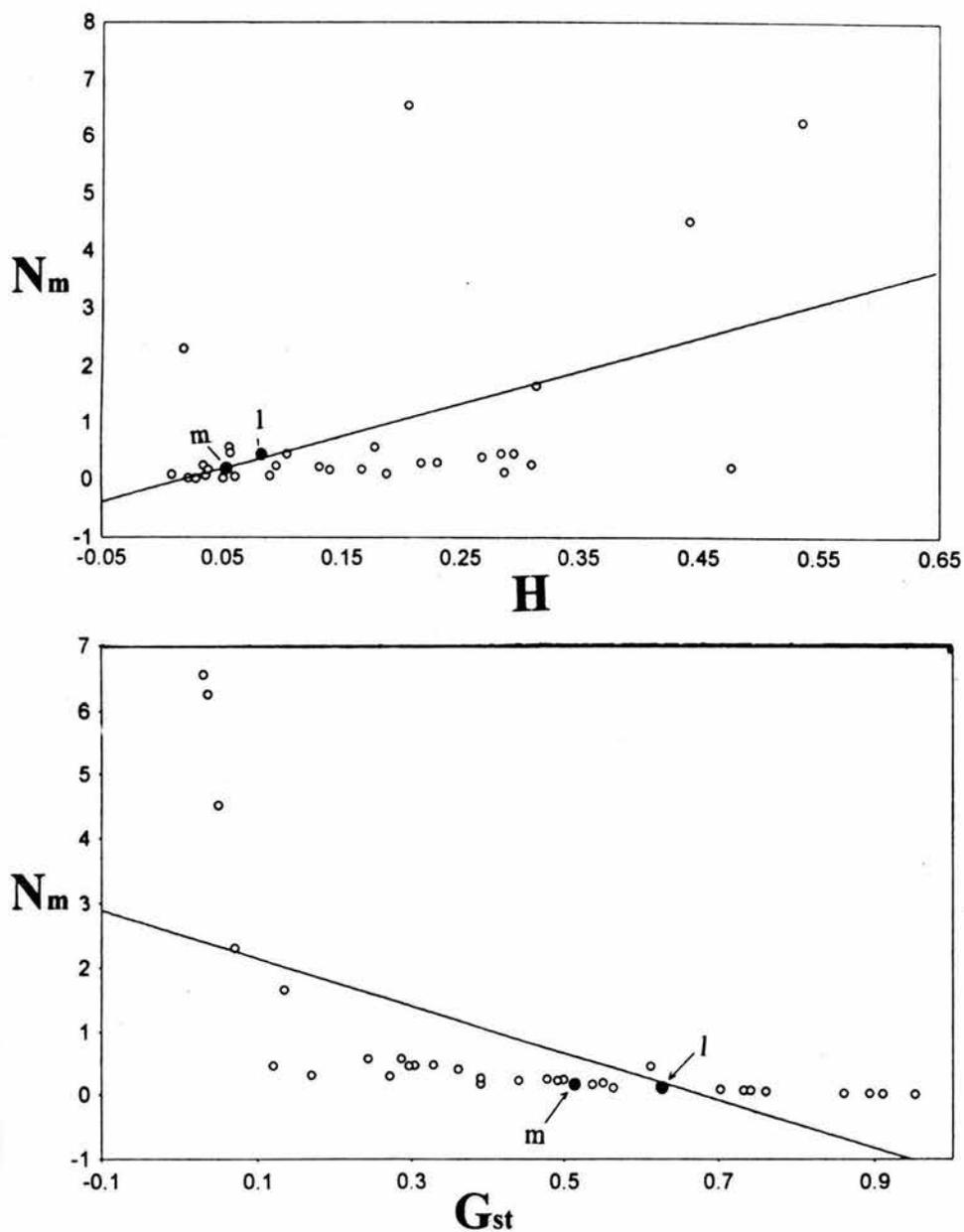


Fig. 4.4. Relación entre el flujo génico, N_m , con la heterocigosis, H y la diferenciación interpoblacional, G_{st} , en especies que predominantemente se autofertilizan (datos tomados de Govindaraju, 1989). La gráfica incluye a las especies *A. mexicana* (m) y *A. lueddemanniana* (l).

1987; van Leerdam *et al.*, 1990). Estas características varían dentro y entre los hospederos generando una diversidad de microhábitas.

Los hábitats donde crecen las epífitas carecen de suelo, presentan baja disponibilidad de agua y nutrientes y son efímeros. El tiempo de vida máximo de estas plantas es igual a la del hospedero, (\cong 10-100 años). En general, es más corto ya que depende de la estabilidad de la corteza y de las ramas (Bennett, 1987).

La autofertilización y la propagación vegetativa son alternativas reproductivas comunes en las epífitas que garantizan el éxito a corto plazo. Se ha reportado que las bromelias epífitas tienen una tasa de recambio del 30% anual a través de regeneración vegetativa (Bennett, 1986). Es probable que la temporalidad del hábitat haya ejercido una presión selectiva a favor de estas estrategias.

La deriva génica es la fuerza evolutiva más importante en las especies de *Podaechmea* estudiadas (con poblaciones pequeñas y aisladas). Sin embargo, es posible que la selección contrarreste, en cierta medida, el efecto de la deriva. Es probable que ello tenga que ver con la variabilidad del hábitat. Silander (1985) encontró una correlación positiva entre una alta diferenciación entre poblaciones, plasticidad fenotípica y heterogeneidad ambiental con bajos niveles de diversidad genética en *Spartina patens*, una planta herbácea y perenne. La heterogeneidad ambiental facilitaría que prevaleciera la selección sobre las otras fuerzas evolutivas pero, la acción de

esta sería distinta dentro de cada población y en consecuencia, las poblaciones se volverían divergentes.

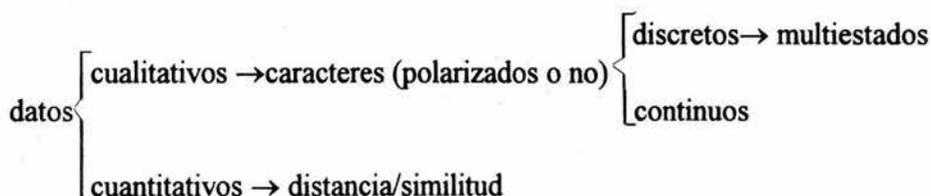
CAPÍTULO 5

RELACIONES FILOGENÉTICAS

5.1 INTRODUCCIÓN

Una filogenia representa una propuesta de la historia evolutiva de un grupo de organismos que comparten una serie de caracteres y tienen un origen común. La separación de los taxa a partir de un ancestro común involucra una serie de procesos de divergencia con o sin especiación. La reconstrucción de una filogenia siempre será una hipótesis sobre la historia evolutiva del grupo, ya que se basa en información incompleta. Es imposible conocer todos los eventos que permitieron la creación de una especie, todos sus ancestros, el orden en que aparecieron y el tiempo que transcurrió entre cada una de las ramificaciones asociadas a su árbol de vida (Avice, 1994).

En la reconstrucción de una filogenia se pueden utilizar datos morfológicos, de proteínas (inmunológicos y aloenzimáticos) y de ADN (hibridización, análisis de fragmentos de restricción y secuenciación). En general, pueden agruparse dentro del siguiente esquema (Swofford y Olsen, 1990):



Los datos de aloenzimas se han utilizado en reconstrucciones filogenéticas tanto de manera cualitativa como cuantitativa. En el esquema cualitativo se utiliza al alelo como el carácter y a su presencia y/o ausencia como los estados. La presencia o ausencia de un alelo puede ser más importante que su frecuencia, ya que es probable que esta haya estado sometida a deriva génica o selección. Además, el hecho de que la suma de las frecuencias alélicas para cada locus debe ser igual a uno viola la premisa de la independencia de los caracteres, ya que el incremento en la frecuencia de al menos uno de los alelos disminuye la del resto. Frente a este hecho la utilización del locus como carácter representó una alternativa a las desventajas que presentaba el uso de las frecuencias alélicas como estados del carácter. En este contexto los alelos se consideran como los estados (con o sin polarización) del carácter y se pueden codificar de manera cualitativa (presencia-ausencia) o cuantitativa (Swofford y Olsen, 1990). Sin embargo, el uso de las frecuencias alélicas transformadas en unidades de distancia genética no viola la premisa de independencia de los caracteres y por ello se han empleado frecuentemente en reconstrucciones filogenéticas. A través de esta transformación se genera una matriz de distancias genéticas entre pares de taxa mediante diversos métodos (Avice, 1994). Entre los más utilizados está el propuesto por Nei, que estima el número de sustituciones de codones que han ocurrido desde que dos taxa divergieron. El método de Nei asume que la tasa de sustitución génica por locus es homogénea para todos los taxa analizados (Swofford y Olsen, 1990).

La reconstrucción filogenética a partir de una matriz de distancias genéticas se realiza mediante diversos métodos de agrupamiento. Algunas de las técnicas más utilizadas han sido el UPGMA ("unweighted pair group method with arithmetic average") y el Neighbor-joining. El UPGMA selecciona el valor de distancia más pequeña y conecta a las taxa involucrados a través de un nodo que se dibuja en una posición adecuada a lo largo de un eje de distancias. Posteriormente, esta distancia se descarta y se repite el procedimiento varias veces. En cada ciclo se agrupa acorde a la distancia mínima promedio entre los taxa. Una de las premisas básicas de este método es que la tasa de evolución de todas las ramas del árbol es igual. El Neighbor-joining es un método de agrupamiento que construye una matriz de distancias modificada, en la cual la separación entre cada par de nodos se ajusta con base en la divergencia promedio del resto de los nodos y es más relajado que el UPGMA en relación a la premisa de que todos los linajes han divergido simultáneamente y además no asume una tasa de sustitución constante entre los taxa (Swofford y Olsen, 1990; Avise, 1994).

La electroforesis de aloenzimas ha sido una herramienta útil en la sistemática (Gotlieb, 1973, 1974; Buth 1984; Wendel y Weeden, 1989). La aplicabilidad de esta técnica varía según el grupo y su uso en este campo del conocimiento ha generado controversias por sus limitaciones. La electroforesis de enzimas no detecta todos los polimorfismos bioquímicos que existen en los organismos, ya que el 90% del genoma es ADN que no codifica; hay diferencias en los nucleótidos que no se transcriben (intrones, secuencias flanqueantes), ni se traducen (extremidades no codificantes de

ARNm) y además, porque las terceras bases de codones rara vez son informativas debido a la redundancia del código genético (Nevo, 1978; Hartl y Clark, 1989). Sin embargo, en la revisión de algunos experimentos en los que se evalúa la validez de este procedimiento, Lewontin (1985) concluye que es bastante confiable para estimar la variación de aminoácidos en poblaciones naturales y en algunos casos permite plantear hipótesis acerca de la evolución de especies intragenéricas. Es importante tener en cuenta que no existe una relación clara entre las similitudes genéticas y los tiempos de divergencia desde el ancestro común. Esto se debe, entre otras cosas, a que no todos los sitios del genoma ni todas las proteínas evolucionan a la misma tasa. Sin embargo, la divergencia promedio entre loci si puede reflejar una relación funcional con el tiempo o el número de generaciones particularmente cuando largos periodos de tiempo están involucrados (Avice, 1974; Crawford, 1990).

La sistemática del subgénero *Podaechmea* ha sido poco estudiada. En la primera clasificación que se hizo del grupo se incluyeron seis especies: *Aechmea mexicana*, *A. lueddemanniana*, *A. galeotti*, *A. tuitensis*, *A. ferruginea* y *A. macvaughii* (Smith y Downs, 1974, 1977 y 1979). Posteriormente, Smith y Kress (1990) propusieron elevar el subgénero *Podaechmea* a nivel de género. Recientemente, Read y Baensch (1994) publicaron una nota señalando un cambio taxonómico en el grupo y propusieron crear un nuevo género, *Ursulaea*, que incluiría sólo a *A. tuitensis* y *A. macvaughii*. Este planteamiento *a priori* implica que estas dos especies son más cercanas filogenéticamente entre si que cualquiera de ellas

con *A. mexicana* o *A. lueddemanniana*. Sin embargo, todos los cambios planteados en el grupo se han basado sólo en datos morfológicos tomados de la literatura y no en una revisión exhaustiva de material de herbario ni de nuevas colectas. Por otro lado, las descripciones morfológicas que se han hecho de *A. mexicana* y *A. lueddemanniana* descansan en la longitud de los caracteres cuyos intervalos de valores se sobrelapan en muchos casos. Utley (1994) señala que individuos robustos de *A. lueddemanniana* y raquíticos de *A. mexicana* son indistinguibles, lo cual puede generar problemas al identificar las poblaciones. Es posible que algunas de las diferencias entre estas especies correspondan a plasticidad fenotípica y que en realidad se trate de una sólo especie o por el contrario se trate de más de dos especies mezcladas. Sin embargo, las características de las partes reproductivas de estas especies muestran claras diferencias (tabla 5.1).

Considerando que las relaciones filogenéticas propuestas entre las especies de *Podaechmea* se han basado sólo en caracteres morfológicos y que estos parecen ser insuficientes para dilucidar las relaciones taxonómicas en el grupo, se requiere de herramientas adicionales, diferentes a las morfológicas, para establecer con mayor precisión las relaciones filogenéticas de este complejo de especies.

Tabla 5.1. Características de la inflorescencia en las especies: *Aechmea mexicana*, *A. lueddemanniana*, *A. macvaughii* y *A. tuitensis* (Smith y Downs, 1974, 1977 y 1979).

Especie	Inflorescencia	Sépalos	Pétalos	Estambres	Ovario
<i>A. mexicana</i>	paniculada erecta	libres, triangulares asimétricos	ligulados con 2 escalas fimbriadas en la base	epipétalos y adnatos a los pétalos	globoso
<i>A. lueddemanniana</i>	paniculada erecta	libres, oblongos, terminando en punta, asimétricos con alas	ligulados con 2 escalas subfimbriadas en la base	una serie entre los pétalos y sépalos, la otra adnata a la base de los pétalos	subcilíndrico
<i>A. macvaughii</i>	bipinada hacia la base y en el ápice racemosa péndula	casi libres, aserrados subtriangulares, ligeramente asimétricos	ligulados con 2 escalas fimbriadas en la base	epipétalos y adnatos a los pétalos	globoso
<i>A. tuitensis</i>	racemosa erecta	libres, lanceolados ligeramente simétricos, enteros	oblongos con 2 escalas fimbriadas en la base	oblongos, una de las series adnata a la base de los pétalos	globoso

5.2 OBJETIVO

Hacer, con base en datos de electroforesis de enzimas, una propuesta de las relaciones filogenéticas del subgénero *Podaechmea* constituido por las especies *Aechmea mexicana*, *A. lueddemanniana*, *A. macvaughii* y *A. tuitensis*.

