



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

ANALISIS DE LA VARIACION GENETICA DE CINCO
ESPECIES DE LA FAMILIA ASTERACEAE EN EL PEDREGAL
DE SAN ANGEL, C.U., MEXICO

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

B I O L O G A

P R E S E N T A :

ANA ELISA MARTINEZ DEL RIO

DIRECTOR DE TESIS: DR. EDUARDO MORALES GUILLAUMIN



2003



FACULTAD DE CIENCIAS
SECCION ESCOLAR



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



GOBIERNO NACIONAL
SECRETARÍA DE
EDUCACIÓN

DRA. MARÍA DE LOURDES ESTEVA PERALTA
Jefa de la División de Estudios Profesionales de la
Facultad de Ciencias
Presente

Comunicamos a usted que hemos revisado el trabajo escrito:

Análisis de la variación genética de cinco especies de la Familia Asteraceae
en el Pedregal de San Ángel, C.U., México

realizado por Ana Elisa Martínez del Río

con número de cuenta 9229264-0, quien cubrió los créditos de la carrera de: **BIOLOGIA**

Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio.

A t e n t a m e n t e

Director de Tesis
Propietario

Dr. Eduardo Morales Guillaumin

Propietario

Dr. Juan Servando Núñez Farfán

Propietario

Dr. Juan Enrique Fornoni Agnelli


Suplente

Dr. Luis Enrique Eguiarte Fruns

Suplente

Dr. Raúl Cueva del Castillo Mendoza

Consejo Departamental de BIOLOGIA


M. en C. Juan Manuel Rodríguez Chávez

FACULTAD DE CIENCIAS



Hablando de historias de vida . . .

Dedico con todo cariño esta tesis a:

Mis padres Bertha y Emilio, quienes no solo me dieron la vida sino que también me enseñaron lo maravilloso que hay en ella, de ahí la biología

Mis hermanos David y León porque más allá de la genética compartimos quizá un modo de ver el mundo, y por que son dos de los seres más increíbles que hay en él.

Mis amigos Sol y Rayo, que me han compartido lo más valioso de su haber: a su hijo, su tiempo, cariño y ejemplo.

Mi querido y muy amado esposo Pepe por compartir la vida conmigo

Mis hijos Paco y Pablo por darle sentido a todo y ser mi más grande orgullo.

MI AGRADECIMIENTO A:

Mi tutor Dr. Eduardo Morales por su entusiasmo, gran apoyo y paciencia

Mis sinodales : Juan Núñez, Juan Fornoni, Raúl Cueva y Luis Eguierte.

Gracias por su tiempo y por la claridad con que compartieron sus ideas.

Mis amigos por las múltiples acciones de solidaridad y amistad que tuvieron conmigo, que sin duda me las llevo de recuerdo para siempre. En orden de parición: María Borbolla, Gisela Aguilar, Paloma Newman, Sandra Cuartas, Miguel A. Moreno, Lupita Andraca, Ana I. Batis, Alfredo Trends, Jesús Vargas, Lorena.

CONACYT, PROBETEL, INSTITUTO DE ECOLOGÍA, UNAM
y especialmente al
LABORATORIO DE GENETICA ECOLÓGICA Y EVOLUCIÓN

INDICE

RESUMEN	4
INTRODUCCIÓN	5
OBJETIVOS	11
HIPÓTESIS	12
SITIO DE ESTUDIO	13
SISTEMA DE ESTUDIOS	15
METODOS	20
ANALISIS DE DATOS	23
RESULTADOS	27
DISCUSIÓN	36
CONCLUSIONES	42
PERSPECTIVAS	43
BIBLIOGRAFÍA	44
APENDICES	55

RESUMEN

En el presente estudio se evaluó la hipótesis de que la magnitud de la variación genética de especies pertenecientes a una misma familia en un mismo hábitat, está fuertemente influenciada por sus principales caracteres de historia de vida, tales como el hábito y el modo de reproducción. Para ello se examinaron y compararon los niveles de variación genética de 9 loci isoenzimáticos de cinco especies de compuestas de importancia ecológica en dos sitios de la Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel, C.U. mediante el análisis electroforético en geles de almidón.

Se observaron diferencias significativas entre especies, más no entre sitios, lo que concuerda con los bajos valores de estructuración y los altos niveles de flujo génico detectados para todas las especies. La proporción de loci polimórficos (P), así como el número promedio de alelos por locus (A) no difirieron significativamente de lo reportado para otras especies de compuestas. *Dahlia coccinea*, una especie perenne con entrecruzamiento obligado, presentó los valores más altos de diversidad genética, en tanto que *Tagetes lunulata* una especie anual con sistema de reproducción mixto y característica de estados sucesionales tempranos tuvo los valores más bajos. El resto de las especies que son perennes pero con sistemas de reproducción mixtos, mostraron valores intermedios de variación genética. El índice de fijación F fue positivo y estadísticamente significativo para todas las especies en los dos sitios, lo que refleja una desviación del equilibrio Hardy-Weinberg, e indica una deficiencia de heterocigotos. El F_{IS} de todas las especies indica un exceso de homocigos en particular para *Eupatorium petiolare* y *Verbesina virgata*. Los niveles de endogamia dados por F_{IT} variaron significativamente entre especies, siendo los valores más altos los encontrados para *E. petiolare* y *V. virgata*.

Respecto a las relaciones genéticas entre especies, los resultados muestran que la divergencia en los loci está asociada al taxa. Lo cual coincide con los relativamente altos valores de las distancias genéticas (D) entre especies, siendo los valores más altos los observados entre *Senecio praecox* y el resto de las especies. Este resultado concuerda con la posición filogenética de *S. praecox*.

En el caso particular de *V. virgata* y *S. praecox*, los bajos valores de diversidad genética y los altos índices de endogamia, aunado a su biología reproductiva indican una reducida capacidad de las poblaciones para responder a cambios ambientales severos como ha sido la reducción de su hábitat, lo que podría tener un efecto adverso sobre la persistencia de estas especies.

INTRODUCCIÓN

La biología evolutiva es una disciplina unificadora y central en el conocimiento biológico contemporáneo, pues da sentido y perspectiva a todas las ramas de esta ciencia y a la información que generan, siendo la teoría evolutiva el marco conceptual de su trabajo. Involucra el estudio de los eventos biológicos pasados y presentes de los que extrae gran variedad de datos (morfológicos, moleculares, paleontológicos, etc.) para restablecer las relaciones filogenéticas entre especies, reconstruir el origen de las adaptaciones, o a la inversa, para hacer predicciones e inferencias sobre procesos de especiación y patrones macroevolutivos.

Un primer requisito para realmente comenzar a entender la biología evolutiva de una especie es el conocimiento de su variación genética (Lewontin, 1974; Endler, 1977; Gotlieb, 1977; Brown, 1979; Slatkin, 1980). Los estudios de variación genética involucran principalmente la descripción de los niveles de variación y la manera en la cual está repartida (Clegg y Brown 1983). El conocimiento de la distribución de la variación genética ofrece información complementaria para el entendimiento de las interacciones entre las características ecológicas y de historia de vida, tales como los mecanismos de polinización, dispersión de semillas y fecundidad, y de cómo estas interacciones moldean la estructura genética de las poblaciones (Hamrick, 1983). Este último aspecto es de gran importancia dado que determina el potencial evolutivo de una especie al representar la capacidad de las poblaciones para mostrar respuestas adaptativas a los cambios ambientales (Falconer, 1989; Templeton *et al.* 2001). Así, la información proveniente de ésta área denominada “genética de poblaciones” junto con la de los estudios demográficos, proporcionan las bases para realizar predicciones sobre el futuro de las poblaciones, lo que tiene implicaciones obvias en el establecimiento de estrategias de conservación.

La variación genética de una población suele cuantificarse en términos de la proporción de loci polimórficos (P), la diversidad genética o heterocigosidad promedio (H), y el número promedio de alelos por locus (A). Para describir la distribución de la variación genética, la diversidad genética total de la población (H_T) puede descomponerse en la diversidad genética dentro (H_i) y entre (H_s) subpoblaciones, y a partir de ellas calcular la

magnitud relativa de la diferenciación genética entre subpoblaciones mediante el coeficiente de variación genética F_{ST} (Wright, 1978). Utilizando estos estimadores se han determinado los niveles de variación y la estructura genética en diferentes especies mediante la variación en la electroforesis de proteínas. Diversas revisiones de estudios de este tipo han revelado que la variación genética no se distribuye al azar y que los niveles de variación y estructuración genética son afectados principalmente por el sistema de apareamiento, el flujo génico y la selección (Levin y Kerster, 1974; Brown *et al*, 1975; Clegg y Brown, 1983; Loveless y Hamrick, 1984).

El sistema de apareamiento está caracterizado por una gran variedad de factores ecológicos, morfológicos y fisiológicos que, combinados, determinan a *grosso modo* si la planta se autofertiliza o se entrecruza. De manera que el sistema de apareamiento determina la composición genotípica de la progenie, mientras que la distancia de dispersión (polen y semillas) determina la escala espacial a la cual los caracteres del ciclo de vida tienen influencia sobre la estructura genética (Nason *et al*, 1997)

Los sistemas de apareamiento pueden ser analizados con datos de biología floral y ecología reproductiva, así como con los datos obtenidos a partir de variación enzimática. Con estos análisis pueden estimarse las tasas de fecundación cruzada y autofertilización. La tasa de fecundación cruzada tiene gran importancia en la composición genética de las poblaciones, pues se sabe que afecta directamente los niveles de endogamia (Loveless y Hamrick, 1984; Lande y Schemske, 1985; Bawa, 1992). Se ha observado que las especies endogámicas mantienen menor variación dentro de las poblaciones y presentan mayor diferenciación entre poblaciones en comparación con las especies que exhiben fecundación cruzada (Leding Hedrick, 1983; Loveless y Hamrick, 1984, 1986; Lovelles y Hamrick, 1987; Bawa y O'Malley, 1987; Pérez-Nasser *et al*, 1993).

El flujo génico está dado por la dispersión de polen y semillas (Slatkin, 1981). Niveles elevados de flujo génico aumentan el tamaño efectivo de las poblaciones y reducen la diferenciación local por deriva génica o selección natural; en tanto que si el flujo génico es limitado se reduce el tamaño efectivo de las poblaciones y aumenta la diferenciación entre subpoblaciones (Levin y Kerster, 1974; Slatkin, 1994)

Variación genética de las Asteraceae

Las Asteraceae conforman una de las familias más amplias y diversificadas, presentando ciclos de vida contrastantes (i.e. anuales y perennes) aún dentro de un mismo género, por lo que han sido consideradas como un grupo ideal para estudios de evolución tanto a nivel de genética de poblaciones (Eguiarte *et al*, 1999), como en el análisis de la evolución fenotípica de caracteres de importancia ecológica (Morales, 2001). Gentry (1992), Stork (1994), Faith y Walker (1996) y Villaseñor (1997) consideran a los miembros de esta familia como buenos indicadores de la biodiversidad estructural y funcional de un ecosistema, ya que suelen ser elementos importantes en cuanto a abundancia, productividad primaria neta y fitomasa aérea (Valiente-Banuet y De Luna, 1990; Cano-Santana, 1994, Meave *et al*, 1994)

México ha sido reconocido como principal centro de diversificación de la familia Asteraceae (Rzedowski 1991; Turner y Nesom 1993; Villaseñor *et al* 1997), siendo además la más grande en cuanto a número de géneros y especies en la mayoría de los estados del país (Villaseñor *et al* 1997); sin embargo, son pocos los estudios que han descrito la variación genética en condiciones naturales (Coello, 1989; Morales, 1996) y no se tiene registro de alguno que haya evaluado el efecto de la fragmentación sobre los niveles de la variación y estructura genética dentro o fuera de algún área protegida de nuestro país.

Los niveles de variación genética para el grupo de las Asteraceae en general (Hamrick y Godt, 1996) y los niveles reportados para algunos géneros se muestran en la Tabla 1. Todos estos trabajos emplearon isoenzimas como marcadores, y en su mayoría reportan valores intermedios a bajos de variación genética, sin que pueda identificarse una tendencia respecto a su hábito (anuales o perennes).

Tabla 1. Valores y rangos de la variación genética reportada para algunos géneros y especies de la Familia Asteraceae.