5.3 MATERIALES Y MÉTODOS

Los datos primarios para cumplir con el objetivo de este capítulo fueron las frecuencias alélicas calculadas para diversos loci y poblaciones. Estas se transformaron en unidades de distancia genética entre pares de poblaciones para generar una matriz de distancias (Nei, 1972). Se hicieron dos análisis, el primero consideró a todas las especies e incluyó la información de los cuatro loci compartidos por todas (APX, CPX, GOT y MDH) y el segundo involucró sólo a las especies de amplia distribución, *A. mexicana* y *A. lueddemanniana*, abarcando siete loci. En este trabajo todas las distancias se calcularon a través de la fórmula de Nei (1972). En ambos análisis se empleó el método Neighbor-joining, el cual genera un árbol a partir de agrupamientos sucesivos de linajes (Felsenstein, 1993). Para establecer el grupo externo en el Neighbor-joining se utilizó a aquella población o especie genéticamente más alejada según el diagrama generado por UPGMA.

5.4 RESULTADOS

Aechmea macvaughii limitó el uso de un mayor número de loci en el análisis global, ya que fue imposible montar más de cinco loci utilizando los mismos sistemas aplicados a las otras especies. Por esto y también porque *A. macvaughii* resultó la especie más alejada al emplear el método de UPGMA se consideró como grupo externo. La Fig. 5.1a muestra las relaciones filogenéticas entre las diferentes poblaciones y especies de este grupo. Resulta evidente la gran divergencia entre los taxa. Sin embargo, se observa que varias poblaciones forman grupos. Las poblaciones de *A. mexicana* (m-COR, m-SAG, m-HID y m-COF) que se encuentran en el extremo izquierdo del diagrama se ubican en los estados Veracruz, Oaxaca y Chiapas. Las cuatro poblaciones restantes de esta especie quedan en dos grupos, uno conformado por las poblaciones m-NEC de Puebla y m-XIL de San Luis Potosí y el otro por las poblaciones m-VAL de Jalisco y m-SAT de Oaxaca. Está última se encuentra muy cercana geográficamente a m-SAG. Las 7 poblaciones de *A. lueddemanniana* quedan separadas en tres grupos, uno que se ubica al extremo derecho de la figura, compuesto por las poblaciones l-OCO y l-BER de Chiapas, l-MAR y l-AMA de Veracruz (estas dos se encuentran muy cercanas geográficamente). Luego tenemos a las poblaciones l-HID de Veracruz y l-HUA de Oaxaca y finalmente l-TUX de Veracruz queda aislada. *A. tuitensis* (TUI) queda muy cerca de l-SAR.

El análisis realizado sólo con las especies *A. mexicana* y *A. lueddemanniana*, empleando siete loci, genera un mejor panorama de las relaciones filogenéticas entre los taxa (Fig. 5.1b). Siguiendo el mismo criterio

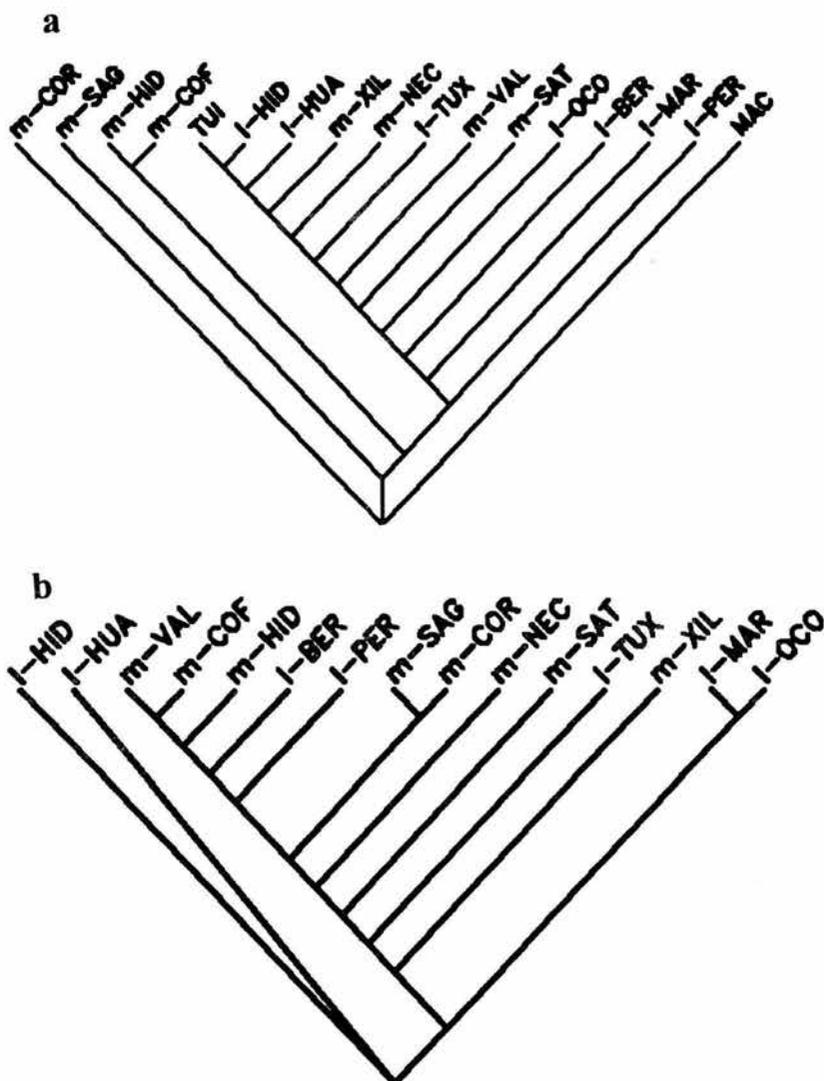


Fig. 5.1. Cladograma mostrando las relaciones filogenéticas entre todas las especies de *Podaechmea* en México (a): *Aechmea mexicana*, *A. lueddemanniana*, *A. macvaughii* y *A. tuitensis* y considerando sólo a *Aechmea mexicana* y *A. lueddemanniana* (b). Todas las poblaciones de *Aechmea mexicana* (m) y *A. lueddemanniana* (l) están etiquetadas con la inicial de la especie seguido por el nombre de la población. Las únicas poblaciones de las especies *A. macvaughii* y *A. tuitensis* aparecen escritas con las iniciales de cada una.

que en el análisis de todas las especies, se empleó el UPGMA para establecer el grupo externo. Este quedó conformado por la población m-COF de *A. mexicana* (Chiapas). Las poblaciones de *A. mexicana* siguen más o menos el mismo patrón del análisis anterior con excepción de las poblaciones m-NEC y m-XIL las cuales quedan alejadas. Cuatro poblaciones de *A. lueddemanniana* (l-MAR, l-OCO, l-HUA y l-SAR) forman un grupo poco compacto, l-BER y L-PER quedan juntas pero mezcladas con m-VAL y m-COF y finalmente, l-TUX se aleja del resto.

5.5 DISCUSIÓN

El análisis de isoenzimas no dilucidó las relaciones filogenéticas entre las especies de *Podaechmea*. El patrón observado reveló una historia evolutiva complicada. Los resultados obtenidos indican que *A. tuitensis* está más cerca filogenéticamente al complejo *mexicana-lueddemanniana* que a *A. macvaughii*. Este hecho contradice la idea de Read y Baensch (1994) en el sentido de que *A. macvaughii* y *A. tuitensis* están más cerca entre sí que de *A. mexicana* o *A. lueddemanniana*. En consecuencia, no parece adecuado colocar a estas dos especies juntas en el nuevo género *Ursulaea* como lo proponen estos autores.

El análisis filogenético hecho en este trabajo no logra separar las poblaciones de *A. mexicana* de las de *A. lueddemanniana*, aún cuando hay algunas poblaciones de ambas especies que se mantienen juntas al considerar

cuatro o siete loci. Este resultado refleja los altos niveles de estructuración obtenidos para estas dos especies por separado.

Crawford *et al.*, (1984) al analizar filogenéticamente poblaciones de tres especies herbáceas y anuales de *Asteraceae* (*Calliopsis leavenworthii*, *C. paludosa* y *C. tinctoria*) encontraron que algunas poblaciones de las dos especies se parecían tanto o más que algunos pares de poblaciones dentro de cada especie. Es relevante mencionar que para estas dos especies de *Asteraceae* se habían hecho revisiones taxonómicas exhaustivas y se les consideraba como taxa distintos.

Las causas que pueden estar detrás de este patrón pueden ser varias y de diferente naturaleza. Las Bromeliaceae son plantas muy propensas a la hibridización, lo que probablemente complica establecer las relaciones filogenéticas en el grupo *Podaechmea*. Es posible que la evolución de las barreras reproductivas en estas especies ocurra a una tasa menor en comparación a los genes relacionados con los niveles de divergencia en el grupo. Whitkus (1992) estudió un complejo de *Carex pachystachya* (Cyperaceae) y encontró una alta divergencia entre poblaciones y la relacionó con un reducido flujo génico, lo que facilita la acción de la deriva génica y la fijación de alelos diferentes en cada población. Los resultados obtenidos en las especies de *Podaechmea* reflejan una situación similar al encontrado por Whitkus.

Los datos aloenzimáticos no lograron resolver las relaciones filogenéticas entre las especies de *Podaechmea*. Para resolver las relaciones filogenéticas en este grupo es necesario reunir información acerca de otros aspectos. En este sentido sería importante utilizar un mayor número de loci, hacer un análisis morfométrico detallado, conocer la variación en las características de historia de vida entre las poblaciones más divergentes, establecer si hay diferencias, por especies, en la estructura de los tricomas (Benzing, 1987). Estas estructuras son importantes en el balance hídrico y son diferentes para cada especie. Finalmente, una comparación directa de los niveles de diferenciación genética entre organismos se puede obtener a través de datos moleculares. En este sentido el análisis de ADN permitirían dilucidar los tiempos de divergencia entre las poblaciones y especies y además, evaluar que tanto hibridizan entre si (Avice, 1994).

CAPÍTULO 6
DIVERSIDAD GENÉTICA INTRAPOBLACIONAL EN
Aechmea tuitensis.

6.1 INTRODUCCIÓN

La reproducción asexual se refiere a todos aquellos mecanismos a través de los cuales se produce progenie sin que ocurra recombinación genética. Al no requerirse un vector para que ocurra la polinización, este tipo de reproducción puede ser más eficiente que la sexual en el mantenimiento de genotipos exitosos y en la fidelidad con que se transmiten los caracteres maternos. La progenie resultante es genéticamente idéntica a la madre. Sin embargo, la reproducción sexual tiene la ventaja de permitir la recombinación genética y facilitar la dispersión a nuevos lugares (Abrahamson, 1980; Harper, 1985). Es probable que ambas estrategias representen alternativas dentro de la historia de vida de una planta y que exista un balance óptimo entre individuos sexuales y asexuales. El predominio de una u otra forma reproductiva probablemente depende tanto de factores bióticos (polinizadores, competencia, densidad, forma de vida) como abióticos (Abrahamson, 1980; Silander, 1985).

Existen dos tipos de reproducción asexual (Silander, 1985): la agamosperma, que incluye a aquellos en los que hay producción de semillas o embriones sin fertilización y la reproducción vegetativa o clonalidad, la cual involucra la reproducción a través de estructuras vegetativas (rizomas, bulbos, estolones).

La propensión de las plantas a ser clonales tiene mucho que ver con que su forma de construcción es una reiteración secuencial de una estructura básica o módulo, que consiste en una hoja, su yema axilar asociada y un segmento de tallo o rama que la conecta con las otras unidades (Abrahamson, 1980; Harper, 1981). Cada uno de estos módulos constituye un ramet y es capaz de sobrevivir y morir de manera independiente mientras que el individuo genético derivado de un cigoto y que constituye la unidad sobre la cual actúa la selección y las demás fuerzas evolutivas es el genet (Sarukhán y Harper, 1973).

Entre las ventajas que presenta la clonalidad tenemos una alta eficiencia en la transmisión de los genes maternos, una inmortalidad potencial de uno o varios genotipos, un desarrollo inmediato de la progenie y una rápida colonización y explotación de hábitats (Abrahamson, 1980; Silander, 1985). La clonalidad afecta la historia de vida, el flujo génico, la dinámica poblacional y la acción de las fuerzas evolutivas (Cook, 1983; Bayer, 1991; McClintock y Waterway, 1993; Parks y Werth, 1993). El hecho de que los ramets estén muy conectados entre sí y enraizados a un sitio particular provoca que la dispersión de los granos de polen y semillas sea muy local. Si paralelamente a ello hay una fuerte selección, es posible que se establezcan varios clones a muy corta distancia dentro de la población (Cook, 1983).

Se ha sugerido que las plantas clonales tienen poca variación genética (Harper, 1977; Janzen, 1977). Sin embargo, algunos estudios recientes demuestran lo contrario (Cheliak y Dancik, 1982; Price y Waser, 1982;

Jefferies y Gottlieb, 1983; Ellstrand y Roose, 1987). Hay pocos trabajos que comparen la variación genética entre poblaciones o especies cercanas de plantas asexuales y sexuales. Usberti y Jain (1978) analizaron la diversidad genética entre plantas sexuales y asexuales de *Panicum maximum* y encontraron muy pocas diferencias. Este tipo de estudios serían importantes de realizar y permitiría conocer que tan probable es que coexistan ambos tipos reproductivos y que efecto tendría en los patrones de variación genética.

Estudios recientes en plantas clonales han demostrado que estas, en general, tienen una estructura genética constituida por un mosaico de clones donde cada una de las poblaciones pareciera ser única en su composición genética y ello podría tener implicaciones adaptativas y ser importante en el contexto de la ecología evolutiva de las especies clonales (Alper *et al.*, 1993; Lokker *et al.*, 1994). Al no tener muchos eventos recombinatorios, la variabilidad genética clonal disminuye la carga genética por un lado y garantiza el mantenimiento de cierta diversidad genética por otro (Bayer, 1991).

Si bien el crecimiento clonal se ha identificado en numerosas hierbas perennes (ver Cook, 1983), existen pocos estudios acerca de la estructura y variación genética en especies herbáceas tropicales con crecimiento clonal extensivo. Una gran diversidad genética clonal puede ser determinante en especies endémicas extremas (con muy pocas poblaciones) para garantizar su sobrevivencia y disminuir el riesgo de la extinción. En estas plantas la

probabilidad de pérdida de un alelo es menor ya que existen muchas copias o ramets, y ello prácticamente inmortaliza al genet (Pleasant y Wendel, 1989).

Aechmea tuitensis es una especie herbácea y perenne que forma clones extensivos sobre rocas en un bosque de pino encino a 1,500 msnm. Sólo está reportada para una localidad en el mundo conocida como El Tuito, en Jalisco. Esta especie es una endémica extrema (Rabinowitz, 1980) y con un crecimiento predominantemente clonal, situación que ofrece una extraordinaria oportunidad para estudiar los efectos de la clonalidad y el endemismo sobre la variación genética.

6. 2 OBJETIVOS

- Estimar los niveles de variación genética dentro y entre subpoblaciones en *Aechmea tuitensis*.
- Estimar la diversidad de genotipos multilocus en *Aechmea tuitensis*.
- Establecer si existe alguna relación entre el área que ocupa cada subpoblación de *Aechmea tuitensis* y su diversidad genética.
- Evaluar si entre las subpoblaciones de *A. tuitensis* hay aislamiento por distancia.