Especies	P	A	Ho	He	Hábito	Fuente
FAM. ASTERACEAE	0.453			0.127		Hamrick & Godt, (1990)
<i>Wilkesia sp.</i> (Heleniae)	0.20	1.2 (± 0.1)		0.072 (±0.05)		Witter & Carr (1988)
<i>Dubautia sp.</i> (Heleniae)	0.20	1.2 (± 0.1)		0.099 (±0.06)		Witter & Carr (1988)
<i>Aphanostephus sp.</i> (Asteraceae)	0.50 (0.29-0.65)	1.62 (1.29-1.94)		0.17 (0.10-0.25)	A	Elisens <i>et al.</i> (1992)
<i>Pyrrhopappus sp.</i> (Lactuceae)	0.3665	1.414	0.0505	0.26025	A	Petersen <i>et al.</i> (1990)
<i>Layia sp.</i> (Heleniae)	0.67 (± 0.012)	3.3833 (± 0.50)	0.2051 (± .013)	0.243 (± .053)	A	Warwick & Godlieb (1985)
<i>Gaillardia pulchella</i>	0.84	4.14		0.188	A	Heywood & Levin (1984)
<i>Artemisa molinieri</i> (Antemideae)	2.25 (± 0.5)	0.95 (± 0.5)	0.416 (± 0.056)	0.426 (± 0.042)	A	Torrel <i>et al</i> (1999)
<i>Tithonia sp.</i> (Asteraceae)	0.387	1.6 (±0.5)	0.133 (±0.03)	0.1227 (±0.017)	A	Morales (1996)
<i>Coreopsis nuецensis</i> (Heliantae)	0.84	2.6	0.277	0.290	A	Crawford & Smith (1982)
<i>C. grandiflora</i> (Heliantae)	0.79	2.6	0.279	0.308	P	Cosner & Crawford (1990)
<i>Erigeron parishii</i> (Asteraceae)	0.53 (± 0.012)	2.2 (± 0.3)	0.16 (± 0.03)	0.17 (± 0.03)	P	Neel & Ellstrand (2001)
<i>Heliantus occidentalis</i> (Asteraceae)	0.31	3.75 (± 0.35)	0.47 (± 0.08)	0.545 (± 0.05)	P	Foré & Guttman (1999)
<i>Petasites sp.</i> (Senecioneae)	0.3833 (± 0.0924)	1.54 (±0.20)	0.1506 (± 0.064)	0.1433 (± 0.0488)	P	Cherniawsky & Bayer (1998)
<i>Tithonia sp.</i> (Asteraceae)	0.26 (± 0.18)	1.728	0.114 (0.0240)	0.1327 (±0.0377)	P	Morales (1996)
<i>Antennaria sp.</i> (sexual) (Asteraceae)	0.263 (±0.12)	1.337 (±0.044)	0.0956 (±0.022)	0.097 (±0.037)	P	Bayer (1991)

Habito P= perenne, A= anual.

Estudios acerca de la genética de poblaciones de diversas especies de Asteraceae situadas en áreas protegidas, apoyan la hipótesis de que la fragmentación afecta la diversidad y estructura genética de las poblaciones de Asteraceae, pero con una variedad de respuestas más amplia de lo esperado (Young *et al* 1996). Al parecer el efecto de fragmentación sobre la variabilidad genética, está más relacionado con atributos de historia de vida asociados primordialmente a la reproducción, que con la inercia filogenética de este taxa. Así por ejemplo, el estudio realizado por Thebaud y Abbot (1995) con 5 especies del género *Conyza* (Asteraceae) reveló que la variación isoenzimática en estas especies estaba relacionada con la variación observada en los caracteres de historia de vida, en particular las especies perennes presentaron mayor variación. Foré *et al* (1999) en *Helianthus occidentalis* (Asteraceae), una especie clonal anemófila y pognócora, observaron que la distancia entre fragmentos presentaba una fuerte influencia sobre la magnitud del flujo génico, el cual se vio restringido como consecuencia de la fragmentación su habitat *The Edge of Appalachia Preserve System* en el sur de Ohio, ocurrida hace 71 años; lo cual a su vez derivó en el aumento de los niveles de diferenciación entre poblaciones. Otro estudio que indica los efectos negativos de la alteración del hábitat es el de Hardy *et al* (2000) en *Centaurea jacea* (Asteraceae) que presenta un sistema de reproducción mixto; los autores encontraron evidencia de que la heterogeneidad ambiental aún en pequeña escala (< 100 m) puede generar estructuración genética promovida por la adaptación local a distintos factores ambientales. En contraste, Luitjen *et al* (2002) reportan una respuesta favorable de *Arnica montana* (Asteraceae) una especie perenne con entrecruzamiento obligado, a la fragmentación de su hábitat (la reserva natural de Schoapedobbe en el SE de Islandia), ya que al parecer ésta promovió la polinización cruzada entre individuos de distintas poblaciones, que derivó en un aumento de la cantidad y calidad de las semillas producidas. Casos similares son los de *Artemisia molinieri* (Asteraceae, Anthemideae) y *Erigeron parishii* (Asteraceae), ambas especies de distribución muy restringida, cuyos niveles de variabilidad genética fueron más elevados de lo esperado (Torrel *et al.* 1999; Neel y Ellstrand 2001).

La Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel C.U.

La Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel alberga a una comunidad biológica única en el mundo por la gran heterogeneidad en su composición y su gran diversidad biológica (Rzedowski 1954). Sin embargo, en los últimos 60 años el avance urbano ha transformado el 90 % de su extensión original (Enciso, 1979), quedando pequeños fragmentos aislados, algunos de los cuales (1.64 km²) están dentro de los terrenos de Ciudad Universitaria.

Esta drástica reducción en el tamaño del Pedregal de San Ángel sugiere que las poblaciones sean altamente propensas a experimentar los efectos deriva génica y a presentar altos niveles de divergencia poblacional. En el presente estudio se describen los niveles de variación genética de cinco especies de Asteraceae (*Dahlia coccinea*, *Eupatorium petiolare*, *Senecio praecox*, *Tagetes lunulata* y *Verbesina virgata*) de importancia ecológica (Cano-Santana, 1994) en el Pedregal de San Ángel.

Este trabajo tiene dos enfoques. En el primero utilizando técnicas de electroforesis en geles de almidón se pretende estimar los niveles de variación genética y determinar si es que existe estructuración genética a la escala estudiada. En el segundo, se relacionan la información disponible respecto a su biología reproductiva y hábitos de vida, con los datos obtenidos del análisis electroforético.

OBJETIVOS

El objetivo general de este trabajo es describir y comparar la variación genética de cinco especies de Asteraceae en dos sitios de la Reserva del Pedregal de San Ángel.

Los objetivos particulares son:

1. Estimar los niveles de variación genética para estas especies mediante la proporción de loci polimórficos (P), la heterosis promedio observada (Ho), la heterosis promedio esperada (He), el número promedio de alelos por locus (A), el número de genotipos multilocus (G) y la riqueza genotípica promedio (G/N), utilizando marcadores enzimáticos.
2. Relacionar los parámetros de variación genética con algunos atributos de historia de vida compartidos entre las especies (i.e. para el atributo de forma de vida podemos distinguir a las especies arbustivas —*D. coccinea* y *T. lunulata*— de las herbáceas —*E. petiolare*, *S. praecox* y *V. virgata*—).
3. Estimar de manera indirecta el flujo génico (Nm) entre sitios y determinar si existe estructuración genética entre los sitios analizados para alguna de las especies, por medio de las frecuencias alélicas y los estadísticos F de Wright.
4. Describir las relaciones genéticas entre las especies mediante una matriz de distancias genéticas y el fenograma correspondiente.

HIPOTESIS

1. Puesto que los taxa examinados exhiben marcadas diferencias en cuanto a sus caracteres de historia de vida (hábito, modo de reproducción y dispersión), se espera que dichas diferencias se relacionen con la magnitud de su variabilidad genética en los sentidos indicados por Hamrick y Godt (1996).

En particular se espera que:

- i) *D. coccinea* por ser la única de las especies perennes en presentar entrecruzamiento obligado, sea la especie que presente los valores más altos de diversidad genotípica (G , G/N) y heterosis observada (H_o).
 - ii) *T. lunulata* por ser una especie anual, colonizadora, capaz de autopolinizarse y con dispersión adhesiva, será la que presente los valores más bajos de variabilidad.
 - iii) *E. petiolare* y *V. virgata* presentarán valores intermedios de variación puesto que son perennes, presentan polinización facultativa y dispersión por viento.
2. En cuanto a los valores de endogamia (F_{IS}) y diferenciación genética (F_{ST}) se espera que los atributos más fuertemente relacionados sean el sistema reproductivo (auto, entre o facultativo) y el modo de dispersión. En particular se espera que las poblaciones de *T. lunulata*, cuyas semillas son dispersadas por un vector distinto al viento sean las que presenten los valores más altos para estos parámetros.
 3. En el caso de *S. praecox*, no se espera encontrar una diferenciación genética (F_{ST}), dado que se trabajó con individuos adultos cuya estructura genética es probablemente anterior al efecto de fragmentación (60 años).

SITIO DE ESTUDIO: *El Pedregal de San Ángel*

“ Pedregal de San Ángel ” es el nombre con que se ha denominado al área cubierta por basalto producto de la erupción del volcán Xitle y conos adyacentes, ocurrida hace aproximadamente hace 2000 años (Carillo, 1995). Se calcula que su área original era de 8,000 ha (Rzedowski, 1954), de las cuales actualmente la Reserva del Pedregal de San Angel (Fig. 1) comprende 124 ha (Valiente-Banuet y De Luna, 1990). Se localiza al sur del Valle de México (19°19' N, 99°1'W, 2300 msnm) dentro del campus de Ciudad Universitaria. Presenta un clima del tipo Cwbg correspondiente a templado subhúmedo con régimen de lluvias en verano. La temperatura media anual oscila los 15.5°C, con variaciones que van de los -6°C a los 34.6°C. La precipitación promedio anual es de 879 mm, distribuida de manera diferencial a lo largo del año, de tal forma que se puede distinguir una estación lluviosa de junio a octubre y una de secas, de noviembre a mayo (Rzedowski, 1954; Valiente- Banuet y De Luna, 1990) que se reflejan en forma acentuada en los cambios de la vegetación que es de tipo matorral xerófilo. El suelo, en las zonas en que está presente, es de tipo litosol, siendo la profundidad promedio de 4.5 cm (Cano-Santana y Meave, 1996).

A pesar de lo reducido de su extensión, se calcula que la diversidad biológica del Pedregal incluye entre 1500 y 3000 especies (Soberón et al., 1991) por lo que es considerado como un sitio de alta riqueza florística, actualmente existen un total de 301 especies de angiospermas agrupadas en 61 familias (Valiente-Banuet y De Luna, 1990). Las familias con mayor número de géneros son: Asteraceae (59), Graminae (34), Leguminosae (15) y Orchidaceae (21) (Valiente-Banuet y De Luna, 1990). Sus principales afinidades geográficas con neotropicales y neárticas. Existe un alto porcentaje de especies endémicas (Herrera y Almeida, 1994) y en peligro de extinción (Alvarez *et al*, 1982).

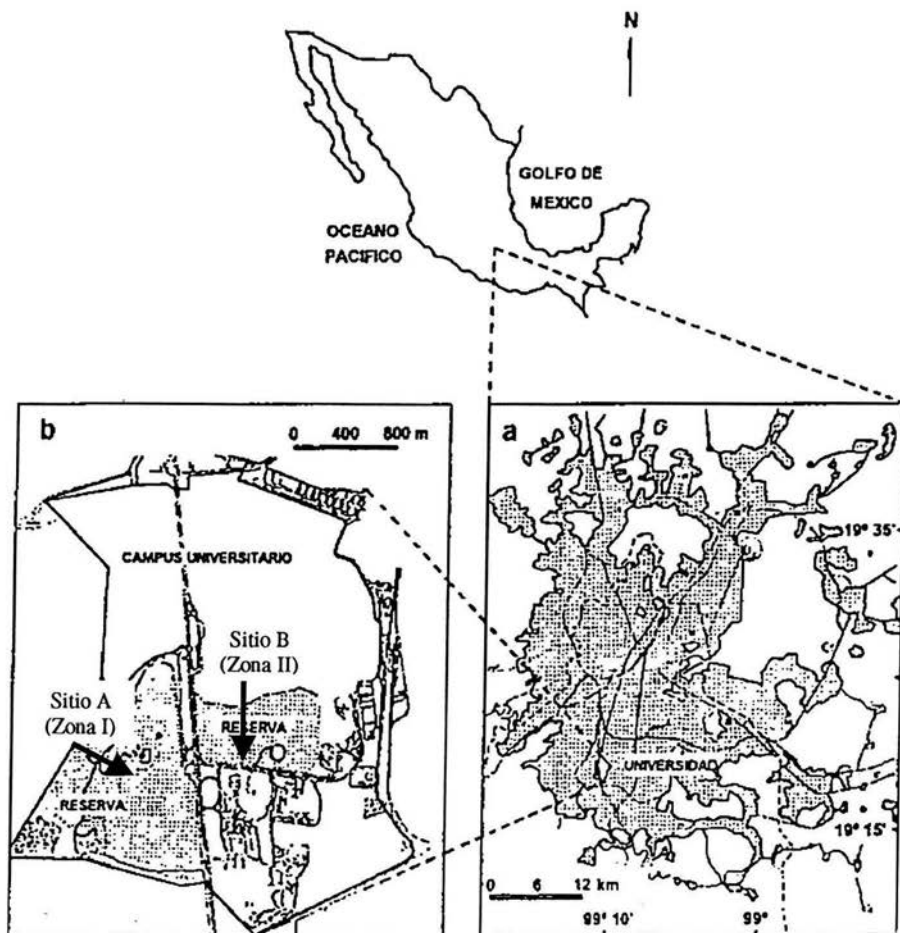


Fig. 1. Ubicación del área de estudio dentro de la República Mexicana

a Ubicación del Pedregal en la Cd. de México

b Ubicación de los sitios de colecta

SISTEMA DE ESTUDIO

Para la realización de este trabajo se seleccionaron 5 especies de la familia Asteraceae (*Dahlia coccinea*, *Eupatorium petiolare*, *Senecio praecox*, *Tagetes lunulata* y *Verbena virgata*) que presentan una alta dominancia en la comunidad vegetal en términos de productividad primaria neta aérea (PPNA) y fitomasa aérea (Cano-Santana, 1994). Además estas especies presentan distintas combinaciones de caracteres ecológicos que permiten agruparlas en subconjuntos de acuerdo con su forma de crecimiento (herbáceas y arbustivas), hábito (anuales y perennes), modo de reproducción (entrecruzamiento obligado y/o facultativo) y modo de dispersión de semillas (viento, adhesión y gravedad) (Tabla 2).

Tabla 2. Características biológicas de las especies estudiadas. Modificado de Figueroa-Castro *et al*, 1998.

Característica	<i>E. petiolare</i>	<i>S. praecox</i>	<i>D. coccinea</i>	<i>T. lunulata</i>	<i>V. virgata</i>
Forma de crecimiento	Arbustiva	Arbustiva	Herbácea	Herbácea	Arbustiva
Hábito	Perenne	Perenne	Perenne	Anual	Perenne
Altura (cm)	90-200	100-500	40-200	20-80	100-250
Flores liguladas	Ausentes	Amarillas	Amarillas, anaranjadas, rojas	Amarillas	Amarillas
Flores del disco	Blancas	Amarillas	Amarillas	Amarillas	Amarillas
No. de flores del disco por capítulo	35-42	13-22	70-160*	20-40	30-60
Época de floración	Enero-marzo	Enero-abril	Agosto-octubre	Septiembre-diciembre	Octubre-enero
Polinización	Viento, insectos nocturnos**	Viento Díptera*** Hymenóptera	Insectos diurnos	Diptera	<i>Apis mellifera</i>
Compatibilidad	**Auto-compatible	***Auto-compatible	**Auto-incompatible	**Auto-compatible	**Auto-compatible
Síndrome de dispersión-diáspora	Anemocoria-pognócora	Anemocoria-pognócora	Anemocoria-pognócora	Anemocoria-pognócora	Anemocoria-pteróscora

* Neumann, com. Pers.

** Figueroa-Castro, 1997

*** Pérez-Ishiwara com. Pers.

Especies de estudio

a) *Dahlia coccinea* Cav. (“dalia” : Flor nacional)

Pertenece a la Tribu Heliantheae (Stuessy, 1997; Jones, 1988) y a la Subtribu Coriopsidinae (Stuessy, 1977). Es una planta herbácea que mide entre 0.4 – 2 m de altura; sus hojas son pinnadas a tripinnado-compuestas. Cabezuelas solitarias o en grupos de 2 y 3, con un diámetro de 5-6 cm; generalmente con 8 flores liguladas, con las corolas ovadoelípticas, que van desde el color amarillo hasta un color escarlata-negruczo, de 1.6 – 4 cm de lado: con 70 –160 flores amarillas en el disco, de 0.8 – 1.3 cm de largo. Los aquenios aplanados y oscuros de 0.8 – 1.3 cm de largo y de 0.2 – 0.6 cm; vilano compuesto por dos rudimentos diminutos y filiformes (Sánchez, 1980; Rzedowski y Rzedowski, 1985).

Se distribuye en el sur y centro del Valle de México, así como en Chihuahua, Tamaulipas y Guatemala; principalmente en pastizales, matorrales y bosques de *Pinus* y *Quercus* (Rzedowski y Rzedowski, 1985), a altitudes que van de los 1000 a los 3000 msnm (Sánchez, 1980). Florece en los meses de agosto y septiembre (Sánchez, 1980).

b) *Verbesina virgata* Cav. (*V. salicifolia* HBK). (“teclacote”)

Pertenece a la Tribu Heliantheae y a la Subtribu Vervesininae (Stuessy, 1977). Es un arbusto que mide de 1 – 2.5 m de altura, erecto, más o menos resinoso, con hojas alternas. La especie presenta mucha variación, sobre todo en el tamaño de la hoja y también en el ancho de las alas del tallo (Rzedowski y Rzedowski, 1985). Las cabezuelas son numerosas y se presentan en conjuntos corimbiformes terminales densos; presentan de 10 a 18 flores liguladas, fértiles, de láminas amarillas, oblongas o elípticas, de 4 – 10 mm de largo; flores del disco 30 a 60, sus corolas amarillas, de 3 – 4 mm de largo, pubescentes; los aquenios son obovados u oblanceolados, de 3 – 4 mm de largo, negruzcos, pubéculos o glabros, angosta o anchamente alados, aristas del vilano de 1 – 2 mm de largo, delgadas (Paray, 1956; Sánchez, 1980; Rzedowski y Rzedowski, 1985). Se distribuye de Zacatecas a Oaxaca (Paray, 1956; Rzedowski y Rzedowski, 1985); es muy abundante en las partes inferiores y de mediana altitud del Valle de México, entre los 2250 y los 3000 msnm; en matorrales, pastizales, claros en medio de bosques y sitios de fuerte perturbación disturbio

(Rzedowski y Rzedowski, 1985). Florece de agosto a diciembre (Paray, 1956; Rzedowski y Rzedowski, 1985)

c) *Senecio praecox* (Cav.) D.C. (“palo loco”, “candelero”, “tezcalpatli”)

El género *Senecio* pertenece a la Tribu Senecioneae (Nordenstam, 1977; Jones, 1988), comprende alrededor de 1500 especies y tiene una distribución cosmopolita (Nordenstam, 1977). La descripción de esta especie se basa en Paray (1956), Sánchez (1980) y Rzedowski y Rzedowski, (1985). Es un arbusto o una planta arborescente, caducifolia, candelabriforme, que mide de 1 – 5 m de altura; las hojas se encuentran dispuestas en fascículos y aglomeradas en el extremo de las ramas; las láminas son generalmente ovadas, subpalmatinerves. Las inflorescencias están dispuestas en forma de cimmas corimbiformes; las cabezuelas son radiadas, numerosas, miden de 10 – 15 mm de alto, con 5 –6 flores liguladas, amarillas, de 6 – 15 mm de largo y 13 – 22 flores del disco, tubulosas amarillas, de 9 12 mm de largo; los aquenios son glabros y estriados, de 3-4 mm de largo, de color café; las cerdas del vilano blancas, de 6 – 8 mm de largo. Se localiza en la parte baja del Pedregal de San Ángel, viviendo en sitios donde existe suelo somero, aunque también se le encuentra en grietas (Lechuga, 1971) y en particular en la cima de promontorios rocosos (D.M. Martínez , obs. pers.). Su distribución abarca desde Zacatecas, San Luis Potosí y Jalisco, hasta Puebla y Oaxaca; preferentemente en matorrales xerófilos de lugares rocosos y/o basálticos; a una altitud entre 2250 y 2850 msnm (Rzedowski y Rzedowski, 1985)

La planta permanece sin hojas durante la temporada seca y de floración, las cuales aparecen cuando las flores se marchitan y empiezan a caer. La floración se presenta en la época de secas, durante marzo y abril (Paray 1956; Sánchez 1980 y Rzedowski y Rzedowski, 1985; Meave et al., 1994).

d) *Eupatorium petiolare* (“hierba de ángel”)

El género *Eupatorium* pertenece a la tribu Eupatorieae (Robinson y King, 1977; Jones, 1988) y a la Subtribu Eupatoriinae (Robinson y King, 1977). Es uno de los géneros más diversos dentro de la familia de las compuestas, pues agrupa aproximadamente 1 200 especies (Gasshoff y Beaman, 1970). La descripción de la especie está basada en Paray

(1956), Sánchez (1980) y Rzedowski y Rzedowski, (1985). *Eupatorium petiolare* es un arbusto que mide de 90 cm hasta 2 m de altura; con tallos leñosos y gruesos. Presenta hojas opuestas con el envés pubescente, borde crenado-dentado, miden de 6-10 por 4-7 cm. Corimbos opuestos, densos, laterales y terminales; cabezuelas de 7 – 11 mm con 35 – 42 flores, corola de 4 – 5 mm de largo, blanca, con glóbulos resinosos en los lóbulos; aquenio de 2 – 3 mm de largo, muy pubescente, vilano casi del largo de la corola, cerdas blanco-rosadas. Las flores despiden un aroma dulce por las noches (D.M. Figueroa, obs.pers.). Florece la época de secas, de enero a abril (Meave et al., 1994). Se le puede encontrar desde los 2350 hasta los 3000 msnm, en sitios con pastizal, matorral xerófilo y bosque de pino, encino y *Juniperus*; crece frecuentemente en sitios de perturbación, especialmente a lo largo de caminos y carreteras. Se distribuye de Coahuila y Tamaulipas hasta Oaxaca (Rzedowski y Rzedowski, 1985).

e) *Tagetes lunulata* Ort. (*T. tenuifolia* Cav, *T. patula*, *T. peduncularis*) (“anís”)

El género *Tagetes* comprende aproximadamente 50 especies y pertenece a la Triubu Tageteae (Strother, 1977). *Tagetes lunulata* Ort. Es una hierba anual, erecta o algo extendida, de 20 –80 cm de altura, muy aromática, con los tallos a menudo rojizos o morados; con las hojas opuestas, pinnatisectas; foliolos 9 a 23, lineares a lanceolados, hasta 2 cm de largo, profundamente aserrados. Presenta 5 flores liguladas, amarillas o anaranjadas, con una marca más oscura de V o W en la base, sus láminas son anchas, ovadas a ovovadas, de 7 10 mm de longitud; flores del disco 20 a 40, con corolas amarillas, de 6 –8 mm de largo; los aquenios son lineares, negros, puberulentos, de 7 – 9 mm de largo; el vilano con 1 –2 escamas aristiformes, de 5 –6 mm de largo y de 3 –4 escamas romas de 2 – 3 mm de largo (Sánchez, 1980; Rzedowski y Rzedowski, 1985).

Se encuentra ampliamente distribuida desde el norte de México hasta Centroamérica y quizás el norte de Sudamérica; es muy abundante en las partes bajas y de mediana altitud, entre los 2250 y los 3000 msnm. Se le encuentra en pastizales, matorrales, bosques de *Quercus* y *Juniperus*, preferentemente en condiciones de perturbación, a veces como maleza ruderal (Rzedowski y Rzedowski, 1985). Florece de septiembre a octubre (Sánchez, 1980; Rzedowski y Rzedowski, 1985). Presenta un alto grado de autofertilización (Figueroa-Castro, 1997).



Fig 2. Características morfológicas de las especies de estudio: *Senecio praecox* (a), *Dahlia coccinea* (b), *Verbesina virgata* (c), *Eupatorium petiolare* (d) y *Tagetes lunulata* (e). Tomado de Sánchez (1980).

METODOS

Con el objeto de describir los parámetros de la variación genética de las especies de estudio se realizaron electroforesis en geles de almidón horizontal. La electroforesis permite la separación de proteínas extraídas del tejido de los organismos, bajo la influencia de una interacción entre la corriente eléctrica, el pH del gel y del buffer del electrodo. A continuación se hará una breve descripción de la metodología de electroforésis tomada y modificada de las técnicas empleadas por Soltis *et al* (1983).

Colecta

Los sitios de colecta corresponden a las zonas I (sitio A: Jardín Botánico) y II (sitio B: Espacio Escultórico) señaladas por las autoridades escolares en la Gaceta UNAM 1997. Estos sitios presentan una separación aproximada de 2.5 km y se encuentran delimitados por circuitos de tránsito vehicular, entre los que sobresale por su amplitud la Av. de los Insurgentes.

En cada sitio se colectaron aleatoriamente 30 individuos en etapa reproductiva de cada especie. De cada individuo fueron tomadas 5 hojas jóvenes que no presentaran daño por herbívoros o parásitos. El tejido colectado fue almacenado en un ultracongelador (REVCO, a -70°C) para su posterior análisis. Las colectas fueron realizadas de septiembre del 2000 a marzo de 2001.

Procesado de las muestras

El tejido fue primeramente triturado y homegenizado con nitrógeno líquido, para después ser macerado con 250 μl de be buffer de extracción *Abies* (Apéndice 4), recomendado para la extracción de proteínas en plantas con un alto contenido de compuestos secundarios. El macerado fue absorbido en “wicks” (cortes de papel filtro para cromatografía: Whatman No. 17) de 15 x 3 mm, mismos que fueron almacenados dentro de tubos Eppendorf en un ultracongelador (REVCO, a -70°C) para su posterior uso.

Montado de los geles

La muestras embebidas en los wicks fueron cargadas en geles de almidón de papa hidrolizado para electroforesis al 9.5 %. En cada gel se cargaron 30 wicks (una población) más 4 wicks con el macerado de las otras cuatro especies con el fin de calibrar las distancias de corrimiento de las variantes alélicas presentadas por todas las especies. En los extremos del gel se colocaron wicks saturados con el colorante amido-Black para evidenciar la distancia de corrimiento. El corrimiento del gel se hizo bajo un amperaje o voltaje específico (Apéndice 5) dentro de un refrigerador a una temperatura cercana a 0°C, ya que esto ayuda a controlar el sobrecalentamiento del gel ocasionado por la resistencia a la corriente.

Sistemas electroforéticos

Fueron seleccionadas 8 enzimas en 3 sistemas de buffers (Apéndice 5). Estas enzimas cumplieron con el criterio de ser polimórficas y presentar actividad en al menos 3 de las 5 especies.

Tinción

Transcurrido el tiempo y distancia de corrimiento determinados por cada sistema de buffers (Apéndice 5), cada gel fue cortado sagitalmente al deslizar un hilo sintético sobre unas guías de acrílico de 1.5 mm de grosor colocadas en los flancos del gel. Se obtuvo un promedio de 6 rebanadas por gel, de las cuales siempre fueron desechadas la primera y la última de ellas, ya que tienden a presentar deformaciones y poca definición debido a su exposición al calentamiento y al efecto de la migración transversal.