6. 3 MATERIALES Y MÉTODOS

6.3.1. Muestreo y electroforesis

Se colectaron 112 ramets pertenecientes a veinte puntos de muestreo (Fig. 6.1), cada uno de ellos correspondió a una roca. Se trazó un transecto que se estableció como eje **y** de un plano XY sobre el que se ubicaron los distintos sitios de colecta que correspondieron a diferentes posiciones en el eje **x**. El área de colecta fue de 5.6 ha. Dentro de cada punto el muestreo fue completamente al azar. Los veinte puntos fueron agrupados en nueve subpoblaciones. Esto con la finalidad de alcanzar un número estadísticamente adecuado de muestras por subpoblación para los análisis. Cada muestra fue etiquetada y refrigerada de inmediato. Posteriormente, se congelaron en nitrógeno líquido y se transportaron al laboratorio donde se almacenaron en un ultracongelador a -70°C . El tratamiento de las muestras, las soluciones buffers utilizadas y la designación de los alelos se describen en el capítulo tres. Se analizaron nueve loci que correspondieron a seis enzimas: peroxidasa catódica y anódica (APX-CPX), malato deshidrogenasa (MDH), diaforasa (DIA), aspartato amino transferasa (GOT), 6-fosfogluconato deshidrogenasa (6-PGD) y amino leucino peptidasa (LAP).

6.3.2. Análisis de los datos

Para analizar la diversidad genética se calculó, a partir de las frecuencias alélicas:

- el número promedio de alelos por locus, el porcentaje de loci polimórficos, la heterocigosis promedio observada y esperada para cada subpoblación.

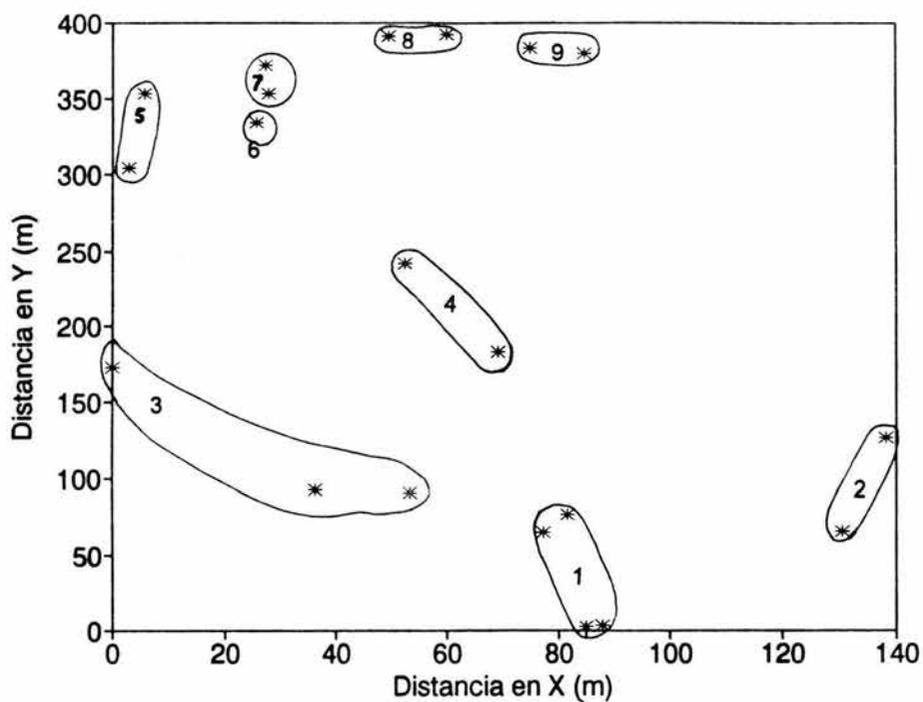


Fig. 6.1. Ubicación de las nueve subpoblaciones muestreadas en *Aechmea tuitensis* en El Tuito, Jalisco, México. Cada subpoblación estuvo formada por uno o varios puntos de muestreos (*).

La estructura genética se analizó a través del cálculo de:

- las frecuencias alélicas y genotípicas. Se evaluó si las primeras eran homogéneas con una prueba de G y si las segundas estaban en equilibrio de Hardy-Weinberg.
- los índices de fijación, los parámetros de estructura genética F , θ y f (Weir y Cockerham, 1984). Se evaluó su significancia.
- la matriz de distancias genéticas entre pares de poblaciones (Nei, 1972).

Para analizar gráficamente las relaciones genéticas entre las subpoblaciones se hizo un UPGMA (Felsestein, 1993).

La dinámica del flujo génico entre las subpoblaciones se evaluó a través de:

- la fórmula propuesta por Crow y Aoki (1984).
- análisis de aislamiento por distancia (Slatkin, 1993)

En el contexto de la clonalidad se hicieron las siguientes estimaciones:

- número de genotipos multilocus diferentes, su frecuencia a nivel global y en cada sitio
- porcentaje de poblaciones que comparten los genotipos multilocus más frecuentes
- índice de diversidad, D_G , de Simpson corregido (Pielou, 1969; Parker, 1979) a través de la siguiente fórmula:

$$D_G = 1 - \sum \left\{ n_i (n_i - 1) / N(N-1) \right\}$$

donde n_i = número de individuos del genotipo i y N = número total de individuos.

Este índice es una medida de diversidad que hace énfasis en los cambios de las unidades más comunes y que ha sido muy utilizado en la biología para estimar diversidad. En el contexto de la biología, este índice evalúa la probabilidad de que dos individuos escogidos al azar provenga de la misma especie (o clon en este caso). Esta medida puede tomar valores entre 0 y 1. Cero indica que se trata de una muestra homogénea, poco diversa, mientras a medida que se acerca a uno refleja mayor diversidad (Ellstrand y Levin, 1982).

- proporción distinguible” (PG) que representa un descriptor general robusto de la diversidad clonal no cubierta por el estudio y se obtiene dividiendo el número de clones detectados entre el tamaño muestral (Ellstrand y Roose, 1987).

6.4 RESULTADOS

Los estimadores de diversidad, el porcentaje de loci polimórficos y la heterocigosis observada y esperada para cada subpoblación de *A. tuitensis* se presentan en la tabla 6.1. *Aechmea tuitensis* presentó 90% de loci polimórficos. Sin embargo, el promedio dentro de las subpoblaciones fue de 38.26%, con el valor más alto en la subpoblación ocho (66.7 %) y el más bajo (22.2%) en las subpoblaciones dos y tres. La heterocigosis esperada presentó un valor promedio igual a 0.120 y la observada igual a 0.061.

Tabla 6.1. Área, número de ramets presentes y muestreados y diferentes estimadores de diversidad genética en nueve subpoblaciones de *Aechmea tuitensis* en México (errores estándar entre paréntesis).

Subpob	área (m ²)	total ramets	ramets colectados	% loci polimórficos	heterocigosis observada	heterocigosis esperada
1	81.6	278	20	55.6	.078 (.054)	.143 (.055)
2	16.7	14	8	22.2	.042 (.042)	.062 (.042)
3	6.9	35	11	22.2	.061 (.030)	.075 (.035)
4	9.1	29	8	33.3	.083 (.042)	.078 (.039)
5	84.9	104	12	44.4	.048 (.021)	.129 (.057)
6	5.6	21	12	33.3	.046 (.028)	.149 (.072)
7	69	109	11	33.3	.091 (.055)	.113 (.051)
8	75.9	31	14	66.7	.048 (.031)	.179 (.062)
9	87.8	63	14	33.3	.056 (.031)	.152 (.076)

los loci que mostraron heterogeneidad en las frecuencias alélicas fueron CPX, DIA-1, DIA-2, LAP-1, MDH y 6PGD (tabla 6.2).

Tabla 6.2. Loci que mostraron heterogeneidad en sus frecuencias alélicas en nueve subpoblaciones de *Aechmea tuitensis* en México.

Locus	alelos	G	g.l.	p=
CPX-1	3	98.68	16	1×10^{-5}
DIA-1	2	15.89	8	.04
DIA-2	3	37.72	16	.008
LAP-2	2	25.96	8	1×10^{-5}
6PGD-1	2	92.21	8	1×10^{-5}
MDH-4	2	20.54	8	.008

El locus CPX-1 en la subpoblación ocho fue el único que mostró diferencias significativas en sus frecuencias genotípicas. Es importante señalar que en algunos casos se reordenaron las categorías genotípicas para alcanzar frecuencias mayores de uno y poder hacer la prueba de χ^2 .

Se calcularon 41 índices de fijación asociados a nueve loci de *A. tuitensis* (tabla 6.3) de los cuales 19 (46.3%) fueron positivos, 22 (53.6%)

Tabla 6.3. Índices de fijación de los loci polimórficos en nueve subpoblaciones de *Aechmea tuitensis* en México.

Subpobl.	Locus						
	APX-1	CPX-1	DIA-1	DIA-2	LAP-1	LAP-2	6PGD-1 MDH-4
1		.640 ³	-0.333	-0.053	-0.026		1.000 ¹ 1.000 ¹
2		1.000 ³		-0.231			
3			-0.158	-0.048	-0.048		.614
4			-0.143	-0.143			-0.143
5	-0.043		-0.091	.758 ³			-0.053 1.000 ²
6		.579	-0.043	-0.043			1.000 ² 1.000 ²
7	-0.048		-0.294	-0.158			1.000 ²
8	1.000 ¹	.491	-0.037	1.000 ¹		1.000	.627 1.000 ¹
9	-0.037	-0.561	.627	-0.037			1.000 ¹

1: $p < 0.05$; 2: $p < 0.01$; 3: $p < 0.001$

negativos y 13 (31.7%) resultaron significativamente diferentes de cero (todos positivos). Esto indica un exceso de homócigos en algunos loci, en particular para el locus MDH. Ningún valor negativo de F fue estadísticamente diferente de cero.

El análisis de la estructura genética de las subpoblaciones en *A. tuitensis* a través de los estimadores de Weir y Cockerham (1984) se presenta en la tabla 6.4, los valores de los errores estándar se emplearon para calcular los intervalos de confianza y así evaluar si estos eran o no significativos. Los valores promedio de las F fueron 0.631, 0.196 y 0.536 para $f(F_{is})$, $\theta(F_{st})$ y $F(F_{it})$, respectivamente.

Tabla 6.4. Valores promedios de las F (Weir y Cockerham, 1984) y N_m en nueve loci de *Aechmea tuitensis* (los errores estándar se muestran entre paréntesis).

Locus	$F(F_{is})$	$\theta(F_{st})$	$f(F_{it})$	N_m
APX-1	.475 (.413)	-.027 (.015)	.493 (.412)	0
CPX-1	.756 (.036)	.297 (.079)	.653 (.039)	.053
DIA-1	-.065 (.114)	.045 (.034)	-.111 (.146)	4.044
DIA-2	.254 (.201)	.017 (.001)	.239 (.204)	10.938
LAP-1	-.010 (.007)	-.015 (.015)	.005 (.012)	0
LAP-2	1.889 (.889)	.273 (.128)	1.889 (.889)	.509
6PGD-1	1.141 (.366)	.805 (.446)	.884 (.282)	.046
MDH-4	.968 (.036)	.020 (.037)	.967 (.037)	9.192
prom.	.631 (.167)	.196 (.094)	.536 (.192)	0.810

Dentro de las f hubo dos valores negativos asociados a los loci DIA-1 y LAP-. En las θ hubo 2 valores negativos (APX-1 y LAP-1). Sin embargo, deben tomarse como si fueran iguales a cero. Estos pueden darse porque los componentes de varianza en la estimación de las F de Wright a través del método de Weir y Cockerham son en realidad covarianzas y no están restringidas a valores positivos solamente. Finalmente el locus DIA-1 mostró un valor menor que cero en las F . Los resultados indican que hay mayor variación dentro de las subpoblaciones que entre estas y que la relación es de 3 a 1.

La figura 6.2 muestra los intervalos de confianza para las θ de cinco loci de *A. tuitensis*. Los intervalos de confianza son muy heterogéneos entre sí. Básicamente, hay tres grupos que no se sobrelapan. De estos, dos están formados por dos loci, el primero por CPX-1 y LAP-2 y el segundo por DIA-1 y DIA-2. Finalmente, el tercer grupo sólo contiene al locus 6PG-1. El patrón que muestran los intervalos de confianza de las θ (F_{st}) es heterogéneo. Ello podría indicar que la selección natural está operando sobre algunos de estos loci.

En la tabla 6.4 se presentan los valores de flujo génico estimados a través de Nm para cada locus de *A. tuitensis*. Los valores van desde 0 a 10.938. El análisis de aislamiento por distancia (Slatkin, 1993) no fue significativo en las subpoblaciones de *A. tuitensis*, es decir, el flujo génico entre estas no disminuye con la distancia ($r^2 = 0.026$ $p = 0.347$).

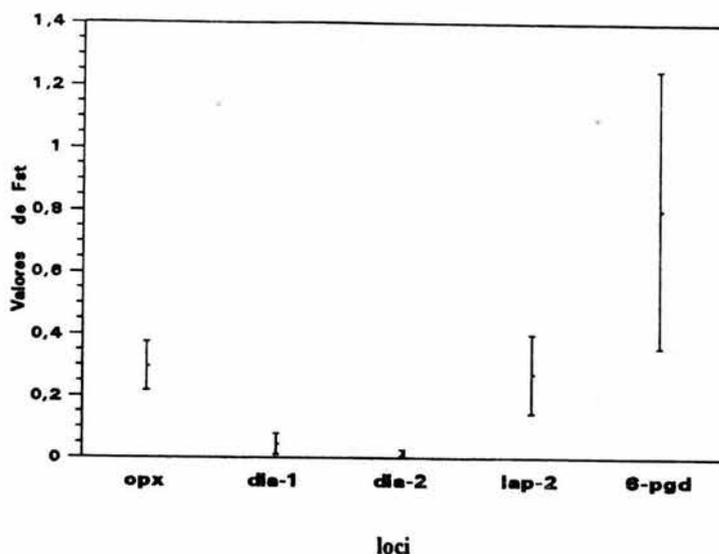


Fig. 6.2. Intervalos de confianza de las F_{st} (Weir y Cockerham, 1984) en cinco loci de nueve subpoblaciones analizadas de *A. tuitensis* en México.

La matriz de distancias e identidades genéticas para pares de subpoblaciones (Nei, 1978) en *A. tuitensis* se muestra en la tabla 6.5, los valores promedio fueron 0.970 para las identidades y 0.030 para las distancias. Este resultado indica que las subpoblaciones son muy parecidas genéticamente. Esta poca diferenciación puede deberse a que existe considerable flujo génico entre ellas y/o el que sean clonales.