Cada rebanada se colocó en una caja de tinción, a la que se le agregaron los reactivos específicos (sustratos y otros compuestos requeridos) que difunden por el gel y reaccionan con la enzima bajo estudio. La detección de esta enzima se basa en la precipitación de indicadores solubles que tiñen el gel en las zonas de actividad enzimática (Wendel y Weeden, 1989). Dicha actividad demanda condiciones de luz y temperatura específicas, además de un lapso de tiempo mínimo para evidenciar su actividad (proceso de “incubación”).

Interpretación de los geles

Cada banda producida por un individuo en un gel teñido para una enzima dada, representa una *isoenzima*. Los diversos fenotipos de las isoenzimas pueden ser considerados como alternativos para un loci (*aloenzima*).

Para realizar la lectura de las bandas se numeraron los loci y los alelos, asignándole el número 1 al locus más alejado del origen, con mayor movilidad electroforética, el 2 al siguiente y así sucesivamente. De la misma manera, se numeraron las bandas dentro de un locus. Dado que se manejaron varias especies, los datos ingresados al análisis estuvieron basados en dos tipos de lectura: 1) para el análisis intraespecífico se numeraron los alelos presentes para cada locus en cada especie; 2) en los análisis interespecíficos (similitudes, distancias génicas y fenogramas) se manejó la lectura global del total de alelos presentes en todas las especies (Figs. 3a-3h)

La principal suposición desde el punto de vista evolutivo en el uso de isoenzimas es que los cambios en la movilidad de las enzimas en un campo eléctrico reflejan cambios en la secuencia de ADN, es decir que tales cambios tienen bases genéticas por lo que son heredables (Matson, 1984), con la ventaja adicional que la expresión enzimática es codominante. Sin embargo, la electroforesis no es un detector perfecto de la variación genética. Usualmente las bandas de una enzima o electromorfos con una movilidad dada representan productos de más de un gen. Cálculos basados en los cambios por unidad de carga sugieren que cerca de una tercera parte de las sustituciones de aminoácidos pueden ser electroforéticamente detectables (Ferguson, 1980).

ANÁLISIS DE DATOS

Variación genética

La variación genética para cada especie fue estimada a partir de las frecuencias alélicas por locus obtenidas para cada población, y se describió mediante:

- 1) *la proporción de loci polimórficos* $P = x/m$, donde x es el número de loci polimórficos y m es el número total de loci analizados, considerando un loci polimórfico cuando el alelo más raro tiene una frecuencia mayor a 0.05. Un valor de $P = 1$ indica que todos los loci presentan más de un alelo.
- 2) *la heterosis promedio observada* H_o , derivada del conteo directo del número de heterocigotos por locus.
- 3) *la heterosis promedio esperada* H_e . Asumiendo el equilibrio Hardy-Weinberg, la frecuencia de heterocigotos para cada locus es de $H = 1 - \sum p_i^2$, donde p_i es la frecuencia de i -ésimo alelo y p_i^2 la frecuencia del homocigoto $A_i A_i$. El valor de H promediado para todos los loci es la *heterosis promedio*. Cuando $H = 1$, indica que todos los individuos son heterocigotos (Hedrick, 1985; Futuyma, 1998).
- 4) *el número de alelos promedio por locus* $A = \sum (n_i/m)$, donde n_i es el número de alelos observados en el locus i y m es el número total de loci.

Diversidad genotípica

La reproducción asexual (propagación clonal), así como la depresión por endogamia resultante de la autofecundación, ocasionan la pérdida de diversidad genética, aumentando la probabilidad de que dos genotipos multilocus sean idénticos. Dado que para cuatro de las cinco especies estudiadas se ha documentado su capacidad de producir semillas sin la participación de ningún vector de polinización, los estimadores de diversidad genética resultan particularmente útiles para distinguir la proporción de entidades genotípicas distintas por población y por especie. Las medidas utilizadas usualmente son:

- 1) *el número de genotipos multilocus únicos* G . Considera el número total de combinaciones observadas.
- 2) *riqueza genotípica promedio* G/N , donde N es el número de individuos por población. Si $G/N = 1$ entonces todos los individuos presentan genotipos únicos.

Estructura genética

Para describir la distribución de la variación genética dentro de cada especie y entre sitios se estimaron el índice de fijación **F** y los estadísticos **F** de Wright (F_{IT} , F_{ST} y F_{IS})

F examina si las frecuencias alélicas de un locus se desvían de las esperadas. Esto se hace calculando la desviación de la frecuencia observada de los heterocigos esperados por Hardy-Weinberg (Hedrick 1983): $F = 2pq - H/2pq = 1 - H/2pq$, donde H es la proporción de heterocigos observados y $2pq$ es la porción de heterocigos esperados. Si su valor es de 0 entonces la población se encuentra en equilibrio Hardy-Weinberg. Los valores positivos indican una deficiencia de heterocigos, mientras que los valores negativos indican un exceso.

F_{ST} es una medida del nivel de diferenciación entre subpoblaciones, mide la reducción en heterocigosis de una población debido a deriva génica, $F_{ST} = (H_T - H_S) / H_S$, donde H_S es la heterosis promedio esperada sobre todos los loci a nivel de subpoblación y H_T es la heterosis promedio esperada sobre todos los loci a nivel de la población total. Cuando F_{ST} toma valores cercanos a cero, indica que no existe diferenciación y si es igual con uno todas las subpoblaciones son distintas. Si los valores son altos, nos indican que está actuando la selección natural y/o la deriva génica (Hedrick, 1983).

F_{IS} que mide la reducción en la heterocigosis de un individuo debido al apareamiento no aleatorio dentro de su subpoblación, $F_{IS} = (H_S - H_I) / H_T$, donde H_I es la heterocigosis observada promedio de todos los genes de un individuo en una subpoblación.

F_{IT} es el coeficiente de endogamia total de un individuo, debida tanto a la endogamia como a la deriva génica. Es una medida de la reducción en heterocigosis de un individuo relativo a la población total $F_{IT} = (H_T - H_I) / H_T$

F_{IS} y F_{IT} son medidas de la desviación de las proporciones de Hardy-Weinberg dentro de las subpoblaciones y en la población total respectivamente. Toman valores entre -1 (exceso de heterocigos) y +1 (todos los individuos son homocigos). Cuando $F_{IS} = 0$, la población está en equilibrio Hardy-Weinberg y cuando $F_{IT} = 0$, indica un tamaño efectivo

de la población grande, lo cual depende principalmente del tamaño de la muestra (Hedrick, 1983).

El cálculo de estos índices se hizo indirectamente con el programa Tools for Genetics Populations Analysis TFGA (Miller, 1997), que proporciona los estadísticos F , θ y f , equivalentes a F_{IT} , F_{ST} y F_{IS} respectivamente (Weir y Cockerham, 1984). Los estimadores de Weir y Cockerham asignan peso al número de individuos y al número de localidades muestreadas. Por ello 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 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.

Se obtuvo el error estándar mediante un "Jackknife" sobre todos los loci y los intervalos de confianza para los estimados (al 95%) mediante la técnica de remuestreo "Bootstrap". Para estimar la probabilidad de que F , F_{IT} y F_{IS} fueran estadísticamente diferentes de cero, se aproximaron una Chi-cuadrada: $X^2 = F^2 N (k-1)$ con $k(k-1)/2$ grados de libertad, donde N es el tamaño promedio de la muestra y k el número de alelos (Weir, 1990); y para F_{ST} se obtuvo $X^2 = 2N F_{ST}(k-1)$ con $(k-1)(s-1)$ grados de libertad, donde s es el número de subpoblaciones (Workman y Niswander, 1970).

Flujo Génico

Flujo génico es un término que incluye todos los mecanismos resultantes en el movimiento de genes de una población a otra (Stalkin, 1985). Se obtuvo una estimación indirecta del flujo génico Nm mediante la expresión derivada por Wright (1951) a partir de la F_{ST} :

$$F_{ST} \approx \frac{1}{4Nm + 1}$$

donde N es el tamaño de la población y m es la fracción de migrantes a N .

Así:

$$Nm = \frac{(1/F_{ST}) - 1}{4}$$

El estimado resultante es el valor que Nm tendría si la estructura de la población fuera un modelo de islas y el valor de F_{ST} fuera el mismo para cada alelo. Nm es el número de migrantes que llegan a una población cada generación. Valores de $Nm \ll 1$ producen una fuerte diferenciación entre las subpoblaciones (i.e., deriva génica actuando independientemente en cada subpoblación; Stalkin, 1994), mientras que si $Nm > 1$, las subpoblaciones se comportan como una sola población panmíctica y el flujo génico restringe el efecto de la deriva génica (Kimura y Maruyama, 1971, Hartl y Clark, 1989, Stalkin, 1994).

Relaciones genéticas (Fenogramas)

Se usaron las identidades genéticas de Nei (1978) entre pares de sitios por especie, para realizar un análisis UPGMA (Unweighted Pair Group Method with arithmetic Average). Este método estadístico multivariado muestra las relaciones entre unidades relacionadas evolutivamente, a una tasa de evolución constante. El análisis se realizó mediante el programa TFPGA (Miller, 1997) obteniéndose el fenograma respectivo.

Distancias y similitudes genéticas

Para estimar la distancia genética entre poblaciones se usó el valor D de Nei (1978). La medida está basada en la identidad normalizada, $I = (J_{xy}) / (J_x J_y)^{1/2}$, donde $J_{xy} = \sum p_i x q_i y$ expresa la probabilidad de escoger al azar un par de alelos idénticos, uno de la población x y otro de la población y (Hartl y Clark, 1989), lo cual es relativo a $J_{xx} = \sum p_i^2$ y $J_{yy} = \sum q_i^2$ que expresan la probabilidad de que dos alelos tomados al azar dentro de la misma población x o y , respectivamente, sean idénticos. Si las dos poblaciones tienen frecuencias alélicas idénticas, entonces $J_{xy} = J_{xx} = J_{yy}$, la identidad normalizada es 1 y la divergencia genética $D = -\ln I$ entre poblaciones resulta en una distancia $D = 0$ (Hartl y Clark, 1989). Si las poblaciones no comparten alelos $D = 1$.

RESULTADOS

Se probaron 28 enzimas, de las cuales 14 mostraron actividad definida para al menos una de las especies (Apéndice 1). De estas fueron seleccionadas 8 enzimas, considerando que presentaran actividad en al menos tres de las cinco especies. Estas enzimas mostraron un total de 14 loci, de los que fueron elegidos para su análisis 9 (AcPH, APX, GOT, LAP, ADH, GDH, ME, NADHDH 1 y NADHDH 2) tanto por su resolución como por presentar variación en la mayoría de las especies (Apéndice 2).

Frecuencias alélicas

Las frecuencias alélicas observadas y esperadas para cada alelo por locus, por sitio y por especie se muestran en la Tabla 3. Cada especie mostró un patrón distintivo de bandeo para las enzimas GOT, LAP, ADH, GDH, ME, NADHDH 1, en tanto que en las enzimas APX y AcPH fueron observados los mismos tres alelos en todas las especies. Una prueba de X^2 realizada para el análisis de la heterogeneidad de frecuencias alélicas (Workman y Niswander, 1970) señaló diferencias significativas entre especies ($p=0.0001$) más no entre sitios ($p=0.3715$), pese a que se advirtió la ausencia de algunos alelos en particular para el sitio B.

Variación genética

El número promedio de alelos por locus (**A**), el porcentaje de loci polimórficos (**P**) y la proporción de heterosis observada (**Ho**) varió notablemente entre especies, más no entre sitios (Tabla 5).

El valor de **A** ($=1.899 \pm 0.358$) es similar al reportado para plantas dicotiledóneas (**A**=1.54), herbáceas perennes de vida larga (**A**=1.44), con síndrome entomófilo para la reproducción sexual (**A**=1.54), dispersión por viento (**A**=1.70) y estado sucesional temprano a intermedio (1.46) (Hamrick y Godt, 1989). El mayor de estos valores corresponde a *D. coccinea* (**A**=2.375) un arbusto perenne con entrecruzamiento obligado, y el menor de ellos a *T. lunulata* (**A**=1.375), una herbácea anual con sistema de reproducción mixto.

Los valores para el índice de polimorfismo ($P=0.746\pm 0.219$), fueron mayores que el valor promedio encontrado por Hamrick y Godt (1996) ($P=0.453$) para otras especies pertenecientes a la Familia Asteraceae, sin embargo, debemos considerar que este índice es muy sensible al número y tipo de enzimas analizadas. Resalta el hecho de que las especies perennes (*D. coccinea*, *S. praecox*, *V. virgata* y *E. petiolare*) presentaron valores similares ($P=0.828 \pm 0.083$) y mucho más altos para P que *T. lunulata* ($P=0.379$), una especie anual. Una vez más *D. coccinea* muestra los valores más altos para ambos sitios ($P= 0.750$), resultado que es similar a los encontrados en otras especies pertenecientes a la tribu Coreoideae ($P=0.790$; Tabla 1).

El promedio de la heterocigosis observada ($H_o=0.044\pm 0.037$) fue significativamente menor que el de la heterocigosis esperada ($H_e=0.114\pm 0.083$) (Fig. 4) para todas las especies y significativamente diferente entre especies (H_o : $F=2.541$, $p=0.0466$) (Apéndice 3).

No se observaron diferencias significativas en los valores de H_o con respecto al hábito (perennes vs anuales; $F=2.6132$, $p=0.11$; g.l.=1), pero sí con respecto al sistema de apareamiento (mixto para *S. praecox*, *V. virgata*, *E. petiolare* y *T. lunulata* y entecruzamiento obligado para *D. coccinea*; $F=5.427$, $p=0.0466$; g.l.=1).

Tabla 3. Estimadores de diversidad genética total para cada especie (N=60) (en negritas) y para cada especie por sitio (N=30) (A - B). A=riqueza alélica, P=polimorfismo (99%), Ho=heterocigosis observada, He=heterocigosis esperada.

	A	P	Ho	He
<i>Senecio praecox</i>	2.000 (1.875 -1.500)	0.875 (0.750-0.375)	0.052 (0.056-0.048)	0.117 (0.121-0.114)
<i>Verbesina virgata</i>	1.888 (2.000-1.500)	0.889 (0.777-0.333)	0.017 (0.019-0.015)	0.083 (0.116-0.051)
<i>Eupatorium petiolare</i>	1.857 (1.714-1.714)	0.714 (0.428-0.714)	0.041 (0.082-0.000)	0.101 (0.062-0.140)
<i>Dahlia coccinea</i>	2.375 (2.125-1.875)	0.875 (0.750-0.750)	0.102 (0.126-0.078)	0.249 (0.316-0.182)
<i>Tagetes lunulata</i>	1.375 (1.250-1.125)	0.375 (0.125-0.250)	0.006 (0.000-0.011)	0.022 (0.014-0.031)

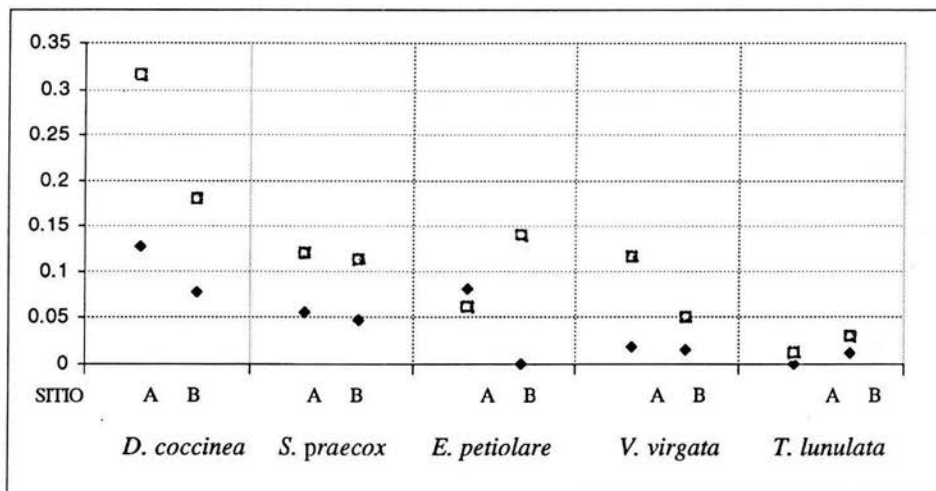


Fig 4. Heterocigosis observadas (Ho) ◆ y esperadas (He) ◻ para cada especie y sitio

Diversidad genotípica

La riqueza genotípica G/N fue significativamente distinta entre especies ($F=16.489$, $p=0.0066$; $g.l.=4$) y mostró variación significativa con respecto al sistema de reproducción ($F=5.427$, $p=0.0457$; $g.l.=1$). *D. coccinea*, mostró los valores más altos de diversidad genotípica (G y G/N) en ambos sitios ($G=43$ y $G/N=0.717$; Tabla 5). *S. praecox*, *V. virgata* y *E. petiolare* mostraron una $G/N < 0.28$, lo que indica que sólo el 28% de los individuos son genotípicamente distintos. *T. lunulata* mostró los valores más bajos en ambos sitios ($G=4$ y $G/N=0.067$), dichos valores indican que genéticamente sus poblaciones se comportan como un solo individuo, lo que es típico de muchas especies de invasoras.

No se encontraron diferencias significativas entre sitios al considerar a todas las especies en conjunto. Sin embargo, existe variación intraespecífica. En particular *V. virgata* mostró valores muy distintos entre sitios ($G_A=13$ y $G_B=4$).

Tabla 5. Medidas de diversidad genotípica por sitio para cada especie.

G número de genotipos multilocus únicos, G/N riqueza genotípica.

ESPECIE	G			G/N		
	A	B	A+B	A	B	A+B
<i>Senecio praecox</i>	10	9	16	0.333	0.300	0.267
<i>Verbesina virgata</i>	13	4	15	0.433	0.133	0.250
<i>Eupatorium petiolare</i>	6	9	15	0.200	0.300	0.250
<i>Dahlia coccinea</i>	27	17	43	0.900	0.567	0.717
<i>Tagetes lunulata</i>	2	3	4	0.067	0.100	0.067

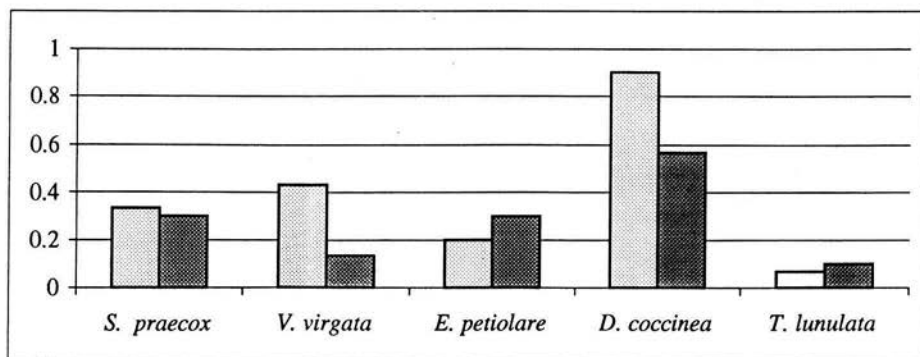




Fig. 5. Riqueza genotípica (G/N) por especie para los sitios A  y B 

Índices de fijación F

Todas las poblaciones presentaron valores positivos y estadísticamente significativos para los índices de fijación *F* (Tabla 6), lo que indica una desviación al equilibrio H-W y sugiere que hay más homocigos de los que se esperarían por apareamientos aleatorios.

Tabla 6. Índice de fijación *F* calculado para cada locus/especie y sitio.

LOCUS	F									
	<i>S. praecox</i>		<i>V. virgata</i>		<i>E. petiolare</i>		<i>D. coccinea</i>		<i>T. lunulata</i>	
	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
ADH	-	-	-	0.500*	-0.551**	1.000***	0.614**	0.878***	-	-
GDH	1.000***	0.951***	1.000***	1.000***	-0.015	1.000***	-0.077	1.000***	-	-
ME	-	-0.177	1.000***	-	-	1.000***	0.603**	0.166	-	-
LAP	-0.077	-0.015	1.000***	-	1.000***	1.000***	0.172	-0.015	-	0.842**
APX	-0.077	-	-0.047	-	-	-	1.000***	0.385*	-	-
AcPH	-0.077	-	0.738**	-	-	-	-	-	-	-0.015
GOT	1.000***	-	-	-	-	-	-	1.000***	-	-
NADH 1	1.000***	-	1.000***	1.000***	-	1.000***	1.000***	-	-	-
NADH 2	-	-	-	-	-	-	-	-	1.000***	-
PROM.	0.462*	0.253*	0.782**	0.710**	0.145	1.000***	0.557**	0.569*	1.000***	0.414*
D.E.	0.539	0.498	0.383	0.096	0.546	0.000	0.435	0.453		0.429

* $p < 0.05$, ** $p < 0.001$, *** $p < 0.0001$ - monomórfico

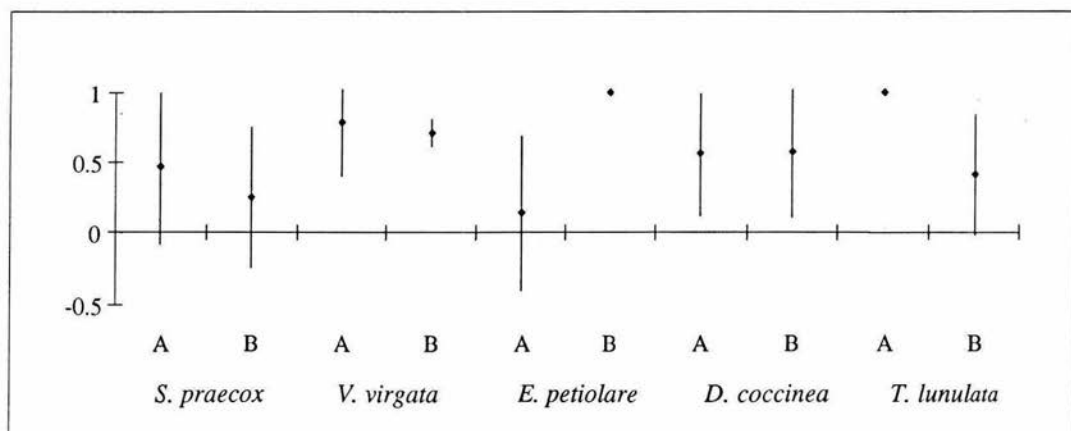


Fig. 6. Índice de fijación *F* para cada especie y sitio

Estadísticos *F* de Wright

Los estimados de F_{IT} , F_{ST} y F_{IS} para cada loci y en promedio para cada una de las especies en ambos sitios fueron en su mayoría significativamente diferentes de cero (Tablas 7-9). Los valores más altos de diferenciación fueron registrados para *E. petiolare* ($F_{ST}=0.192$) y *V. virgata* ($F_{ST}=0.1604$). Sin embargo, la F_{ST} promedio de todas las especies (Tabla 9) reveló un bajo nivel de diferenciación entre sitios, indicando que la variación genética se encuentra distribuida de manera casi uniforme entre los dos sitios, lo cual concuerda con los altos valores de flujo génico Nm registrados para todas las especies (Tabla 12).

Las medidas de la reducción en la heterocigosis F_{IS} (Tabla 10), así como los coeficientes de endogamia F_{IT} (Tabla 11) indican un exceso de homocigos para todas las especies en particular para *E. Petiolare* ($F_{IT}=0.939$; $F_{IS}=0.895$) y *V. virgata* ($F_{IT}=0.904$; $F_{IS}=0.809$).

Tabla 7. Estadístico F_{ST} calculado para cada locus y en promedio para cada una de las cinco especies

LOCUS	F_{ST}				
	<i>E. petiolare</i>	<i>D. coccinea</i>	<i>T. lunulata</i>	<i>V. virgata</i>	<i>S. praecox</i>
ADH	0.060*	0.009	-	0.052	-
GDH	0.099*	0.017	-	0.814***	0.153*
ME	0.014	0.113*	-	0.138*	0.155*
LAP	0.612***	0.233**	0.089*	0.000	0.007
APX	-	0.016	-	0.017	0.069*
AcPH	-	-	0.017	0.228**	0.069*
GOT	-	0.035	-	-	0.000
NADH 1	0.177*	0.149*	-	-0.035	0.000
NADH 2	-	-	0.035	0.069*	-
PROMEDIO	0.192**	0.081*	0.061	0.1604*	0.065*
JACKkNIFE \pm D.S.	0.374 \pm 0.207	0.088 \pm 0.039	0.072 \pm 0.033	0.664 \pm 0.361	0.143 \pm 0.045

* $p < 0.05$, ** $p < 0.001$, *** $p < 0.0001$

- monomórfico

Tabla 8. Estadístico F_{IS} calculado para cada locus y en promedio para cada una de las cinco especies

LOCUS	F_{IS}				
	<i>E. petiolare</i>	<i>D. coccinea</i>	<i>T. lunulata</i>	<i>V. virgata</i>	<i>S. praecox</i>
ADH	0.732***	0.743***	-	-0.055	-
GDH	0.832***	0.413*	-	1.000***	0.972***
ME	1.000***	0.412*	-	1.000***	-0.184
LAP	1.000***	0.156	0.843**	1.000***	-0.057
APX	-	0.746**	-	-0.018	-0.074
AcPH	-	-	-0.018	0.741**	-0.074
GOT	-	1.000***	-	-	1.000***
NADH 1	1.000***	0.927**	-	1.000***	1.000***
NADH 2	-	-	1.000***	1.000***	-
PROMEDIO	0.895***	0.586**	0.754**	0.809**	0.561*
JACKKNIFE \pm D.S.	0.889 \pm 0.072	0.585 \pm 0.109	0.809 \pm 0.197	0.817 \pm 0.107	0.793 \pm 0.510

* $p < 0.05$, ** $p < 0.001$, *** $p < 0.0001$

- monomórfico

Tabla 9. Estadístico F_{IT} calculado para cada locus y en promedio para cada una de las cinco especies.

LOCUS	F_{IT}				
	<i>E. petiolare</i>	<i>D. coccinea</i>	<i>T. lunulata</i>	<i>V. virgata</i>	<i>S. praecox</i>
ADH	0.748***	0.745***	-	0.000	-
GDH	0.849***	0.423*	-	1.000***	0.976***
ME	1.000***	0.478**	-	1.000***	0.000
LAP	1.000***	0.352	0.857***	1.000***	-0.050
APX	-	0.750***	-	0.000***	0.000
AcPH	-	-	0.000	0.800***	0.000
GOT	-	1.000***	-	-	1.000***
NADH 1	1.000***	0.938***	-	1.000***	1.000***
NADH 2	-	-	1.000***	1.000***	-
PROMEDIO	0.928***	0.623**	0.769**	0.904***	0.614**
JACKKNIFE \pm D. S.	0.939 \pm 0.066	0.618 \pm .088	0.826 \pm 0.189	0.956 \pm 0.118	0.850 \pm 0.489

* $p < 0.05$, ** $p < 0.001$, *** $p < 0.0001$

- monomórfico

Flujo génico

Si bien la distancia entre sitios fue la misma para todas las especies, los valores del flujo génico Nm indican que su efecto difiere según la especie, aunque en general tales valores fueron mayores a 1 (Tabla 10) para todas las especies, lo que indica que los individuos analizados en ambos sitios se comportan como una sola población panmíctica (Hartl y Clark, 1989, Stalkin 1994).