El análisis de agrupamiento, UPGMA, muestra gráficamente las relaciones genéticas entre las subpoblaciones de esta especie (Fig. 6.3). Básicamente se forman tres grupos, el primero contiene sólo a la subpoblación 1 (muy separada del resto), el segundo está formado por las

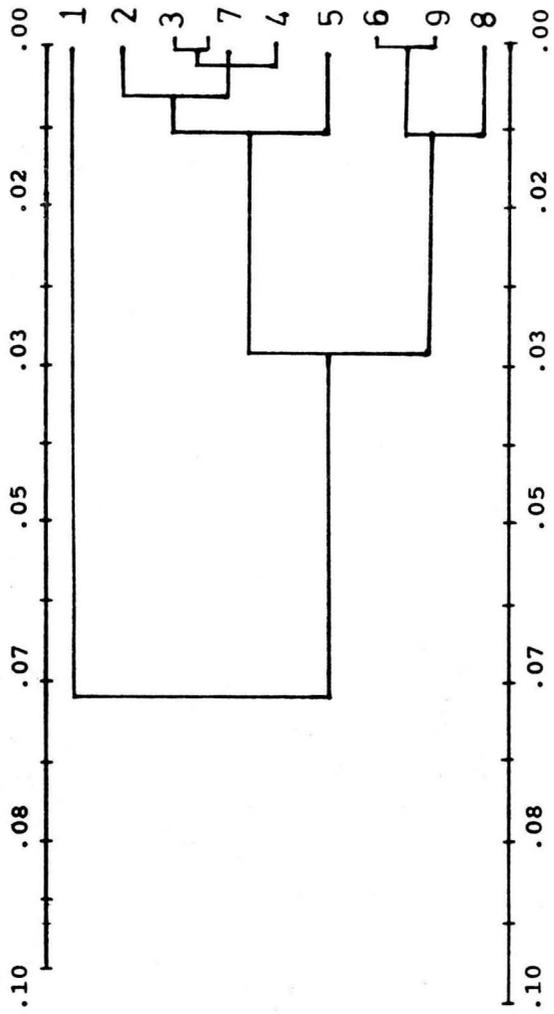


Fig. 6.3. Dendrograma mostrando las relaciones genéticas (UPGMA) entre nueve subpoblaciones de *A. tuiensis* en México.

Tabla 6.5. Matriz de distancias (arriba de la diagonal) e idéntidades genéticas (debajo de la diagonal) entre nueve subpoblaciones de *Aechmea tuitensis* en El Tuito, Jalisco, México.

Población	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	—	.070	.061	.041	.066	.069	.062	.078	.105
2	.933	—	.005	.001	.014	.015	.007	.019	.034
3	.941	.995	—	.001	.004	.018	.000	.033	.041
4	.959	.999	.999	—	.011	.023	.002	.030	.048
5	.936	.986	.996	.989	—	.019	.002	.043	.046
6	.933	.985	.982	.977	.981	—	.021	.008	.000
7	.940	.993	1.000	.998	.998	.979	—	.039	.044
8	.925	.981	.968	.970	.958	.992	.962	—	.010
9	.901	.967	.960	.953	.955	1.000	.957	.990	—

subpoblaciones 2, 3, 4, 5 y 7 y el tercero por las subpoblaciones 6, 8 y 9.

En la tabla 6.6 se muestran los 33 genotipos multilocus detectados, es probable que cada uno corresponda a un genet. Estos genotipos se fueron numerados en forma consecutiva. Se encontraron ramets separados que poseían genotipos idénticos. La tabla 6.7 muestra cuántos genotipos multilocus (clones) estaban presentes en cada una de las subpoblaciones y a cuales correspondieron. Hay genotipos presentes más de una vez.

En la Fig. 6.4 se exponen las frecuencias de cada uno de los treinta y tres genotipos multilocus detectados en *A. tuitensis*. Los genotipos que aparecieron sólo en una vez se reunieron en la categoría de **únicos** y

Tabla 6.6. Genotipos multilocus encontrados en *Aechmea tuitensis* en México. Los genotipos están ordenados así: APX, CPX, DIA-1, DIA-2, LAP-1, LAP-2, 6-PGD, GOT Y MDH

1	22 33 33 33 22 11 11 22 22	17	22 45 33 33 22 11 11 22 11
2	22 33 33 33 22 11 11 22	18	22 34 33 33 22 11 11 22 22
3	22 33 33 33 22 11 22 22 22	19	22 34 33 33 22 11 22 22 22
4	33 45 33 33 22 22 11 22 22	20	22 34 33 44 22 11 11 22 22
5	32 33 33 33 22 11 12 22 22	21	22 34 32 33 22 11 11 22 22
6	32 44 33 33 22 11 11 22 22	22	22 33 32 33 22 11 22 22 22
7	32 33 33 33 22 11 11 22 22	23	22 33 32 33 22 11 22 22 11
8	22 44 33 33 22 11 11 22 22	24	22 33 32 32 22 11 22 22 22
9	22 44 33 33 22 11 11 22 11	25	22 33 32 33 22 11 11 22 22
10	22 44 32 33 22 11 22 22 22	26	22 33 32 33 22 11 22 22 22
11	22 44 33 32 22 11 11 22 22	27	22 33 32 33 22 11 11 22 11
12	22 44 32 33 22 11 12 22 22	28	22 33 32 33 22 11 11 22 12
13	22 44 33 33 22 22 11 22 22	29	22 33 33 33 32 11 11 22 22
14	22 55 33 33 22 11 11 22 22	30	22 33 33 32 22 11 11 22 22
15	22 45 33 33 22 11 11 22 22	31	22 33 33 33 22 11 12 22 22
16	22 45 33 33 22 22 11 22 33	32	22 33 33 44 22 11 11 22 22
		33	22 33 22 34 22 11 11 22 11

Tabla 6.7. Genotipos multilocus (clones) presentes en cada una de las nueve subpoblaciones de *A. tuitensis* en México.

SUBPOB.	NO. CLONES	GENOTIPOS MULTILOCUS
1	9	1, 2, 3, 10, 18, 22, 23, 24, 29
2	3	1, 11, 30
3	6	1, 25, 27, 28, 29, 30
4	5	1, 25, 26, 30, 31
5	5	1, 5, 27, 30, 32
6	8	1, 2, 8, 9, 14, 15, 18, 24
7	5	1, 2, 7, 25, 30
8	8	1, 4, 8, 12, 13, 16, 19, 20
9	8	1, 6, 8, 14, 15, 17, 21, 33



BIBLIOTECA
CENTRO DE ECOLOGIA

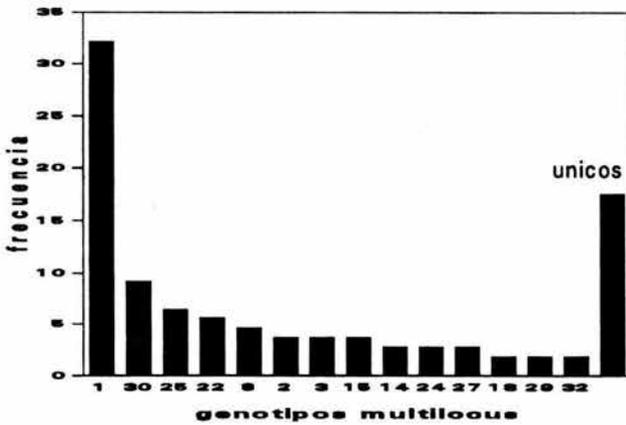


Fig. 6.4. Frecuencia de los treinta y tres genotipos multilocus (genets) encontrados en nueve subpoblaciones de *A. tuitensis* en México.

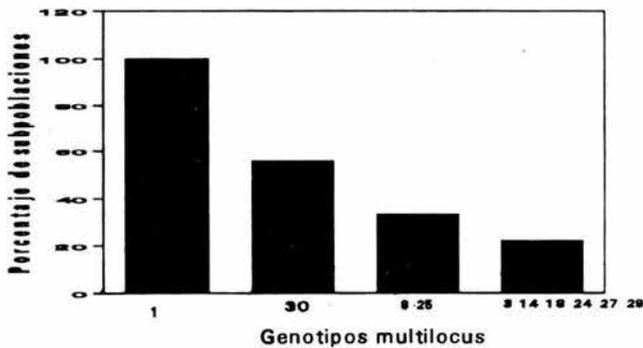


Fig. 6.5. Porcentaje de subpoblaciones de *A. tuitensis* que comparten los genotipos multilocus más frecuentes.

presentaron (en conjunto) una frecuencia de 17.43%. Básicamente, existe un genotipo predominante, el número 1, con una frecuencia igual a 32.11% y varios con frecuencias que van de 1.83% a 9.17%. La distribución de los diferentes genotipos en las subpoblaciones se muestra en la Fig. 6.5. En esta figura se presenta el porcentaje de poblaciones que compartieron los distintos genotipos multilocus. El genotipo más frecuente (1) está en el 100 % de las subpoblaciones, mientras que un 55.6% de las subpoblaciones presentan el genotipo 30, el 33.3% los genotipos 2, 8 y 25 y el resto de los genotipos, no únicos (14, 18, 24, 27, 29), lo comparten el 22% de la subpoblaciones. El genet más común abarca a todas las subpoblaciones muestreadas y los demás genotipos multilocus ocurren dentro de este. La correlación entre el área de cada subpoblación y el número de genotipos multilocus diferentes presentes no resultó significativa ($p < 0.05$).

El índice de diversidad clonal, D_G (Parker, 1979; Ellstrand y Levin, 1982), fue igual a 0.878. este valor está muy cercano a 1. Esto indica una gran heterogeneidad entre las muestras. La única población de *A. tuitensis* consiste de una gran diversidad de genets. La proporción distinguible fue igual a 0.303, este valor refleja que sólo se muestreó un 30% de la variación que existe en la especie.

6.5 DISCUSIÓN

El mapeo de los genotipos en la única población que existe en el mundo de *A. tuitensis* indica que esta especie es policlonal y consiste de un genet con una frecuencia moderada, varios que aparecen una sola vez (únicos) y otros que se presentan con una frecuencia relativamente baja. Este resultado también ha sido reportado para otras especies con crecimiento clonal (Cheliak y Dancik, 1982; Bayer, 1991; McClintock y Waterway, 1993; Parks y Werth, 1993).

Aechmea tuitensis, como planta fundamentalmente clonal presentó una considerable cantidad de variación genética, estimada a través de el número de genotipos multilocus (33), el índice de diversidad genética D_G (0.878) y la proporción distinguible, PD (0.303). Estos valores están dentro de los reportados para varias especies con algún tipo de propagación vegetativa (Ellstrand y Roose, 1987). El estudio comparativo realizado por ellos abarcó 27 especies y 11 loci y el intervalo de valores que encuentran para el número de genotipos multilocus es de 1 a 222 ($x=16.1$), para D_G va de 0.1 a 1 ($x= 0.61$) y para PD de 0.002 a 1 ($x = 0.17$). *Aechmea tuitensis* presentó valores más altos que el promedio para los tres estimadores. El valor de PD estima la probabilidad de que en un muestreo aleatorio la siguiente muestra tenga un genotipo distinto. Esta medida refleja que aún existe un 30.3% de variación no detectada a través del estudio. Ello podría señalar que la variación genética encontrada en este estudio subestima los niveles reales que contiene la especie. En la tabla 6.8 se pueden apreciar valores de diferentes

Tabla 6.8. Diversidad genética en ocho especies con crecimiento clonal estimadas a través del % de loci polimorficos (P), número de genotipos multilocus, índice de diversidad (D) y la proporción distinguible. Además se presentan el número de poblaciones/individuos muestreados (pob./N) y el número de loci analizados (L).

Especie	pob./N	L	P	genotipos multilocus	D	P.D.
<i>Carex lasiocarpa</i> ¹	39/1329	12	92	489	.764	.368
<i>C. pellita</i> ¹	20/558	12	67	176	.718	.315
<i>Aechmea magdalenae</i> ²	9/430	18	33	17	.855	.039
<i>Populus tremuloides</i> ³	7/222	26	87	222	1	1
<i>Tretaria capillaris</i> ⁴	1/100	11	54	68	.970	.680
<i>Pteridium aquilinum</i> ⁵	1/89	6	----	45	----	.506
<i>Antennaria rosea</i> ⁶	21/560	4	----	37	.999	.066
<i>Aechmea tuitensis</i> ⁷	1/109	9	38.3	33	.878	.303

1: McClintock y Waterway, 1993; 2: Murawski y Hamrick, 1990; 3: Ckeliak y Dancik, 1982; 4: von Perger, *et al.*, 1994; 5: Parks y Werth, 1993; 6: Bayer, 1991; 7: este estudio.

estimadores de diversidad genética en algunas plantas clonales (en su mayoría herbáceas). En particular, *A. tuitensis* con una única población presentó mayor diversidad genética que siete poblaciones de *A. magdalenae* (Murawski y Hamrick, 1990), una especie perteneciente al mismo género pero que exhibe una distribución geográfica mucho más amplia (se encuentra desde México a Ecuador).

El origen de los altos niveles de variación genética encontrados en muchas plantas clonales no está del todo claro. Existen varias hipótesis al respecto. Es posible que ocurra de manera simultánea eventos reproductivos sexuales y asexuales (en *A. tuitensis* se observaron ramets con

inflorescencias), que la mutación sea una fuerza evolutiva importante, que históricamente la especie haya tenido niveles altos de variación, o que se mantenga un considerable flujo génico entre las subpoblaciones (Bayer, 1991).

La poca diferenciación entre las subpoblaciones de *A. tuitensis* estimada a través de las F_{st} pareciera indicar que la reproducción sexual es un evento frecuente. Sin embargo, no se puede descartar la posibilidad de que la estructura genética de *A. tuitensis* este más relacionada con su clonalidad.

El papel de las mutaciones somáticas en los niveles de variación genética en plantas ha sido muy cuestionado. Whitman y Slobodchikoff (1981) le confieren gran importancia a este proceso (reportando evidencias de ello en plantas cultivadas) y señalan que estas mutaciones pueden ocurrir en las células de las yemas y posteriormente propagarse a través de mecanismos sexuales y asexuales. En plantas con crecimiento clonal, larga vida y una alta tasa regenerativa existe una mayor probabilidad de que aparezcan mutaciones somáticas y que esos cambios se mantengan, favoreciendo la adaptación a condiciones locales Sin embargo, en plantas silvestres las evidencias son escasas y la frecuencia con que ocurren parece ser bastante baja (Antolin y Strobeck, 1985).

Burdon (1980) señala que la heterogeneidad del ambiente favorecería una alta diversidad genética a través de la coexistencia de clones con diferentes capacidades adaptativas por selección diversificadora. Así, la

variación espacio-temporal del ambiente favorecería la evolución, como biotipos especializados, en aquellas especies con potencial de propagación vegetativo (Schmid, 1985 y 1990). Sin embargo, Soane y Watkinson (1979) demostraron, a través de simulaciones, que una alta diversidad genética en plantas que se propagan clonalmente puede mantenerse por largos periodos en ausencia de selección. A partir de datos demográficos de ramets y propágulos describieron el ciclo de vida de *Ranunculus repens* y utilizaron esta información como base para simular el flujo de ramets y el comportamiento de clones en poblaciones donde no operaba la selección. Sus resultados señalan que en ambientes estables el mantenimiento de poblaciones, por crecimiento clonal, es una manera de preservar un genotipo exitoso, mientras que en uno inestable, es posible que ello ocurra de una manera más compleja. Así, la selección sería intensa en la fase de plántula y en consecuencia la diversidad genética de las plantas adultas funcionaría como una memoria de eventos pasados de selección. Cada uno de los sitios donde se encuentran las plantas de *A. tuitensis* es particular en relación a su superficie total, forma y exposición a la luz. Una gran diversidad genética clonal le permitiría a esta especie desarrollarse diferencialmente dependiendo de las condiciones de cada roca (condiciones microclimáticas: humedad, incidencia de luz, presencia y cantidad de hojarasca).