Tabla 10. Flujo génico promedio Nm entre sitios para cada especie

ESPECIE	Nm
Eupatorium petiolare	1.049
<i>Dahlia coccinea</i>	2.809
<i>Tagetes lunulata</i>	4.467
<i>Verbesina virgata</i>	1.192
<i>Senecio praecox</i>	3.613

Similitud y distancia genética

En la Tabla 11 se muestran las identidades I y las distancia D genéticas de Nei (1978) para pares de poblaciones. Las poblaciones pertenecientes a la misma especie mostraron entre sí una similitud del $94.2\% \pm 5.43$, en tanto que la distancia promedio entre poblaciones de especies distintas fue mayor al 64%.

El promedio de D entre pares de sitios dentro de una misma especie fue de 0.0515 (E.E.=0.037), en tanto que el promedio de D entre especies fue de 0.6041 (E.E.=0.043), lo que indica que las especies son mucho más distintas entre si que entre sitios. El valor de D máximo entre sitios para una misma especie se observó en *E. petiolare* ($D= 0.1171$), en tanto que el valor mínimo fue registrado para *T. lunulata* ($D= 0.0025$). *S. praecox* presentó las distancias genéticas más grandes con respecto al resto de las especies ($0.5838 < D < 0.8852$).

En el fenograma propuesto (Fig. 7) no se observa una tendencia definida con relación al hábito (anual o perenne) o modo de reproducción (auto o entre).



BIBLIOTECA
INSTITUTO DE ECOLOGIA
UNAM

Tabla 11. Matriz de identidades *I* (bajo la diagonal) y distancias genéticas *D* (sobre la diagonal) insesgadas de Nei' (1978)

		<i>S.p.</i> A	<i>S.p.</i> B	<i>V.v.</i> A	<i>V.v.</i> B	<i>E.p.</i> A	<i>E.p.</i> B	<i>D.c.</i> A	<i>D.c.</i> B	<i>T.l.</i> A	<i>T.l.</i> B
<i>S.p.</i>	A	*****	0.0193	0.5838	0.6066	0.8816	0.8279	0.6069	0.6684	0.6939	0.6764
	B	0.9777	*****	0.6426	0.6417	0.8852	0.821	0.6209	0.6767	0.7437	0.7270
<i>V.v.</i>	A	0.3266	0.2622	*****	0.0876	0.4982	0.5564	0.6419	0.7118	0.4825	0.4665
	B	0.3356	0.3000	0.9055	*****	0.513	0.5787	0.5947	0.6542	0.6051	0.5900
<i>E.p.</i>	A	0.0133	0.0021	0.4541	0.4526	*****	0.1171	0.6056	0.6246	0.8169	0.7980
	B	0.0142	0.0148	0.3528	0.3461	0.8665	*****	0.4765	0.4592	0.7058	0.6863
<i>D.c.</i>	A	0.1733	0.1460	0.1690	0.2648	0.2057	0.3273	*****	0.0308	0.5367	0.5385
	B	0.1775	0.1605	0.1539	0.2527	0.2564	0.4152	0.9617	*****	0.6469	0.6487
<i>T.l.</i>	A	0.2487	0.1984	0.4742	0.3826	0.1741	0.2220	0.3608	0.2891	*****	0.0025
	B	0.2498	0.1975	0.4853	0.3912	0.1769	0.2265	0.3519	0.2808	0.9975	*****

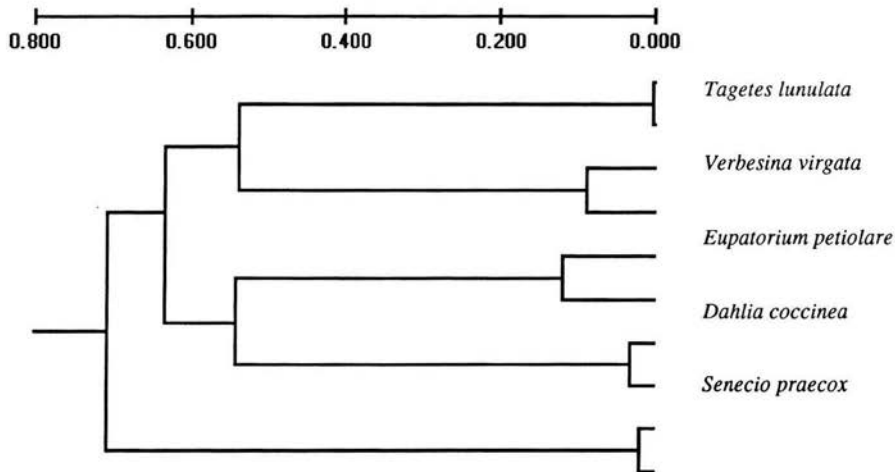


Fig.7. Fenograma de las poblaciones de Astereaceae estudiadas en la Reserva del Pedregal de San Angel, C.U., construido con los estimadores insesgados de distancia genética de Nei (1978) por el método de UPGMA

DISCUSIÓN

Los resultados mostraron niveles contrastantes de variación genética entre especies, que corresponden en su mayoría con las predicciones sobre las consecuencias genéticas de los atributos de historia de vida, en particular en lo referente al hábito. Una característica común a todas las especies con excepción de *D. coccinea* fueron los altos niveles de endogamia que al parecer han derivado en la presencia de unos pocos genotipos. En cuanto a la diferenciación entre sitios, los resultados obtenidos sugieren que los efectos de fragmentación del hábitat, a la escala estudiada, han sido mínimos; sin embargo la magnitud de estos parece estar relacionada con los caracteres de historia de vida de cada especie, en particular en lo referente a los sistemas de polinización.

Variación genética

El resultado más evidente del análisis de los niveles de variación de los parámetros: P, A, G/N y H_o , es la marcada diferenciación entre especies, seguido por las relaciones significativas entre dichos parámetros y el sistema de apareamiento en el sentido indicado por Hamrick y Godt. (1989, 1996), quienes identificaron una asociación positiva entre la magnitud del entre-cruzamiento y la variación genética. De manera que como había sido previsto en las hipótesis, *D. coccinea* presentó el mayor número de loci polimórficos (P), así como la mayor cantidad de alelos por locus (A), además que el 70 % de sus genotipos multilocus (G/N) resultaron ser únicos, lo que muestra la importancia de la reproducción sexual en esta especie, que de acuerdo con Figueroa-Castro (1997) presenta una auto-incompatibilidad del 100%. Este resultado es similar a los reportados para otros miembros de la tribu Coreopsidae (ver Tabla 1), que suelen presentar la misma combinación de caracteres de historia de vida (perennes con auto-cruzamiento obligado). En contraste los bajos niveles de variación genética observados para *T. lunulata* pudiesen estar relacionados con su hábito anual y su sistema de reproducción que es mixto (auto y entre). Valores intermedios correspondieron a *S. praecox*, *V. virgata* y *E. petiolare* que si bien presentan hábito perenne, también son autocompatibles (Figueroa-Castro, 1997; Pérez-Ishiwara com. pers.). Es probable que los valores para estas últimas especies muestren el efecto del mecanismo de agamosperma, ya que no se ha reportado que presenten hábito clonal.

Los valores promedios de la heterocigosis observada H_o por taxa también variaron significativamente, lo cual pudiera estar relacionado con el grado de incompatibilidad que a su vez determina el grado de entrecruzamiento. Un resultado a favor de lo anterior es el hecho de que *D. coccine*, presentó el valor más elevado para la H_o (0.102). Sin embargo, el valor promedio para el resto de las especies (0.044 ± 0.037) está por debajo del valor promedio reportado por Hamrick y Godt (1996) para las Asteraceae ($H_o=0.127$), y en general para las plantas perennes de vida corta con reproducción mixta ($H_o =0.172$); pero es cercano al reportado para plantas endémicas que presentan autopolinización ($H_o=0.037$). Valores similares de H_o han sido reportados para otros géneros de la Familia Asteraceae como: *Antenaria* ($H_o=0.0956\pm 0.022$; Bayer *et al* 1991), *Pyrrohopappus* ($H_o=0.0505$; Petersen *et al*, 1990), *Wilkesia* ($H_o=0.072\pm 0.05$; Witter y Carr,1988) y *Dubautia* ($H_o=0.099\pm 0.06$; Witter y Carr,1988); las últimas cuatro especies son anuales. Es probable que los bajos valores de la H_o estén asociados no sólo a sus caracteres ecológicos, sino también a que las especies estudiadas se encuentran en lo que actualmente es un relicto de la extensión territorial original, lo que quizá determine la magnitud de dicho valor como un efecto generalizado de la disminución del hábitat, del cual se sabe por numerosos estudios (Falconer, 1989; Templeton, 1990, Olsen y Jain 1994; Foré y Guttman 1999; Hardy *et al* 2000; Rosquist y Prentice 2000; Neel y Ellstrand 2001; Cuartas 2002) que tiende a erosionar la variabilidad genética.

Los cambios en la heterocigosis no son de respuesta inmediata a la fragmentación; sino que dependen de los cambios en el sistema de apareamiento, el aumento en la autofecundación o la endogamia biparental en poblaciones pequeñas, debido a cambios en el comportamiento de los polinizadores (Young *et al* 1996). En términos ecológicos, los bajos niveles de la H_o pudieran ser el efecto no sólo de los niveles de auto-incompatibilidad, sino también de la ausencia de polinizadores efectivos, como lo sugieren los datos de riqueza y abundancia de los visitantes florales reportados por Figueroa-Castro (1997) y Castillo-Gamez (1999) para el Pedregal de San Angel.

Aunque es aventurado suponer que la fragmentación del Pedregal sea la causa de un cambio en los vectores de polinización, es muy probable que la reducción en el tamaño de las poblaciones y el aislamiento con respecto a las poblaciones más cercanas, influyeran la

reducción del número de insectos antófilos. Golden y Crist (2000) indican que los gremios de polinizadores antófilos suelen tener tamaños efectivos grandes, por lo que la reducción y perturbación del hábitat tendrán efectos nada desdeñables sobre esta interacción.

Equilibrio Hardy-Weinberg

Las desviaciones al equilibrio no mostraron tendencias a estar concentradas en un sitio particular o locus. Aparentemente el valor positivo de F es un rasgo común para este taxón, en el que la endogamia y los eventos autoploidios han jugado un papel importante en la evolución de la Familia (Helariutta *et al* 1996).

Considerando que el flujo génico observado fue grande ($Nm=2.626 \pm 1.49$), la desviación al equilibrio podría atribuirse a la depresión endogámica (como lo indican los estadísticos F_{IS} y F_{IT}), a que el tamaño efectivo puede ser grande (Hartl y Clark, 1989), a procesos deterministas como la selección natural (Slatkin 1987, Wright 1988), o estocásticos como un probable efecto fundador o la deriva génica, que a su vez es inducida principalmente por la reducción del hábitat (Falconer, 1989).

Índice de fijación y estadísticos F

Las medidas de la reducción en la heterocigosis F_{IS} , así como los coeficientes de endogamia F_{IT} indican un exceso de homócigos debido probablemente al efecto de cruza entre individuos emparentados (endogamia) y/o selección a favor de los homócigos, lo cual es poco probable dado que se trata de un ambiente heterogéneo.

En particular, *E. petiolare* ($F_{IT}=0.939$; $F_{IS}=0.895$) y *V. virgata* ($F_{IT}=0.904$; $F_{IS}=0.809$) mostraron el menor grado de heterocigosis. Esto pudiera estar asociado a ciertos atributos de historia de vida relativos a la asignación de recursos, ya que son las dos únicas de las especies estudiadas que mantienen sus estructuras aéreas y fotosintéticas durante todo el año; es decir que pudiera existir una disyuntiva (*trade-off*) entre el mantenimiento de estas estructuras y la asignación a la reproducción. Figueroa-Castro (1997) plantea que estas especies probablemente adoptaron la anemofilia y la autogamia como una forma alternativa de reproducción para enfrentar la ausencia de polinizadores efectivos, puesto

que en sus observaciones no detectó los vectores de polinización sugeridos por la morfología floral de estas especies.