Si *A. tuitensis* tiene eventos reproductivos sexuales y originalmente tuvo altos niveles de variación genética (quizás porque su establecimiento se dió por más de una semilla), la probabilidad de erosión de esa variación es muy baja si consideramos que los genets son potencialmente inmortales.

CAPÍTULO 7

CONSIDERACIONES FINALES

Las especies de *Podaechmea*, tienen niveles moderadamente bajos de diversidad genética aloenzimática. Sin embargo, contrario a lo que se esperaba, las especies *Aechmea macvaughii* y *A. tuitensis*, que sólo tienen una población en el mundo, mostraron (en general) mayor polimorfismo genético que todas las poblaciones de *A. mexicana* y que algunas de *A. lueddemanniana*, especies con una distribución geográfica más amplia. Esto demuestra que la distribución geográfica no siempre explica los niveles de variación genética presentes en las especies. La cantidad y distribución de la diversidad genética tiene que ver con la interacción diferencial entre las fuerzas evolutivas y las características de historia de vida. En este sentido la distribución geográfica es un aspecto más.

En las especies analizadas en este trabajo los niveles de diversidad genética y su distribución están directamente relacionados con su forma de crecimiento (hierbas, perennes), su sistema de apareamiento predominante (autofertilización), una alta tasa de propagación vegetativa y con las características asociadas a los hábitats donde crecen. Estos presentan una distribución discontinua y severas restricciones en la disponibilidad de agua y nutrientes, en comparación al suelo (Bennett, 1986 y 1987).

Los altos índices de fijación, la considerable diferenciación entre poblaciones (altos valores de F_{st} y D) y bajos niveles de flujo génico

($N_m < 1$) son características típicas de plantas que predominantemente se autopolinizan. Sin embargo, los índices de diversidad y la estructura genética encontrados en este estudio indican que estas especies difieren en el grado de endogamia. Dentro de las especies de amplia distribución geográfica, *A. mexicana* es mucho más endogámica que *A. lueddemanniana*. Este hecho hace que *A. mexicana* sea menos dependiente de los polinizadores y ello posiblemente le confiere ventajas en la colonización de nuevos sitios, mantenimiento de más poblaciones y en mayor números de hábitats. *Aechmea mexicana* se distribuye desde México hasta Ecuador, mientras que *A. lueddemanniana* sólo llega hasta Honduras. La distribución ecológica de *A. mexicana* (bosques mesófilos, perennifolios y secos) también es más amplia que la de *A. lueddemanniana* que sólo se encuentra en bosques perennifolios.

El hábitat de las epífitas se presenta en parches, es inestable y ofrece una serie de restricciones físicas para el desarrollo de estas plantas. En estos ambientes aquellas especies que dependan menos de agentes polinizadores tendrán mayores posibilidades de dejar descendencia. En consecuencia, es de esperar la evolución de sistemas genéticos que favorezcan una rápida diferenciación entre poblaciones pequeñas a través de la autocompatibilidad, retención de compatibilidad interespecífica y algunas veces poliploidía. Estas características son frecuentes en las epífitas (Bawa y Ashton, 1991). Gentry y Dodson (1987) encontraron en comunidades de tierras bajas tropicales que las especies epífitas presentaban mayores niveles de autocompatibilidad y autogamia que las terrestres.

En las Bromeliaceae se desconocen los efectos de la depresión por endogamia. Sin embargo, en estudios con otras especies, la literatura es contradictoria. Karron (1989) evaluó en varias especies de *Astragalus* la magnitud de la depresión por endogamia en semillas producidas por dos tipos de plantas, autofertilizadas y de fertilización cruzada y no encontró diferencias significativas entre los dos sistemas de cruzamiento en cuanto al número de semillas producidas y el porcentaje de germinación, mientras que si las hubo en el peso de las semillas. La depresión por endogamia también puede ser evidente en etapas posteriores en el ciclo de vida de una planta (Schaal, 1980). Estas evidencias sugieren la posibilidad de que las especies de *Podaechmea* padezcan los efectos de la depresión endogámica. Sin embargo, es posible que a través de selección se eliminen los alelos deletéreos.

Los bajos niveles de diversidad genética a consecuencia de la endogamia pueden no ser importantes en los efimeros hábitats que explotan la mayoría de estas plantas. La dinámica temporal de los ambientes a los que se asocian las epífitas provoca constantes reducciones en el tamaño poblacional (Benzing, 1981; Bennett, 1986 y 1987). En esta situación las especies que puedan autofertilizarse tendrán una mayor probabilidad de dejar descendencia (Karron, 1991).

La gran diferenciación interpoblacional, los pequeños tamaños efectivos y los altos niveles de endogamia encontrados en las especies de *Podaechmea* refleja que existe poco flujo génico entre sus poblaciones y que la deriva es una fuerza evolutiva importante. Adicionalmente, el hecho de que

las características físicas de cada hospedero pueden ser muy específicas indica que la selección puede estar jugando un papel determinante en la evolución del grupo. Sytsma y Schaal (1985) encontraron un patrón similar en un complejo de especies pertenecientes al género *Lisianthus*.

A. tuitensis, la única especie no epífita del grupo y con un crecimiento predominantemente clonal presentó niveles de variación genética relativamente altos en comparación a otras especies herbáceas endémicas extremas (Baskauf *et al.*, 1994) Además, mostró una alta diversidad clonal. Es probable que estos niveles de variación se deban a eventos de fertilización cruzada que ocurren con cierta frecuencia o, de que el establecimiento inicial de la especie involucró a muchas semillas o, aunque pocas portaban considerables niveles de polimorfismo genético.

El polimorfismo genético a nivel de aloenzimas encontrado en estas especies es menor en comparación al reportado para otras hierbas tropicales y perennes, no Bromeliaceae (Hamrick, 1983 y 1987). Esto no necesariamente implica que genéticamente tengan poca variación. Es posible que las especies de *Podaechmea* presenten una gran variabilidad en caracteres cuantitativos heredables los cuales tienen, en general, mayor valor adaptativo (Lande y Barrowclough, 1987).

En el contexto de la biología de la conservación, la genética de poblaciones es una disciplina que permite conocer una parte de la historia evolutiva y ecológica de las especies y eso constituye información básica

necesaria en el planteamiento de estrategias en la materia. Sin embargo, hay que tener claro que en la bioconservación los aspectos demográficos son vitales y deben ser evaluados ya que están muy relacionados con las probabilidades de extinción de las especies (Oyama, 1993). Lande (1988) reporta que hay especies que se han extinguido a pesar de tener una considerable cantidad de polimorfismo genético y ello tiene que ver con que las fluctuaciones en las proporciones macho-hembra afectan la varianza en el tamaño efectivo de la población.

A diferencia de los árboles tropicales que mantienen la mayor parte de su variación dentro de las poblaciones (Eguiarte, 1990; Hamrick y Murawski; 1991), las especies herbáceas y perennes presentan mayor variación entre las poblaciones que dentro de ellas y esto tiene repercusiones en las estrategias de conservación *in situ* a proponer. Las especies de *Podaechmea*, en su mayoría epífitas, son plantas muy endogámicas, con poblaciones altamente diferenciadas que reflejan poco flujo génico entre sí. Estas características plantean la necesidad de conservar el número suficiente de poblaciones, a expensas de un menor número de individuos, para garantizar el mantenimiento de toda la diversidad genética que contienen. Dole y Sun (1992) proponen la misma estrategia en *Limnanthes floccosa* una especie herbácea y endémica para California que presenta el mismo patrón en los niveles y distribución de la variación genética.

En términos de reservas sería recomendable tener información de las especies claves dentro de cada forma de vida. En el caso particular de las

especies de *Podaechmea*, que son plantas epífitas con tamaños efectivos pequeños, sería necesario un mayor número de reservas aunque pequeñas.

El hecho de que las plantas de *Podaechmea* sean muy endogámicas hace necesario evaluar el efecto de la depresión por endogamia durante su ciclo de vida. En particular, durante la fase de plántula que es crítica en estas plantas (Benzing, 1989). También sería importante conocer qué tanta variación existe en los caracteres cuantitativos de estas plantas y cómo influyen estos en su adecuación y adaptación a los hábitats en que se establecen.

CONCLUSIONES

- Los niveles de variación encontrados en las especies del complejo *Podaechmea* están dentro de los reportados en la literatura para plantas con características similares (herbáceas, perennes).
- Contrario a lo que se esperaría, las especies con una distribución geográfica restringida *A. macvaughii* y *A. tuitensis*, con una única población en el mundo, no están depauperadas genéticamente. Por el contrario, exhibieron niveles de variación considerables y, en general, más altos a los que reporta la literatura y a los encontrados en *A. mexicana*. La distribución geográfica no resultó ser un buen predictor de la variación genética.
- Los niveles de heterocigosis encontrados en estas especie indican que la autofertilización es el sistema de apareamiento predominante.
- Existe una marcada estructuración entre las poblaciones de las especies de amplia distribución *A. mexicana* y *A. lueddemanniana* como lo señalan los valores de las F_{st} y D .
- A través de la técnica de electroforesis no se logró separar filogenéticamente a las especies.
- La variación genética dentro de las nueve subpoblaciones de *Aechmea tuitensis* resultó mayor que entre estas. En relación a la diversidad genética clonal esta especie presentó niveles considerables de variabilidad.

APÉNDICES

I. ELECTROFORESIS

1. Composición química de los sistemas de corrida
2. Características de los sistemas de corrida
3. Recetas de la enzimas utilizadas
4. Abreviaciones
5. Enzimas y loci ensayados

II. FRECUENCIAS ALÉLICAS Y GENOTÍPICAS

1. Frecuencias alélicas en *A. mexicana*
2. Frecuencias alélicas en *A. lueddemanniana*
3. Frecuencias alélicas en *A. macvaughii*
4. Frecuencias alélicas en *A. tuitensis*
5. Frecuencias genotípicas en *A. mexicana*
6. Frecuencias genotípicas en *A. lueddemanniana*
7. Frecuencias genotípicas en *A. macvaughii*
8. Frecuencias genotípicas en *A. tuitensis*
9. Frecuencias alélicas en las subpoblaciones de *A. tuitensis*

III. ESTADÍSTICOS F (BIOSYS Y WEIR-COCKERHAM)

1. *A. mexicana*
2. *A. lueddemanniana*

APÉNDICE I

1. Composición química de los sistemas electroforéticos utilizados en el estudio de la variación genética en cuatro especies del género *Aechmea* (Bromeliaceae).

SISTEMA	GEL	GEL	CHAROLA
8-	Sol. A: 76.8 ml Sol. B: 326.4 “ Agua: 597 “ Se ajusta el pH a 7.6 con HCL	Solución A LiOH:2.4 g Ac.Bórico:23.9 g se ajusta el pH a 8 con LiOH Solución B: Tris: 12.36 g Ac.Citrico:3.36 g	Sol. A: 682 ml Sol. B: 318 ml
4	Dilución del buffer del electrodo 35 ml y aforar con agua pH: 7.5		Ac. Citrico: 16.52 g. Tris: 27 g pH: 7.5

2. Características de los sistemas de corrida empleados en el estudio de la variación genética en cuatro especies del género *Aechmea* (Bromeliaceae)

Característica	Sistema 8-	Sist. Soltis 4
pH gel	7.6	7.5
pH charola		7.5
corriente(mA)	55	40-45
dist.de corrida	6 cm	10 cm

3. Recetas de las enzimas utilizadas en el análisis electroforético

DIA

Los componentes secos se pesan por separado.

1) 2,6 Diclorofenol indofenol	4 mg
2) b-NADH	12 mg
3) Agar	36 mg
añadir:	
Agua destilada a 3 y hervir	24 ml
Tris-HCL pH:8.6 0.025M a 2	20 ml
MTT (1%) a 2	0.8 ml
Agua destilada a 1	4 ml
Mezclar 1, 2 y 3	

APX/CPX

3-Amino-9-etil carbazol	100 mg
Dimetilformamida	7 ml
Agua destilada	90 ml
Peroxido de Hidrogeno (3%)	1 ml
Cloruro de Calcio (10%)	2 ml
Buffer Acetato de Na pH:5 1	5 ml

PGI

D-fructosa 6-fosfato Na ₂	20 mg
Tris-HCL pH:8 1M	10 ml
Agua destilada	90 ml
Cloruro de Magnesio (10%)	1 ml
G6PDH (10 u/ml)	4 ml
TPN (1%)	1 ml
MTT (1%)	2 ml
PMS (1%)	0.1 ml

LAP (pesar por separado)

1) L-leucil β-naptyl amida	20 mg
2) Fast black K sal	50 mg
añadir a 1:	
Dimetilformamida	5 ml
Buffer de fosfato pH: 6 1M	10 ml
Agua destilada	50 ml
Añadir esta mezcla a 2	

GOT

Piridoxal 5-fosfato	5 mg
Fast Blue BB sal	100 mg
Sustrato GOT	100 ml
Sustrato GOT :	
Tris-HCL pH:8 1M	10 ml
Agua destilada	90 ml
α-ac. Ketoglutarico	100 mg
L-ac. Aspartico	100 mg
Ajustar a pH:8 con NaOH	

MDH

DPN	10 mg
Tris-HCL pH:8 1M	10 ml
Agua destilada	80 ml
DL-malato de Na	
pH:8 2M	10 ml
MTT (1%)	1 ml
PMS (1%)	0.1 ml

6PGD

Ac. fosfogluconico	30 mg
NBT	20 mg
EDTA Na ₄	50 mg
Tris-HCL pH:8 1M	10 ml
Agua destilada	50 ml
Cloruro de Mg(10%)	2 ml
TPN (1%)	0.5 ml
MTT (1%)	0.5 ml
PMS (1%)	0.1 ml

4. Abreviaciones de los reactivos utilizados

APX	Peroxidasa anódica
CPX	Peroxidasa catódica
GOT	Aspartato amino transferasa
MDH	Malato deshidrogenasa
6-PGD	6-Fosfogluconato deshidrogenasa
PGI	Fosfogluco isomerasa
DIA	Diaforasa
PMS	Phenazine methasulfate (sigma P-9625)
NBT	Nitro blue tetrazolium (sigma N-6876)
MTT	3-4,5-Dimethylthiazol-1,2-y1-2,5 diphenyltetrazolium (sigma 2128)
TPN	β -Nicotidamide dinucleotido phosphate (sigma N-0505)
β -NADH	β -Nicotidamide adenine dinucleotido (sigma N-8129)
LiOH	Hidroxido de litio
Tris	(Hidrometil) aminometano (sigma T-1378)
G6PDH	Glucosa 6-fosfato deshidrogenasa (sigma G-8878)
HCL	Acido clohídrico
NaOH	Hidróxido de Sodio

4. Número de individuos (N), loci (L), alelos (A) y enzimas analizadas en las especies *A. mexicana*, *A. lueddemanniana*, *A. macvaughii* y *A. tuitensis*.