Los valores observados para las F_{ST} fueron menores que los valores de diferenciación encontrados en plantas dicotiledóneas con sistema de cruzamiento mixto ($G_{ST}=0.24$; Hamrick y Godt 1996), o de la misma familia taxonómica ($G_{ST}=0.204$; Hamrick y Godt 1996). Los valores promedio de la diferenciación entre poblaciones (F_{ST}), indican que las poblaciones de *D. coccinea* ($F_{ST}=0.081$), *S. praecox* ($F_{ST}=0.065$) y *T. lunulata* ($F_{ST}=0.061$) están pobremente estructuradas, en comparación con las de *E. petiolare* ($F_{ST}=0.192$) y *V. virgata* ($F_{ST}=0.160$). Hamrick y Godt (1996) han reportado que dos de los atributos de historia de vida más importantes para explicar la variación interespecífica de F_{ST} son los sistemas de apareamiento y de dispersión de semillas, ya que aquellas especies con sistemas de apareamiento mixto o entrecruzamiento obligado (*D. coccinea*) y dispersión de semillas por gravedad (*S. praecox*) y/o por la acción de animales (*T. lunulata*) presentan niveles de estructuración menores que las especies que se autofecundan y/o son dispersadas por el viento, como *E. petiolare* y *V. virgata*. En el caso de *V. virgata*, tal efecto pudiera atribuirse a la falta de polinizadores efectivos, ya que se ha reportado que su visitador floral más frecuente es *Apis mellifera* (Figueroa-Castro, 1997), un antófilo bastante generalista. *E. petiolare* no depende de ningún vector biótico para su polinización y dispersión, por lo que resulta extraño que presente el mayor nivel de diferenciación, lo cual podría deberse a la importancia relativa de su propagación vegetativa. En el campo, *E. petiolare* tiende a formar manchones muy densos en los lugares óptimos para su establecimiento, lo que pudiera afectar los niveles de endogamia, o bien favorecer el crecimiento vegetativo de esta especie.

En términos generales, los bajos niveles de diferenciación entre poblaciones aunado a los altos niveles de flujo génico encontrados parecieran indicar que el aislamiento de las poblaciones, en las escalas de tiempo y distancia estudiadas no ha tenido consecuencias genéticas definidas con respecto a uno de los dos sitios en particular. Sin embargo, aunque las relaciones entre los diversos parámetros de variación (P , A , G/N , H_o) no fueron significativas con respecto al efecto del sitio, es notable que la mayoría de estos valores

fueron más altos en el sitio A (Jardín Botánico) que en el B (Espacio Escultórico) que visiblemente está más alterado.

Dado que existe un consenso general respecto a los beneficios de la heterocigosis sobre la adecuación (Eguiarte *et al*, 1992; Ellstrand y Elam, 1993; Oostermeijer *et al*, 1994; Linhart y Grant, 1996) y de la importancia de conservar la riqueza alélica que es la que define en última instancia los límites del potencial evolutivo de una especie, el presente estudio sugiere dar prioridad a la conservación del sitio A, cuya reducción ha sido significativa en los últimos años dada la construcción acelerada de nuevas edificaciones, puesto que es el sitio que muestra la mayor variabilidad genética para cinco de las especies clave del Pedregal. Sin embargo, tal sugerencia está basada en los patrones de diversidad aloenzimática que no siempre están en concordancia con otros tipos de diversidad, por lo que deben ser aplicados cuidadosamente (Hamrick, 1989; Lynch, 1996; Storfer, 1996)

Relaciones genéticas entre sitios y especies

Si consideramos que las distancias genéticas interespecíficas son el reflejo de su divergencia filogenética (Lewontin, 1974; Gotlieg, 1977; Hamrick *et al* 1979,1996; Bawa, 1992; Thebaud y Abbot, 1995; Linhart, *et al* 1996; Cherniavsky y Bayer, 1998; Torrell *et al* 1999; Lynch *et al* 1999; Hardy *et al*. 2000), y que las distancias intraespecíficas son efecto de la diferenciación genética entre poblaciones, los resultados obtenidos indican poca diferenciación entre sitios dada la alta similitud ($94.2\% \pm 5.43$) entre poblaciones pertenecientes a la misma especie, y gran distancia entre especies dadas las distancias ($60\% \pm 4.1$) entre poblaciones de especies distintas.

En cuanto posible efecto de la fragmentación en el flujo génico, cabe mencionar que si bien la distancia entre sitios fue la misma para todas las especies, la magnitud de tal valor varió notablemente entre ellas, siendo *T. lunulata* la única en presentar un valor mayor que cuatro; sin embargo tal valor puede ser un artefacto de su poquísimas variación

Fenograma

En el fenograma propuesto (Fig. 7) no se observa una tendencia definida con relación al tipo de hábito (anual o perenne) o modo de reproducción (auto o entre).

En cuanto a la relación entre especies, se esperaba que estas presentan una distribución similar al de las tribus a las cuales pertenecen, mismo que ha sido consensado por diversos estudios tanto morfológicos como moleculares (ver Jansen *et al.*, 1990). Sin embargo, solo *S. praecox* se ubicó de la manera esperada, lo que puede deberse a que las especies examinadas en este estudio son distintas a las utilizadas por este autor, siendo *S. praecox*, lo bastante distinto del resto de las especies para conservar una distancia considerable.

Comportamiento electroforético

Los patrones de variación isoenzimática muestran marcadas diferencias entre los taxa estudiados, lo cual pudiera ser el resultado de la diferenciación genética asociada a su historia evolutiva. Esta misma suposición ha sido considerada por Thebaud y Abbot (1995), Cherniawsky y Bayer (1998) y Torrell *et al* (1999), quienes abordaron el problema de la sistemática de diversos géneros de Asteraceas, mediante su caracterización genética y morfológica; sus resultados muestran que las diferencias morfológicas (forma, tamaño y número de hojas, ramas y aquenios) entre los taxa están correlacionadas positivamente con su variación isoenzimática (distancia de corrimiento, número de loci y alelos). Si bien en el presente estudio no se realizaron análisis morfométricos, el comportamiento electroforético de los taxa permitió identificar claramente un patrón específico de bandeo asociado a cada especie. Al comparar dichos patrones resultó evidente que *S. praecox* fue la especie más disímil, ya que en promedio presentó el doble de la distancia de corrimiento que las otras especies, así como también la duplicación de algunos loci, (GOT 2, GOT3, AcPH 2, AcPH 3 y NADHDH 3) que se mostraron como fijos y exclusivos para esta especie, lo que sugieren un origen híbrido o poliploide (Wendel y Weeden, 1989). Los patrones de bandeo más similares fueron los de *V. virgata* y *D. coccinea*, especies que hasta hace poco estaban consideradas dentro de la misma tribu (Heliantheae). Sin embargo las medidas de variación genética (P,A, G/N y Ho) usadas para caracterizarlas, indican grandes diferencias entre estas especies, mismas que pudieran estar más relacionadas con sus estrategias ecológicas (i.e. sistemas reproductivos) que con su distancia genética.

CONCLUSIONES

1. La heterosis observada difirió significativamente de la heterosis esperada para todas las especies, lo indica una desviación al equilibrio H-W, que puede interpretarse como el efecto de la endogamia experimentada en mayor magnitud por *T. lunulata*, *E. petiolare* y *V. virgata*.
2. *D. coccinea*, *S. praecox* y *T. lunulata* se caracterizaron por presentar altos niveles de flujo génico y poca estructuración genética entre poblaciones, lo que hace posible interpretar que la subdivisión del hábitat a la escala estudiada (espacial y temporal), no ha producido un efecto a nivel genético que las identifique como subunidades.
3. La diversidad genética mostró estar asociada con el sistema de apareamiento más que con el tipo de hábito, siendo mayor para *D. coccinea* que presenta sistemas auto-incompatibilidad del 100%.
4. La distancia genética entre sitios para una misma especie fue mínima, en tanto que la distancia entre especies fue grande, lo que probablemente refleje la distancia filogenética que separa a las especies y/o las diferencias genéticas asociadas a los atributos de sus historia de vida.

PERSPECTIVAS

La ecología de la polinización parece tener un papel importante sobre la diversidad genética de las especies. De acuerdo con Bertin (1989), la auto-polinización no necesariamente produce semillas viables, por lo que sería interesante evaluar la correlación de los niveles de endogamia con la adecuación de los individuos en términos de la producción (número, talla y peso) y viabilidad de las semillas. Además, dicha información ofrecería elementos para la realización de un estudio comparativo, en el que los atributos genéticos y ecológicos puedan ser correlacionados con estos caracteres adaptativos.

BIBLIOGRAFÍA

- Alvarez, J., J. Carabias, J. Meave, P. Moreno-Casasola, D. Nava, F. Rodríguez, C. Tovar y A. Valiente. 1982. Proyecto para la creación de una reserva en el pedregal de San Ángel. Facultad de Ciencias UNAM. México.
- Bawa, K.S. 1992. Mating Systems, Genetic Differentiation and Speciation in Tropical Rain Forest Plants. *Biotropica* 24 (2b): 250-255.
- Bawa, K.S. y D.M. O'Malley. 1987. Estudios genéticos y de sistemas de entrecruzamiento en algunas especies arbóreas de bosques tropicales. *Rev. Biol. Trop. (Supl.1)*: 177-188.
- Bawa, K., B. Schaal, O.T. Solbrig, S. Stearns, A. Templeton y G. Vida. 1991. Biodiversity from the gene to the species. En O.T. Solbrig (ed) *From genes to ecosystems: a research agenda for biodiversity*, Pag. 15-36. International Union of Biological Sciences, Paris.
- Ballal, S.R., Foré, S.A. y S.I. Guttman. 1994. Apparent gene flow and genetic structure of *Acer saccharum* subpopulations in forest fragments. *Canadian Journal of Botany* 72:1311-1315.
- Brown, A.H.D. 1979. Enzyme polymorphism in plant populations. *Theor. Pop. Biol.* 15:1-42.
- Brown, A.H.D., A.C. Matheson, K.G. Eldrige. 1975. Estimation of the mating system of *Eucalyptus obliqua*. L'Herit by using allozyme polymorphism. *Aust. J. Bot.* 23:931-949.
- Clegg, M.T. y B.A. Brown. 1983. Isozyme assessment of plant genetic resources. *Isozymes: Curr. Top. Biol. Med. Res* 11: 285-295.
- Cano-Santana Z. 1994. La Reserva del Pedregal de San Ángel como un ecosistema: estructura trófica. Pp. 149-158. En Rojo, A. (comp.). *Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel: Ecología, Historia Natural y Manejo*. UNAM, México.

- Cano-Santana Z. Y J.C. Meave. 1996. Sucesión primaria en derrames volcánicos: el caso del Xitle. *Ciencias* 41:58-68.
- Carrillo, T.C. 1995. *El Pedregal de San Ángel*. UNAM. México. 177p.
- Castillo, R.A. 1999. *Selección dependiente de la frecuencia en plantas: polinización por engaño en Begonia gracilis HBK (Begoniaceae)*. Tesis de doctorado. UNAM. México.
- Cherniawsky, D.M. y R.J. Bayer. 1998. Systematics of Northeamerican *Petasites* (Asteraceae: Senecioneae). II. Isozyme analysis and population genetic structure. *Canadian Journal of Botany* 76: 1946-19487.
- Coello, J.G. 1989. *Estructura genética y determinación de los parámetros del sistema de apareamiento en poblaciones silvestres de Phaseolus coccineos*. Tesis de Licenciatura. UNAM. México.
- Crow, J.S. y K. Aoki. 1984. Group Selection for a Polygenetic Behavioral Trait: Estimating the Degree of Population Subdivision. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 81: 6073-6077.
- Crow, J.S. y M. Kimura. 1970. *An Introduction of Population Genetics Theory*. Harper and Row Pub. London.
- Cuartas, S.E. 2002. Efectos ecológicos y genéticos de la fragmentación en las poblaciones de *D. seguine* (Araceae) en los Tuxtlas Ver. México. Tesis de Maestría. UNAM.
- Eguiarte, L.E., N. Pérez-Nasser y D. Piñero. 1992. Genetic structure, outcrossing rate and heterosis in *Astrocaryum mexicanum* (tropical palm); implications for evolution and conservation. *Heredity* 69: 217-228.
- Eguiarte, L.E., J. Núñez-Farfán, C. Domínguez y C. Cordero. 1999. *Biología evolutiva de la reproducción en plantas*. En J. Núñez-Farfán y L.E. Eguiarte. La Evolución Biológica. UNAM. CONABIO. México.

- Ellstrand, N.C. y D.R. Elam. 1993. Population genetic consequences of small population size. Implications for plant conservation. *Annual Review of Ecology and Systematics* 24: 217-42.
- Enciso, S.v. 1979. Las lavas de El Pedregal . *Ciencia y Desarrollo* 25: 89-93.
- Endler, J.A. 1977. *Geographic Variation, Speciation and Clines*. Princeton University Press., Princeton, N.J.
- Falconer, D.S. y T.F.C. Mackay. 1989. Introduction to quantitative genetics. 4ª Ed. Longman. Malaysia.
- Faith, D.P. y P.A. Walker. 1996. How de indicator groups provide information about the relative biodiversity of different sets of areas? On hotspots, complementary and pattern-based approaches. *Biodiversity Letters* 3: 18-25.
- Ferguson, A. 1980. Biochemical systematics and evolution. Wilwy and Sons. N.Y.
- Figueroa-Castro D.M. 1997. Análisis comparativo de la biología floral de cinco especies de compuestas del Pedregal de San Ángel, D.F., (México). Tesis de Licenciatura. UNAM. México
- Figueroa-Castro D.M., Cano-Santana Z. y Camacho-Castillo E. 1998. Producción de estructuras reproductivas y fenología reproductiva de cinco especies de compuestas en una comunidad xerófila. *Bol. Soc. Bot. México* 63:67-74.
- Foré, S.A. y S.I. Guttman. 1999. Genetic structure of *Helianthus occidentalis* (Asteraceae) in a preserve whit fragmented habitat. *American Journal of Botany* 86 (7): 988-995.
- Foré, S.A., R.J. Hickey, J.L. Vankat y S.I. Guttman. 1992. The effect of forest fragmentation on genetic diversity and structure: a landscape ecology perspective. *Canadian Journal of Botany* 70: 1659-1668.
- Futuyma, D.J. 1998. *Evolutionary Biology*. Sinauer, Sunderland, Mass.