ESPECIE	N	L	A	ENZIMAS ENSAYADAS
<i>A. mexicana</i>	212	10	27	APX, CPX, DIA, GOT, LAP, MDH, 6-PGD, PGI
<i>A. lueddemanniana</i>	180	7	21	APX, CPX, DIA, GOT, MDH, 6-PGD, PGI
<i>A. macvaughii</i>	30	5	8	APX, CPX, GOT, MDH, PGI
<i>A. tuitensis</i>	112	9	20	APX, CPX, DIA, GOT, LAP, MDH, 6-PGD,

APÉNDICE II

1. Frecuencias alélicas en 10 loci, de ocho poblaciones de *Aechmea mexicana* en México.

Pobl. alelo		locus									
		APX-1	CPX-1	DIA-1	DIA-2	LAP-1	LAP-2	PGI-1	GOT-1	MDH-4	6PGD-1
1	N	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30
	1									.167	1.000
	2	.833		1.000	1.000	1.000	1.000	.067	1.000	.833	
	3	.167	.855					.933			
	4		.150								
2	N	30	30	24	30	29	18	29	23	30	26
	1				1.000	1.000	1.000	.034		.067	.308
	2	.433	.183	1.000				.897	1.000	.883	.673
	3	.533	.800					.069		.050	.019
	4	.033	.017								
3	N	30	30	29	30	30	29	30	30	30	27
	1		.033		.867	1.000	1.000			.117	
	2	1.000	.050	1.000	.133			.900	1.000	.800	.556
	3		.900					.100		.083	.444
	4		.017								
4	N	16	16	15	16	14	15	15	14	16	14
	1				1.000	1.000	1.000	.067		.063	.357
	2	.406		.733				.800	1.000	.813	.643
	3	.594	.969	.267				.133		.125	
	4		.031								
5	N	21	21	20	21	21	21	19	21	21	19
	1				1.000	1.000	.619				
	2	.976	.071	1.000			.381	.789	1.000	.976	1.000
	3	.024	.810					.211		.024	
	4		.119								
6	N	25	25	20	24	25	25	22	25	25	15
	1		.920	.675			.980	.045	1.000	.220	.487
	2	.720	.080	.325	1.000	.900	.020	.750		.680	.533
	3	.280				.100		.205		.100	
7	N	30	30	29	29	30	30	30	30	30	27
	1				1.000	1.000	1.000	.750		.083	.074
	2	1.000	.017	1.000				.250	1.000	.917	.926
	3		.950								
	4		.033								
8	N	30	30	30	30	30	27	29	30	30	26
	1		1.000								
	2	.717		1.000	.833	.950	.926	.897		.317	.962
	3	.283			.167	.050	.074	.103	1.000	.683	.038

2. Frecuencias alélicas en siete loci de siete poblaciones de *Aechmea lueddemanniana* en México.

Pobl.	alelo	locus						
1		APX-1	CPX-1	DIA-2	PGI-1	GOT-1	MDH-4	6PGD-1
	N	30	30	30	29	30	30	18
	1			.967	.603		.833	.375
	2	.917		.033	.397	1.000	.167	.625
	3	.083	1.000					
2	N	20	20	20	20	20	20	18
	1			1.000	.950		.300	
	2	.650	.850		.050	1.000	.700	1.000
	3	.225	.025					
	4	.125	.125					
3	N	22	22	21	20	22	22	13
	1	.114		.976	.700		.045	
	2	.727		.024	.250	1.000	.955	1.000
	3	.114	.977		.050			
	4	.045	.023					
4	N	21	21	21	21	16	21	15
	1			.833	.143			.067
	2	.762	.762	.167	.857	1.000	.929	.933
	3	.238	.190				.071	
	4		.048					
5	N	28	28	28	28	28	28	20
	1	.036	.018	1.000	1.000	.036	.143	.500
	2	.911	.179			.964	.857	.375
	3	.018	.768					.125
	4	.036	.036					
6	N	29	29	29	29	29	29	29
	1	.103		.966	.741		.293	.086
	2	.828		.034	.241	1.000	.690	.897
	3	.052	.690		.017		.017	.017
	4	.017	.310					
7	N	30	30	27	24	28	30	20
	1	.367		.704	.292	.269	.217	.450
	2	.567	.683	.296	.708	.731	.783	.550
	3	.050	.300					
	4	.017	.017					

3. Frecuencias alélicas en cinco loci de
Aechmea macvaughii en México.

alelo	locus				
	APX-1	CPX-1	PGI-2	GOT-1	MDH-4
N	30	30	30	28	30
1			.050	.179	
2	.033		.883	.821	1.000
3	.950		.067		
4	.017	.933			
5		.067			

4. Frecuencias alélicas en nueve loci de *Aechmea tuitensis* en México.

alelo	locus								
	APX-1	CPX-1	DIA-1	DIA-2	LAP-1	LAP-2	GOT-1	MDH-4	6PGD-1
N	112	112	112	112	112	112	112	112	109
1						.973		.138	.835
2	.978		.121	.063	.991	.027	1.000	.853	.165
3	.022	.781	.879	.906	.009			.009	
4		.161		.031					
5		.058							

5. Frecuencias genotípicas que no estuvieron en equilibrio Hardy-Weinberg en 8 poblaciones de *Aechmea mexicana* en México. Previamente corregidas con los métodos de Levene y de Yates.

Pobl.	locus	genotipo	frecuencia		χ^2	g.l.	p=				
			obs.	esp.							
2	APX-1	2-2	10	5.51	11.31	2	.04				
		2-3	6	14.10							
		24/34/44	1	1.99							
		3-3	13	8.41							
	PGD-1	1-2	0	10.98							
		11/13/23	9	3.35							
		2-2	17	11.67							
	3	PGD-1	2-2	13				8.21	22.94	1	1×10^{-5}
			2-3	4				13.58			
			3-3	10				5.21			
MDH-4		1-2	1	5.69							
		11/13/33	3	.59							
		2-2	21	19.12							
		2-3	5	4.07							
4		APX-1	2-2	6	2.52	7.42	2	.02			
			2-3	1	7.97						
			3-3	9	5.52						
	LAP-2	1-1	13	7.93							
		12/22	8	13.08							
	5	APX-1	2-2	17	12.86				10.40	1	.001
			2-3	2	10.29						
			3-3	6	1.86						
		MDH-4	1-2	1	7.63						
			11/33	7	1.32						
1-3			0	1.12							
2-2			16	11.45							
2-3			1	3.47							
6		APX-1	2-2	17	12.86	14.07	1	.000			
			2-3	2	10.29						
	3-3		6	1.86							
	MDH-4	1-2	1	7.63							
		11/33	7	1.32							
		1-3	0	1.12							
		2-2	16	11.45							
		2-3	1	3.47							
	PGD-1	1-1	7	3.14							
		1-2	0	7.72							
2-2		8	4.14								
				34.89	3	1×10^{-5}					
				13.09	1	.000					

cont.....

7	PGI-1	1-1	22	16.78	22.48	1	.000
		1-2	1	11.44			
		2-2	7	1.78			
8	APX-1	2-2	21	15.31	23.04	1	.000
		2-3	1	12.39			
		3-3	8	2.31			
	MDH-4	2-2	9	2.90	23.46	1	.000
	2-3	1	13.20				
	3-3	20	13.90				

6. Frecuencias genotípicas que no estuvieron en equilibrio Hardy-Weinberg en 7 poblaciones de *Aechmea lueddemanniana* en México. Previamente corregidas con los métodos de Levene y de Yates.

Pobl.	locus	genotipo	frecuencia		χ^2	g.l	p=				
			obs.	esp.							
1	DIA-2	1-1	29	28.027	14.87	1	1×10^{-4}				
		1-2	0	1.97							
		2-2	1	.02							
	PGI-1	1-1	16	10.44							
		1-2	3	14.12							
		2-2	10	4.44							
	PGD-1	2-2	10	6.13				16.22	1	.00	
		11/12	6	9.87							
	2	CPX-1	2-2	16				14.39	5.22	1	.022
			44/23/34	1				1.26			
2-4			1	4.36							
PGI-1		1-1	13	9.69							
3	PGI-1	1-2	2	7.18	7.84	2	.002				
		13/23/33	2	1.98							
		2-2	3	1.15							
		CPX-1	2-2	15				12.10			
	23/24	2	7.8								
	33/34/44	4	1.09								
	APX-1	2-2	24	23.18				12.78	1	4×10^{-4}	
11/14/13/33/34/44	1	0.19									
23/24/12	3	4.66									
5	PGD-1	1-1	10	4.87	4.07	1	.043				
		1-2	0	7.69							
		1-3	0	2.56							
		2-2	7	2.69							
		23/33	3	2.18							
	PGD-1	1-1	10	4.87				22.87	3	4×10^{-5}	
1-2	0	7.69									
1-3	0	2.56									
2-2	7	2.69									
23/33	3	2.18									
PGD-1	1-1	10	4.87								

cont.....

6	PGI-1	1-1	21	15.84	22.44	2	1×10^{-3}
		1-2	1	10.56			
		13/23	1	1.00			
		2-2	6	1.60			
MDH-4	1-1	8	2.39	22.25	2	1×10^{-5}	
	1-2	1	11.93				
	13/23	1	1.00				
	2-2	19	13.68				
7	CPX-1	2-2	19	13.90	22.00	2	2×10^{-4}
		2-3	2	12.51			
		24/34	1	1.01			
		3-3	8	2.59			
DIA-2	1-1	19	13.26	24.67	1	1×10^{-5}	
	1-2	0	11.47				
	2-2	8	2.26				
PGI-1	1-1	7	1.94	21.66	1	1×10^{-5}	
	1-2	0	10.13				
	2-2	17	11.94				
GOT-1	1-1	7	1.78	23.53	1	1×10^{-5}	
	1-2	0	10.43				
	2-2	19	13.78				
PGD-1	1-1	9	3.92	18.06	1	2×10^{-5}	
	1-2	0	10.15				
	2-2	11	5.92				

7. Frecuencias genotípicas que no estuvieron en equilibrio Hardy-Weinberg en *Aechmea macvaughii* en México (corregidas con los métodos de Levene y de Yates).

Locus	clase	frecuencia		χ^2	g.l.	p=
		obs.	esp.			
PGI-2	2-2	25	23.36	4.9	1	7×10^5
	11/12/13/33	5	3.05			
	2-3	0	3.59			

8. Frecuencias genotípicas que no estuvieron en equilibrio Hardy-Weinberg en *Aechmea tuitensis* en México (corregidas con los métodos de Levene y de Yates).

Locus	clase	frecuencia		χ^2	g.l.	p=
		obs.	esp.			
CPX-1	3-3	85	68.36	84.90	3	1×10^5
	3-4	5	28.13			
	3-5	0	10.16			
	4-4	12	2.89			
	45/55	10	2.47			
MDH-4	1-1	15	2.14	105.01	2	1×10^5
	1-2	1	26.43			
	13/23/33	1	2			
	2-2	95	81.43			
PGD-1	1-1	89	75.97	76.59	1	1×10^5
	1-2	4	30.06			
	2-2	16	2.97			

9. Frecuencias alélicas en nueve loci, de nueve subpoblaciones de *A. tuitensis* en México.

Locus	Subpoblación								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
APX-1									
(N)	20	8	11	8	12	12	11	14	14
1	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000
2	1.000	1.000	1.000	1.000	.958	1.000	.955	.929	.964
3	.000	.000	.000	.000	.042	.000	.045	.071	.036
CPX-1									
(N)	20	8	11	8	12	12	11	14	14
1	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000
2	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000
3	.925	.875	1.000	1.000	1.000	.542	1.000	.500	.321
4	.075	.125	.000	.000	.000	.292	.000	.429	.429
5	.000	.000	.000	.000	.000	.167	.000	.071	.250
DIA-1									
(N)	20	8	11	8	12	12	11	14	14
1	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000
2	.250	.000	.136	.125	.083	.042	.227	.036	.107
3	.750	1.000	.864	.875	.917	.958	.773	.964	.893
DIA-2									
(N)	20	8	11	8	12	12	11	14	14
1	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000
2	.050	.188	.045	.125	.042	.042	.136	.000	.000
3	.950	.813	.955	.875	.792	.958	.864	.929	.964
4	.000	.000	.000	.000	.167	.000	.000	.071	.036
LAP-1									
(N)	20	8	11	8	12	12	11	14	14
1	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000
2	.975	1.000	.955	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
3	.025	.000	.045	.000	.000	.000	.000	.000	.000
LAP-2									
(N)	20	8	11	8	12	12	11	14	14
1	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	.786	1.000
2	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.214	.000
PGD-1									
(N)	20	8	11	8	10	12	11	14	13
1	.300	1.000	1.000	.875	.950	.917	1.000	.893	1.000
2	.700	.000	.000	.125	.050	.083	.000	.107	.000
GOT-1									
(N)	20	8	11	8	12	12	11	14	14
1	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000
2	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
MDH-4									
(N)	20	8	11	8	12	12	11	14	14
1	.100	.000	.136	.000	.333	.250	.182	.000	.214
2	.900	1.000	.864	1.000	.667	.750	.818	.929	.786
3	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.071	.000

APÉNDICE III

1.1. Valores promedios de los estadísticos F
(Wright, 1951) de los loci analizados en
Aechmea mexicana en México.

Locus	F_{IS}	$p=$	F_{IT}	$p=$	F_{ST}	$p=$
APX-1	.647	1×10^{-5}	.742	1×10^{-5}	.268	.01
CPX-1	.045*		.667	1×10^{-5}	.651	1×10^{-5}
DIA-1	.578	1×10^{-3}	.795	1×10^{-5}	.514	1×10^{-5}
DIA-2	.345*		.915	1×10^{-5}	.871	1×10^{-5}
LAP-1	.733	1×10^{-5}	.981	1×10^{-5}	.929	1×10^{-5}
LAP-2	.710	2×10^{-5}	.789	1×10^{-5}	.275	.02
PGI-1	.772	1×10^{-5}	.877	1×10^{-5}	.462	2×10^{-5}
MDH-4	.722	1×10^{-5}	.788	1×10^{-5}	.236	.03
6PGD	.912	1×10^{-5}	.957	1×10^{-5}	.512	2×10^{-5}
prom.	.648		.848		.569	

* N. S.

1.2. Valores promedios de los estadísticos F
(Weir & Cockerham, 1984) y Nm para los loci
analizados en *Aechmea mexicana* en México.

Loci	F (F_{IS})	Theta (F_{ST})	f (F_{ST})	Nm
APX-1	.732 (.119)	.259 (.098)	.640 (.163)	.548
CPX-1	.736 (.185)	.726 (.176)	.018 (.133)	.072
DIA-1	.673 (.187)	.757 (.306)	.407 (.522)	.062
DIA-2	.921 (.068)	.868 (.084)	.441 (.599)	.029
LAP-1	.982 (.010)	.933 (.039)	.762 (.084)	.014
LAP-2	1.235 (.713)	.407 (.218)	1.042 (.694)	.279
PGI-1	.930 (.065)	.594 (.193)	.817 (.097)	.131
MDH-4	.822 (.136)	.320 (.222)	.721 (.113)	.407
6PGD-1	.954 (.036)	.603 (.165)	.881 (.078)	.126
prom.	.860 (.043)	.615 (.087)	.643 (.100)	.185

2.1 Valores promedios de los estadísticos F (Wright, 1951) para los loci analizados en *Aechmea lueddemanniana* en México.

Locus	F_{is}	$p=$	F_{it}	$p=$	F_{st}	$p=$
APX-1	.244*		.317*		.096*	
CPX-1	.482	6×10^{-3}	.740	1×10^{-5}	.498	1×10^{-5}
DIA-2	.563	5×10^{-3}	.627	2×10^{-3}	.146*	
PGI-1	.772	1×10^{-5}	.857	1×10^{-5}	.373	3×10^{-4}
GOT-1	1.00	1×10^{-5}	1.00	1×10^{-5}	.207*	
MDH-4	.874	1×10^{-5}	.913	1×10^{-5}	.315	1×10^{-3}
6PGD	.955	1×10^{-5}	.967	1×10^{-5}	.267*	

* N. S.

2.2 Valores promedios de los estadísticos F (Weir & Cockerham, 1984) y N_m para los loci analizados en *Aechmea lueddemanniana* en México.

Loci	F (F_{is})	Theta (F_{st})	f (F_{it})	N_m
APX-1	.374 (.129)	.105 (.054)	.300 (.129)	1.633
CPX-1	.741 (.117)	.498 (.106)	.477 (.209)	.193
DIA-2	.832 (.423)	.172 (.081)	.753 (.443)	.921
PGI-1	.876 (.065)	.375 (.161)	.797 (.074)	.319
GOT-1	1.000 (.000)	.347 (.182)	1.000 (.000)	.360
MDH-4	.941 (.061)	.421 (.283)	.891 (.061)	.263
6PGD-1	.960 (.022)	.247 (.072)	.949 (.032)	.583
prom.	.781 (.086)	.321 (.067)	.675 (.120)	.611

BIBLIOGRAFÍA

- Abrahamson, W. G. 1980. Demography and vegetative reproduction. Pp: 89-106. En: O. T Solbrig (ed.), Demography and evolution in plants populations. Blackwell, Oxford.
- Ackerman, J. D. 1986. Coping with the epiphytic existence: pollination strategies. *Selbyana* 9:52-60.
- Allendorf, F. W. 1983. Isolation, gene flow, and genetic differentiation among populations. Pp: 51-65. En: C. M. Schonewald-Cox, S. Chamber, B. MacBryde y W. L. Thomas (eds.), Genetics and Conservation Benjamin/Cummings, Menlo Park, CA.
- ⊗ Alper, P., R. Lumaret y F. Di Giusto. 1993. Population structure inferred from allozyme analysis in the clonal herb *Fragaria chiloensis* (Rosaceae). *Amer. J. Bot.* 80(9):1002-1006.
- Álvarez-Buylla, E. R., A. Chaos, D. Piñero y A. Garay. Evolutionary consequences of patch dynamics, seed dispersal and seed banks: demographic genetics of *Cecropia obtusifolia*. A pioneer tropical tree. *Evolution* (en prensa).
- Antolin, M. F. y C. Strobeck. 1985. The population genetics of somatic mutation in plants. *Amer. Nat.* 126:52-62.
- Arroyo, M. T. K. y F. Squeo. 1990. Relationship between plant breeding systems and pollination. Pp: 205-227. En: S. Kawano (ed.), Biological approaches and evolutionary trends in plants. Academic Press, LTD. London.
- ⊗ Avise, J. C. 1974. Systematic value of electrophoretic data. *Syst. Zool.* 23:465-481.
- ⊗ Avise, J. C. 1994. Molecular markers, natural history and evolution. Chapman and Hall, NY.

- Barret, S. C. y C. G. Eckert. 1990. Variation and evolution of mating systems in seed plant. Pp: 229-254. En: S. Kawano (ed.), *Biological approaches and evolutionary trends in plants*. Academic Press, LTD. London.
- ⑥ Barrett, S.C. y J. R. Kohn. 1991. Genetic and evolutionary consequences of small population size in plants: Implications for conservation. Pp:3-29. En: D. Falk y K. Holsinger (eds.), *Genetics and conservation of rare plants*. Oxford University Press, NY.
- Barton, N. H., R. B. Halliday y G. M. Hewitt. 1983. Rare electrophoretic variants in a hybrid zone. *Heredity*, 50:139-146.
- Baskauk, C. J., D. McCauley y W. G. Eickmeier. 1994. Genetic analysis of a rare and a widespread species of *Echinacea* (Asteraceae). *Evolution* 48(1): 180-188.
- Bawa, K. S. y P. S. Ashton. 1991. Conservation of rare trees in tropical rain forests: a genetic perspective. Pp: 62-71. En: D. Falk y K. Holsinger (eds.), *Genetics and conservation of rare plants*. Oxford University Press, NY.
- ⑥ Bayer, R. 1991. Patterns of clonal diversity in geographically marginal populations of *Antennaria rosea* (Asteraceae: Inuleae) from subartic Alaska and Yukon territory. *Bot. Gaz.* 152(4):486-493.
- Bennett, B. C. 1986. Patchiness, diversity, and abundance relationships of vascular epiphytes. *Selbyana* 9:70-75.
- Bennett, B. C. 1987. Spatial distribution of *Capotosis* and *Guzmania* (Bromeliaceae) in southern Florida. *Bull. Torr. Bot. Club* 114:265-271.
- Benzing, D. H. 1981. The population dynamics of *Tillandsia circinata* (Bromeliaceae): cypress crown colonies in southern Florida. *Selbyana* 5:256-263.
- Benzing, D. H. 1987. Vascular epiphytism: taxonomic participation and adaptative diversity. *Ann. Missouri Bot. Gard.* 74:183-204.

- Benzing, D. H. 1989. The evolution of epiphytism. Pp:15-41. En: U. Lüttge (ed.), Vascular plants as epiphytes: evolution and ecophysiology. Ecological studies, Vol. 76. Springer Verlag. Berlin.
- Benzing, D. H. 1990. Vascular epiphytes. General biology and related biota. Cambridge University Press. Cambridge.
- Bernardello, L. M., L. Galetto y H. R. Juliani. 1991. Floral nectar, nectary structure and pollinators in some Argentinean Bromeliaceae. Ann. Bot. 67: 401-411.
- Billington, H. L. 1991. Effect of population size on genetic variation in a dioecious conifer. Cons. Biol. 5(1):115-119.
- Brown, A. H. D. 1978. Isozymes, plant population, genetic structure and conservation. Theoret. Appl. Genet. 52:145-157.
- Brown, A. H. D. 1979. Enzymes polymorphism in plant population. Theor. Pop. Biol. 15:1-42.
- Burdon, J. J. 1980. Intra-specific diversity in natural populations of *Trifolium repens*. J. Ecol. 68:717-735.
- Burns, G. W. y P. J. Bottino. 1989. The science of genetics. Macmillan Publishing Company, Singapore.
- Buth, D. G. 1984. The application of electrophoretic data in systematics studies. Annu. Rev. Ecol. Syst. 15:501-522.
- ⑥ Cheliak, W. M. y B. P. Dancik. 1982. Genic diversity of natural populations of a clone-forming tree *Populus tremuloides*. Can. J. Genet. Cytol, 24:611-616.
- ⑥ Cook, R. E. 1983. Clonal plant populations. Amer. Sci., 71:244-253.
- Crawford, D. J. 1990. Plant molecular systematics. Macromolecular approaches. A. Willey Interscience publication. John Wiley and sons. New York.

- Crawford, D. J., E. B. Smith y R. E. Pilatowski. 1984. Isozymes of *Coreopsis* section *Calliopsis* (Compositae): genetic variation within and divergence among species. *Brittonia*, 36(4):375-381.
- Crow, J. F. y K. Aoki. 1984. Group selection for a polygenic behavioral trait: Estimating the degree of population subdivision. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 81:6073-6077.
- Dole, J. A. y M. Sun. 1992. Field and genetic survey of the endangered Butte meadow-foam *Limnathes floccosa* subsp. *californica* (Limnathaceae). *Cons. Biol.* 6:549-558.
- Drury, W. H. 1980. Rare species of plants. *Rhodora*, 82:3-48.
- Eguiarte, L. E. 1990. Genética de poblaciones de *Astrocaryum mexicanum* Liebm. en Los Tuxtlas, Veracruz. Tesis Doctoral. Centro de Ecología. Universidad Nacional Autónoma de México, México, D. F.
- Eguiarte, L. E. y D. Piñero. 1990. Genética de la conservación: leones vemos, genes no sabemos. *Ciencias* 4:34-47.
- Eguiarte, L. E., N. Pérez-Nasser y D. Piñero. 1992. Genetics structure, outcrossing rate and heterosis in *Astrocaryum mexicanum* (tropical palm): implications for evolution and conservation. *Heredity* 69:203-213.
- Eguiarte, L. E., A. Burquez, J. Rodríguez, M. Martínez-Ramos, J. Sarukhán D. Piñero. 1993. Direct and indirect estimates of neighborhood and effective population size in a tropical palm *Astrocaryum mexicanum*. *Evolution* 47:75-87.
- ⊙ Ellstrand, C. N. y D. A. Levin. 1982. Genotypic diversity in *Oenothera laciniata* (Onagraceae) a permanent translocation heterozygote. *Evolution* 36:63-69.
- ⊙ Ellstrand, C. N. y M. L. Roose. 1987. Patterns of genotypic diversity in clonal plant species. *Amer. J. Bot.* 74(1):123-131.

- Ellstrand, C. N. y D. R. Elam. 1993. Population genetic consequences of small size: Implications for plant conservation. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 24:217-242.
- Felsenstein, J. 1993. Phylip (Phylogeny Inference Package) 3.5c. University of Washington, Seattle.
 - Fiedler, P. L. 1986. Concepts of rarity in vascular plants species with special reference to the genus *Calochorthis* Pursh (Liliaceae). *Taxon* 35(3):502-518.
 - Fiedler, P. L. y J. J. Ahouse. 1992. Hierarchies of cause: Toward an understanding of rarity in vascular plants species. Pp: 23-47. En: P. L. Fiedler y J. K. Jains (eds.), *Conservation biology*. Chapman and Hall, NY.
 - Fowler, D. P. y R. W. Morris. 1977. Genetic diversity in red pine: evidence for low heterogeneity. *Can. J. For. Res.* 7:343-347.
 - Franklin, O. H. 1980. Evolutionary change in small populations. Pp: 135-150. En M. E. Soulé and B. A. Wilcox (eds.), *Conservation biology: An evolutionary-ecological perspective*. Sinauer, Sunderland, MA.
 - García, E. 1987. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Koeppen. Instituto de Geografía, Universidad Nacional Autónoma de México.
 - Gentry, A. H. y C. H. Dodson. 1987. Diversity and biogeography of neotropical vascular epiphytes. *Ann. Missouri Bot. Gard.* 74:205-233.
 - Godt, M. J. W. y J. L. Hamrick. 1993. Genetic diversity and population structure in *Tradescantia hirsuticaulis* (Commelinaceae). *Amer. J. Bot.* 80(8):959-966.
 - Gotlieb, L. D. 1973. Enzyme differentiation and phylogeny in *Clarkia franciscana*, *C. rubicunda* and *C. amoena*. *Evolution* 27:205-214.
 - Gotlieb, L. D. 1974. Genetic confirmation of the origin of *Clarkia lingulata*. *Evolution* 28:244-250.

- Gotlieb, L. D., S. I. Warwick y V.S. Ford. 1985. Morphological and electrophoretic divergence between *Layia discoidea* and *L. glandulosa*. *Syst. Bot.* 10(4):484-495.
- Govindaraju, D. R. 1989. Variation in gene flow levels among predominantly self pollinated plants. *J. Evol. Biol.* 2:173-181.
- Griffiths, H. 1989. Carbon dioxide concentrating mechanisms and the evolution of CAM in vascular epiphytes. Pp: 42-86. En: U. Lüttge (ed.), *Vascular plants as epiphytes: evolution and ecophysiology*. Ecological studies, Vol. 76. Springer Verlag, Berlin.
- ⑦ Hamrick, J. L. 1983. The distribution of genetic variation within and among populations. Pp: 335-348. En: C. M. Schonewald-Cox, S. Chamber, B. MacBryde y W. L. Thomas (eds.), *Genetics and Conservation*. Benjamin/Cummings, Menlo Park, CA.
- ⊖ Hamrick, J. L. 1987. Gene flow and distribution of genetic variation in plant populations. Pp. 53-67. En: K. Urbanska (ed.), *Differentiation patterns in higher plants*. Academic Press, New York.
- Hamrick, J. L. 1989. Isozymes and analysis of genetic structure of plant populations. Pp: 87-105. En: Soltis, D. E. y P. S. Soltis (Eds.), *Isozymes in plant biology*. Dioscorides Press. Portland, OR.
- Hamrick, J. L., Y. B. Linhart y J. B. Mitton. 1979. Relationships between life history characteristics and electrophoretically detectable genetic variation in plants. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 10:173-200
- Hamrick, J. L. y J. W. Godt. 1990. Pp: 43-63. Allozyme diversity in plant species. En: A. H. D. Brown, M. T. Clegg, A. L. Kahler y B. S. Weir (eds.), *Population genetics and germplasm resources in crop improvement*, Sinauer, Sunderland, MA.
- Hamrick, J. L. y D. Murawski. 1991. Levels of allozyme diversity in populations of uncommon neotropical tree species. *J. Trop. Ecol.* 7:395-399.
- Harper, J. L. 1977. *Population biology of plants*. Academic Press, London

- Harper, J. L. 1981. The concept of population in modular organisms. Pp: 53-67. En: R. M. May (ed.), Theoretical ecology: Principles and applications. Blackwell, Oxford.
- Harper, J. L. 1985. Modules, branches and the capture of resources. Pp: 1-33. En: J. B. Jackson, L. W. Buss y Cook, R. E. (eds.), Population biology and evolution of clonal organisms. Yale University Press: New Haven.
- Hartl, D. L. y A. G. Clark. 1989. Principles of Population Genetics. Sinauer, Sunderland, MA.
- Hedrick, P. 1983. Genetics of populations. Science Books International, Boston.
- ⊗ Jain, S. K. 1976. The evolution on inbreeding in plants. Annu. Rev. Ecol. Syst. 7:469-495.
- Janzen, D. 1977. What are dandelions and aphids? Amer. Nat. 111: 586-589.
- ⊗ Jefferies, R. L. y L. B. Gottlieb. 1983. Genetic variation within and between populations of the asexual plant *Pulcinella x phryganodes*. Can. J. Bot. 61:774-779.
- ⊗ Karron, J. D. 1989. Breeding systems and levels of inbreeding depression in geographically restricted and widespread species of *Astragalus* (Fabaceae). Amer. J. of Bot. 76(3):331-340.
- Karron, J. D. 1991. Patterns of genetic variation and breeding systems in rare plants species. Pp: 87-98. En: D. A. Falk y K. E. Holsinger (eds.). Genetics and conservation of rare plants. Oxford University Press, NY..
- Karron, J. D., Y. B. Linhart, C. A. Chaulk y C. Robertson. 1988. Genetic structure of populations of geographically restricted and widespread species of *Astragalus* (Fabaceae). Amer. J. Bot. 75(8):1114-1119.

- Knight, S. E. y D. M. Waller. 1987. Genetics consequences of outcrossing in the cleistogamous annual, *Impatiens capensis*. I. Population genetic structure. *Evolution* 41:969-978.
- Lacy, R. C. 1987. Loss of genetic diversity from managed populations: Interacting effects of drift, mutation, immigration, selection, and population subdivision. *Cons. Biol.* 1(2):143-158.
- Lande, R. 1988. Genetics and demography in biological conservation. *Science*, 241:1455-1460.
- Lande, R. y D.W. Schemske. 1985. The evolution of self-fertilization and inbreeding depression in plants. I. Genetics models. *Evolution* 39:24-40.
- Lande, R. y G. F. Barrowclough. 1987. Effective population size, genetic variation, and their use in population management. Pp: 87-124. En: M. E. Soulé (ed.), *Viable populations for conservation*. Cambridge Univ. Press. Cambridge.
- Ledig, F. T. y M. T. Conkle. 1983. Gene diversity and genetic structure in a narrow endemic, Torrey pine (*Pinus torreyana* Parry ex Carr). *Evolution* 37:79-85.
- Levene, H. 1949. On a matching problem arising in genetics. *Ann. Math. Stat.* 20:91-94.
- Levin, D. A. 1978. Genetic variation in annual phlox: self-compatible versus self-incompatible species. *Evolution* 32:245-263.
- Lewontin, R. C. y J. L. Hubby. 1966. A molecular approach to study the genic heterozygosity in natural populations II. Amount of variation and degree of heterozygosity in natural populations of *Drosophila pseudoobscura*. *Genetics*, 54:595-609.
- Lewontin, R. C. 1985. Population genetics. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 19:81-102.

- Lokker, C., D. Susko, L. Lovett-Doust y J. Lovett-Doust. 1994. Population genetic structure of *Vallisneria americana*, a dioecious clonal macrophyte. *Amer. J. Bot.* 81(8):1004-1012.
- Loveless, M. D. y J. L. Hamrick. 1984. Ecological determinants of genetic structure in plant populations. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 15:65-95.
- Lüttge, U. 1989. Vascular plants as epiphytes: evolution and ecophysiology. *Ecological studies*, Vol. 76. Springer Verlag, Berlin.
- Lynch, C. B. 1977. Inbreeding effects upon animals derived from a wild population of *Mus musculus*. *Evolution* 31:526-537.
- Magaña, P. y E. Lott. 1987. *Aechmea tuitensis*, a new species from western Mexico. *J. Brom. Soc.* 37(2):74-75.
- McClintock, K. A. y M. J. Waterway. 1993. Patterns of allozyme variation and clonal diversity in *Carex lasiocarpa* and *C. pellita* (Cyperaceae). *Amer. J. Bot.* 80(11):1251-1263.
- Medina, E., M. Delgado, J. H. Troughton y J. H. Medina. 1977. Physiological ecology of CO₂ fixation in the Bromeliaceae. *Flora* 166: 137-152.
- Meffe, G. K. y C. R. Carroll. 1994. *Principles of Conservation Biology*. Sinauer Associates, Inc. Sunderland, MA.
- Murawski, D. A. y J. L. Hamrick. 1990. Local genetic structure in the tropical terrestrial bromeliad, *Aechmea magdalenae*. *Amer. J. Bot.* 77(9):1201-1208.
- Nei, M. 1972. Genetic distance between populations. *Amer. Natur.* 106:376-384.
- Nei, M. 1973. Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 70:3321-3323.
- Nei, M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics*, 89:589-590.

- Nei, M. y A. Chakravarti. 1977. Drift variances of F_{st} and G_{st} statistics obtained from a finite number of isolated populations. *Theoret. Pop. Biol.* 11:307-325.
- Nevo, E. 1978. Genetic variation in natural populations: patterns and theory. *Theoret. Pop. Biol.* 13:121-177.
- Nunney, L. y K. A. Campbell. 1993. Assessing minimum viable population size: demography meets population genetics. *TREE* 8(7): 234-239.
- Oyama, K. 1993. Conservation biology of tropical trees: demographic and genetic considerations. *Environment update* 1:17-32.
- Palací, C. A. 1991. Enzyme electrophoretic analysis and systematic relationships among four species of *Tillandsia* subgenus *Anoplophthum* (Bromeliaceae) from Northwest Argentina and adjacent Bolivia. Ph. D. Thesis. University of Wyoming, Laramie.
- Parker, E. D. Jr. 1979. Ecological implications of clonal diversity in parthenogenetic morphospecies. *Amer. Zool.* 19:753-762.
- Parks, J. C. y C. R. Werth. 1993. A study of spatial features of clones in a population of bracken fern, *Pteridium aquilinum* (Dennstaedtiaceae). *Amer. J. Bot.* 80(5):537-544.
- Pielou, E. C. 1969. An introduction to mathematical ecology. Wiley-Interscience, New York.
- Pittendrigh, C. S. 1948. The bromeliad-*Anopheles*-malaria complex in Trinidad. I. The Bromeliad flora. *Evolution*, 2:58-89.
- Pleasants, J. M. y J. F. Wendel. 1989. Genetic diversity in a clonal narrow endemic *Erythronium propullans*, and its widespread progenitor, *Erythronium albidum*. *Amer. J. Bot.* 76:1136-1151.
- Price, M. V. y N. M. Waser. 1982. Population structure, frequency-dependent selection and the maintenance of sexual reproduction. *Evolution* 36:35-43.

- Primack, R. B. 1993. Essentials of conservation biology. Sinauer Associates, Inc.
- Rabinowitz, D. 1980. Seven forms of rarity. Pp: 205-218. En: H. Synge (ed.), The biological aspects of rare plants conservation. Wiley, NY.
- Read, W. R. y H. U. Baensch. 1994. *Ursulaea*; a new genus of Mexican bromeliads. J. Brom. Soc. 44(5): 205-211.
- Richardson, B. J., P. R. Baverstock y M. Adams. 1986. Allozyme electrophoresis. A handbook for animal systematic and population studies. Academic Press, Harcourt Brace Jovanovich, Publishers.
- Rzedowski, J. 1988. Vegetación de México. Editorial Limusa, México.
- Sarukhán, J. y J. L. Harper. 1973. Studies on plant demography: *Ranunculus repens*, *R. bulbosus* and *R. acris*. I. Population flux and survivorship. J. Ecol. 61:675-716.
- Schaal, B. A. 1980. Measurement of gene flow in *Lupinus texensis*. Nature 284:450-451.
- Schemske, D. 1983. Breeding system and habitat effects on fitness components in three neotropical *Costus* (Zingiberaceae). Evolution 37(3):523-539.
- Schemske, D y R. Lande. 1985. The evolution of self-fertilization and inbreeding depression in plants. II. Empirical observations. Evolution 39(1):41-52.
- Schimper, A. F.W. 1888. Die epiphytische vegetation. Amerikas Bot. Mitt. Tropaen, Vol. 2 Jena (Gustav Fischer).
- Schmid, B. 1985. Clonal growth in grassland perennials. III. Genetic variation and plasticity between and within populations of *Bellis perennis* and *Prunella vulgaris*. J. Ecol. 73:819-830.

- Schmid, B. 1990. Some ecological and evolutionary consequences of modular organization and clonal growth in plants. *Evolutionary Trends in Plants*, 4(1):25-34.
- Selander, R. K., D. A. Caugant y T. S. Whittam. 1987. Genetic structure and variation of natural populations of *Escherichia coli*. Pp: 1625-1648. En: F. C. Neidhart, J. L. Ingraham, L. K. Brooks, B. Magasanik, M. Schaechter y H. E. Umabarger (eds.), *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium*: Celular and molecular biology, Vol 2. Amer. Society for Microbiology, Washington, DC.
- Silander, J. A. 1985. The genetic basis of the ecological amplitude of *Spartina patens*. II. Variance and correlation analysis. *Evolution* 39:1034-1052.
- Simberloff, D. 1988. The contribution of population and community biology to conservation science. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 19:473-511.
- Slatkin, M. 1985. Gene flow in natural populations. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 16: 393-430.
- Slatkin, M. 1987. Gene flow and the geographic structure of natural populations. *Science* 236:787-792.
- Slatkin, M. 1993. Isolation by distance in equilibrium and non-equilibrium populations. *Evolution* 47:264-279.
- Slatkin, M. y N. H. Barton. 1989. A comparison of three indirect methods for estimating average levels of gene flow. *Evolution* 43:1349-1368.
- Smith, J. A. C., H. Griffiths y U. Lüttge. 1986. Comparative ecophysiology of CAM and C3 bromeliads. I. The Ecology of the Bromeliaceae in Trinidad. *Plant, Cell and Enviroment* 9:359-376.
- Smith, L. B. y J. Downs. 1974. Pitcairnoideae (Bromeliaceae). *Flora Neotropica*, Monograph, 14:1-658.

- Smith, L. B. y J. Downs. 1977. Tillandsioideae (Bromeliaceae). Flora Neotropica, Monograph, 14:663-1492.
- Smith, L. B. y J. Downs. 1979. Bromelioideae (Bromeliaceae). Flora Neotropica, Monograph, 14:1493-2142.
- Smith, L. B. y W. J. Kress. 1990. New genera of Bromeliaceae. Phytologia 69(4):271-274.
- ⊖ Soane, I. D. y A. R. Watkinson. 1979. Clonal variation in populations of *Ranunculus repens*. New Phytol. 82:557-573.
- Sokal, R. R. y F. J. Rohlf. 1981. Biometry. W. H. Freeman, San Francisco.
- ⊖ Soltis, D. E., C. H. Haufler, D. C. Darrow y 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.
- Soltis, D. E., A. J. Gilmartin, L. Reiseberg y S. Gardner. 1987. Genetic variation in the epiphytes *Tillandsia ionantha* and *T. recurvata* (Bromeliaceae). Amer. J. Bot. 74(4):531-537.
- Soltis, P. S. y D. E. Soltis. 1991. Genetic variation in endemic and widespread plant species: examples from Saxifragaceae and *Polystichum* (Dryopteridaceae). Aliso 13(1):215-223.
- Souza, V. 1990. Genética y ecología en *Rhizobium leguminosarum* biovar *phaseoli* asociado a *Phaseolus vulgaris* y a *P. coccineus* silvestre y cultivado, en Morelos, México. Tesis Doctoral. Centro de Ecología. Universidad Nacional Autónoma de México, México, D. F.
- Souza, V., T. T. Nguyen, R. R. Hudson, D. Piñero y R. E. Lenski. 1992. Hierarchical analysis of linkage disequilibrium in *Rhizobium* populations: evidence for localized sex? Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:8389-8393. Piñero. 1994.
- Stebbins, G. L. 1982. Rarity of plants species: a synthetic viewpoint. Rhodora, 82:77-85.

- Sugden, A. 1981. Aspects of the ecology of vascular epiphytes in two Colombian cloud forests. II. Habitat preference of Bromeliaceae in the Serrania de Macuira. *Selbyana* 5:264-273.
- Swofford, D. L. y R. B. Selander. 1989. BIOSYS-1: a computer program for the analysis of allelic variation in population genetic and biochemical systematics. Release 1.7. Illinois. Natural History Survey, Champaign, Illinois.
- Swofford, D. L. y G. J. Olsen. 1990. Phylogeny reconstruction. Pp: 411-501. En D. M. Hillis y C. Moritz (eds.), *Molecular Systematics*, Sinauer, Sunderland, MA.
- Sytsma, K. J. y B. A. Schaal. 1985. Genetic variation, differentiation, and evolution in a species complex of tropical shrubs based on isozymic data. *Evolution*, 39:582-593.
- Usberti, J. A. Jr. y S. K. Jain. 1978. Variation in *Panicum maximum*: A comparison of sexual and asexual populations. *Bot. Gaz.* 139: 112-116.
- Utlley, J. F. 1994. Bromeliaceae. *Flora Mesoamericana*, Vol. 6, Alismataceae-Cyperaceae. Missouri Botanical Garden.
- van Leerdam, A., R. J. Zagt y E. J. Veneklaas. 1990. The distribution of epiphyte growth-forms in the canopy of a Colombian cloud forest. *Vegetatio* 87:59-71.
- van Treuren, R., R. Bijlsma, W. van Delden y N. J. Ouborg. 1991. The significance of genetic erosion in the process of extinction. I. Genetic differentiation in *Salvia pratensis* and *Scabiosa columbaria* in relation to population size. *Heredity*, 66:181-189.
- van Treuren, R., R. Bijlsman, N. J. Ouborg y W. van Delden. 1993. The significance of genetic erosion in the process of extinction. IV. Inbreeding depression and heterosis effects caused by selfing and outcrossing in *Scabiosa columbaria*. *Evolution* 47(6): 1669-1680.

- von Perger, B. A., P. Weaver y K. W. Dixon. 1994. Genetic diversity and restoration of a recalcitrant clonal sedge *Tettraria capillaris* (Cyperaceae). *Biol. Cons.* 3:279-294.
- Waller, D. M. 1993. The statics and dynamics of mating system evolution. Pp: 97-117. En: N. Wilmsen (ed.), *The natural history of inbreeding and outbreeding*. The University of Chicago Press, Chicago.
- Warwick, S. I. y L. D. Gottlieb. 1985. Genetic divergence and geographic speciation in *Layia* (Compositae). *Evolution* 38:804-816.
- Weir, B. S. y C. C. Cockerham. 1984. Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution* 38(6):1358-1370.
- Wendel, J. F y Weeden, N. F. 1989. Visualization and interpretation of plant isozymes. Pp: 5-45. En: D. E. Soltis y P. S. Soltis (eds.), *Isozymes in plant biology*. Dioscorides Press. Portland, OR.
- Whitkus, R. 1992. Allozyme variation within the *Carex pachystachya* complex (Cyperaceae). *Syst. Bot.* 17(1):16-24.
- Whitman, T. G. y C. N. Slobodchikoff. 1981. Evolution by individuals, plant-herbivore interactions and mosaics of genetic variability: the adaptative significance of somatic mutations in plants. *Oecologia* 29:287-292.
- Workman, P. L. y J. D. Niswander. 1970. Population studies on southwestern Indian tribes. II. Local genetic differentiation in the Papago. *Amer. J. Hum. Genetics* 22:24-29.
- Wright, S. 1951. The genetical structure of populations. *Ann. Eugen.* 15:323-354.
- Wright, S. 1978. *Evolution and the genetics of populations*. Vol. 4. Variability within and among populations. University of Chicago Press, Chicago.

ILY
149D
1995



678



UNAM

FECHA DE DEVOLUCION

El lector se obliga a devolver este libro antes del vencimiento de préstamo señalado por el último sello.

<p>3 JUN 1995</p> <p>27 ENF 1995</p> <p>14 SEP 2000</p> <p>29 SEP 2000</p>	 <p>UNIVERSIDAD NACIONAL AVENIDA DE MEXICO</p>	<p>14 SEP 2000</p>
--	---	--------------------