- Gaceta UNAM. 1997. Acuerdo de reestructuración de la Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel.
- Grashoff, J.L. y J.H. Beaman. 1970. Studies in Eupatorium (Compositae), III. Apparent wind pollination. *Brittonia* 22: 77-84.
- Gentry, A.H. 1992. Tropical forest biodiversity: distributional patterns and their conservational significance. *Oikos* 63: 19-28.
- Golden, D.M. y T.O. Crist. 2000. Experimental effects of habitat fragmentation on rove beetles and ants: patch area or edge? *Oikos* 90: 525-538.
- Gottlieb, L.D. 1977. Electrophoretic evidence and plant systematics. *Ann. Mo. Bot. Gard.* 64: 161-180.
- Gottlieb, L.D. 1982. Conservation and duplication of isozymes in plants. *Science* 216(23): 373-380.
- Hamrick, J.L. 1983. The distribution of genetic variation within and among natural populations. En: Genetics and conservation: a reference for managing wild animal and plant population. Benjamin/Cummings Pub. Co. Inc. E.U.
- Hamrick, J.L. y M.J.W. Godt. 1989. Allozyme diversity un plant species. En Brown, A.D.H., Clegg, M.T., Kahler, A.L. y Weir, B.S. (eds) *Plant Populations Genetics, Breeding and Genetic Resources*. Sinauer: Sunderland. Mass. Pp 43-63.
- Hamrick, J.L. y M.J.W. Godt. 1996. Effects of life history traits on genetic diversity in plant species. *Phil. Trans. R. Soc Lond* 351: 1291-1298.
- Hamrick, J.L., Y.B. Linhart y J.B. Mitton. 1979. Relationships between life history characteristics and electrophoretically detectable genetic variation in plants. *Annual Review of Ecology and Systematics* 1.: 173-200
- Hardy, O.J., S. Vanderhoeven, P. Meerts y X. Vekemans. 2000. Spatial autocorrelation of allozyme and quantitative markers within a natural population of *Centaurea jacea*

(Asteraceae). *J. Evol. Biol* 13: 656-667.

Hartl, D.L. y A.G. Clark. 1989. *Principles of population genetics*. 2^a Ed. Sinauer: Sunderland. Mass.

Hedrick, D.W. 1983. *Genetics of Populations*. Science Books Int. Boston.

Helariutta, Y., M. Kotilainen, P. Elomaa, N. Kalkkinen, K. Bremer, T.H. Teeri y V.A. Albert. 1996. Duplication and functional divergence in the chalcone synthase gene family of Asteraceae: Evolution with substrate change and catalytic simplification. *Proc. Natl. Acad. Sci* 93: 9033-9038.

Herrera, A.L. y L. Almeida. 1994. Relaciones fitogeográficas de la flora vascular de la Reserva del Pedregal de San Angel. En Rojo, A. (comp) *Reserva Ecológica del Pedregal de San Angel: Historia Natural y Manejo* Pp: 83-89. UNAM. México.

Jansen, R.K., K.E. Holsinger, H.J. Michaels y J.D. Palmer. 1990. Phylogenetic analysis of chloroplast DNA restriction site data at higher taxonomic levels: an example from the Asteraceae. *Evolution* 44(8): 2089-2105.

Jones, S.B. 1988. *Sistemática Vegetal*. McGraw-Hill. México.

Kimura, M. Y T. Maruyama. 1971. Patterns of neutral polymorphism in a geographically structured population. *Genetic Research* 18: 125-131.

Lande, R. Y D.W. Schemske. 1985. The evolution of self-fertilization and inbreeding. *Evolution* 39(1): 24-40.

Lechuga, N.K.V. 1971. Estudio ecológico de los insectos en *Senecio praecox* D.C. en el Pedregal de San Ángel. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias. UNAM. México.

Leding, T.F. 1986. Heterozygosity and fitness in outbreeding systems in *Plectritis* (Valerianaceae). *Evolution* 38(6): 1308-1325.

Levin, D.A. y H.W. Kerster. 1974. Gene flow in seed plants. *Evol. Biol.* 7:139-220.

- Lewontin, R.C. 1974. *The genetic bases of Evolutionary Change*. Columbia University Press. N.Y.
- Linhart, Y.B. y M.C. Grant. 1996. Evolutionary significance of local genetic differentiation in plant populations. *Annual Review of Ecology and Systematics* 15: 65-95.
- Loveless, M.D. y J.I. Hamrick. 1984. Ecological determinant of genetic structure in plant population. *Annual Review of Ecology and Systematics* 15:65-95.
- Loveless, M.D. y J.I. Hamrick. 1984 Distribución de la variación en especies de árboles tropicales. *Rev. Bio. Trop., (Supl.1): 165:175.*
- Luijten, S.H., Marckkéry, J.G. B. Oostermeijer y H.J. Den Nijs. 2002. Demographics consequences of inbreedings and outbreeding in *Arnica montana*: a field experiment. *Journal of Ecology* 90: 593-603.
- Lynch, M. 1996. A quantitative-genetic perspective on conservation issues. En: J.C. Avise y J.L. Hamrick (eds), *Conservation genetics: case histories from nature*, 471-482. Chapman and Hall, N.Y. E.U.
- Lynch, M., M. Pfrender, K. Spitze, N. Lehman, J. Hicks, D. Allen, L. Latta M. Ottene, F. Bogue y J. Colbourne. 1999. The quantitative and molecular genetic architecture of a subdivided species. *Evolution* 53: 10-110.
- Matson, R.H. 1984. Applications of electrophoretic data in avian systematics. *Auk* 101: 717-729.
- Meave, J., J. Carabias, V. Arriaga y A. Valiente-Banuet. 1994. Observaciones fenológicas en el Pedregal de San Ángel. Pp. 91-105. En Rojo, A. (comp.). *Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel: Ecología, Historia Natural y Manejo*. UNAM, México.
- Miller, M.P. 1997. Tools for population genetic analysis (TFPGA) 1.3: Windows program for the analysis of allozyme and molecular population genetic data. Software distributed by author.

- Morales E. 1996. El método comparativo en los estudios de evolución de historias de vida: un ejemplo con el género *Tithonia* (Asteraceae). Tesis doctoral. UNAM. México.
- Morales E. 2001. The comparative method and traits evolution in the Asteraceae. En *Compositae Newsletter* 36: 14-26.
- Neel, M.C. y N.C. Ellstrand. 2001. Patterns of allozyme diversity in the threatened plant *Erigeron parishii* (Asteraceae). *American Journal of Botany* 88 (5):810-818.
- Nei, M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics* 89: 583-590.
- Nordenstam, B. 1977. Senecioneae and Liedeae-sytematic review. Pag 799-830. En Heywood, V.H., J.B. Harborne y B.L. Turner (eds). *The Biology and Chemistry of the Compositae*. Vol II. Academic Press London.
- Olensen, J.M. y S.K. Jain. 1994. Fragmented plant populations and their lost interactions. E: Conservation genetics. Loessche, V., J. Tomik y K. Jain (eds). Pag. 417-426. Birkhauser Velag. Basel. Switzerland.
- Oostermeijer, J.G.B., M.W. Van Eijck y J.C.M. Den Nijs. 1994. Analysis of the relationship between allozyme heterozygosity and fitness in the rare *Gentiana pneumonanthe* L. *Oecologia* 97: 289-296.
- Paray, L. 1956. El género *Eupatorium* en el Valle Central de México. *Boletín de la Sociedad Botánica de México* 9: 1-15.
- Pérez-Nasser, N., L.E. Eguiarte y D. Piñero. 1993. Mating systems and genetic structure of the distylous tropical tree *Psychotria faxlucens* (Rubiaceae). *American Journal of Botany* 80(1):45-52.
- Robinson, H. Y RM. King. 1977. *Eupatorieae* systematic review. Pag. En Heywood, V.H., J.B. Harborne y B.L. Turner (eds). *The Biology and Chemistry of the Compositae*. Vol I 437-485. Academic Press London.

- Rzedowski, J. 1954. Vegetación del Pedregal de San Ángel. *Anales de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. IPN. México D.F.* 8: 59-129.
- Rzedowski, J y G.C. Rzedowski. 1985. *Flora Fanerogámica del Valle de México*. Vol II. Instituto de Ecología y E.N.C.B. México.
- Rzedowski, J. 1991. Diversidad y orígenes de la flora fanerogámica de México. *Acta Botánica Mexicana* 15:47-64.
- Sánchez, S.O. 1980. *La Flora del Valle de México*. Herrero, México. 519 p.
- Slatkin, M. 1980. The distribution of mutant alleles in a subdivided population. *Genetics* 95: 503-523.
- Slatkin, M. 1985. Rare alleles as indicators of gene flow. *Evolution* 39(1): 53-65
- Slatkin, M. 1994. Gene Flow and Population Structure. En: L.A. Real (ed) *Ecological Genetics*. Princeton University Press. Princeton, N.J.
- Slatkin, M. Y N. Barton. 1989. A comparison of three indirect methods for estimating average levels of gene flow. *Evolution* 43: 1349-1368.
- Soberón, J.M., M. De la Cruz y G. Jiménez. 1991. Ecología hipotética de la Reserva del Pedregal de San Ángel. *Ciencia y Desarrollo* 17: 25-38.
- Soltis, D.E., C.H. Haufler, D.C. Darrow y G.J. Gastony. 1983. Starch gel electrophoresis in ferns: a compilation of grinding buffers gel and electrode buffers and staining schedules. *American Fern Journal* 73: 9-27.
- Storfer, A. 1996. Quantitative genetics: a promising approach for the assessment of genetic variation in endangered species. *Trends in Ecology and Evolution* 11: 343-348.
- Stork, N.E. 1994. Inventories of biodiversity: more than a question of numbers. En P.L. Forey, C.J. Humphries y R.I. Vane-Wright (eds) *Systematics and Conservation evaluation*, 81-100 Clarendon Press, Oxford. U.K.

- Stuessy, T. 1977. Heliantheae-systematics review. Pag. 621- 671. En Heywood, V.H., J.B. Harborne y B.L. Turner (eds). *The Biology and Chemistry of the Compositae*. Vol I. Academic Press London.
- Strother, T. 1977. Tageteae-sytematic review. Pag. 769-797. En Heywood, V.H., J.B. Harborne y B.L. Turner (eds). *The Biology and Chemistry of the Compositae*. Vol I. Academic Press London.
- Thébaud, C. Y R.J. Abbott. 1995. Characterization of invasive *Conyza* species (Asteraceae)in Europe: Quantitative trait and isozyme analysis. *American Journal of Botany* 82 (3): 360-368.
- Templeton, A.R, K. Shaw, E. Routman y S.K. Davis. 1990. The genetic consequences of habitat fragmentation. *Annual of the Missouri Botanical Garden* 77: 13-27.
- Templeton, A.R.,R.J. Robertson, J. Brisson y J. Strasburg. 2001. Disrupting evolutionary process: The effect of habitat fragmentation on collared lizards in the Missouri Ozarks. *Proceedings of the National Academy of Sciencies* 98(10): 5426-5432.
- Torrel, M., M. Bosch, J. Martín y J. Válles. 1999. Cytogenetic and isozymic characterization of the narrow endemic species *Artemisa molinieri* (Asteraceae, Anthemideae): implications for its systematics and conservation. *Canadian Journal of Botany* 77: 51-60.
- Turner, B.L. y G.L. Nesom. 1993. Biogeography, diversity and endangered or threatened status of Mexican Asteraceae. En T.P. Ramamoorthy, R. Bye, A. Lot y J. Fa (eds) *Biological diversity in México: origins and distribution*. Oxford University Press, N.Y.
- Valiente-Banuet A. y De Luna E. 1990. Una lista florística para la Reserva del pedregal de San Ángel. *Acta Botánica Mexicana* 9:13-30.
- Vankat, J.L., J. Wu y S.A. Foré. 1991. Old-growth by design: applying the concepts of landscape ecology. E D. Henderson y L.D. Hedrick (eds). *Restoration of old growth forests in the Interior Highlands of Arkansas and Oklahoma*. Pag. 153-

170. Ouachita National Forest and Winrock International Institute for Agricultural Development. A.R.
- Villaseñor, J.L., G. Ibarra y D. Ocaña. 1997. Strategies for the Conservation of Asteraceae in Mexico. *Conservation Biology* 12(5): 1066-1075.
- Wendel, J.F. y N.F. Weeden. 1989. Visualization and Interpretation of Plant Isozymes in *Plant Biology*. Discorides Press. Portland, Oregon; pp.5-45.
- Weir, B.S. 1990. *Genetical Analysis*. Sinauer. Ass. Sunderland. M.A.
- Weir, B.S. y C.C. Cokerham. 1984. Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution* 38(6): 1358-1370.
- Workman, P.L. y J.D. Niswander. 1970. Populations Studies on Southwestern Indian Tribes II. Local genetic Differentiation in the Papago. *American Journal of Human Genetics* 22: 24-29.
- Wright, S. 1946. Isolation by distance under diverse systems of mating. *Genetics* 31: 39-59.
- Wright, S. 1951. The genetical structure of populations. *Annals of Eugenics* 15: 97-159.
- Wright, S. 1978. *Evolution and the genetics of populations*. Vol. 4. Variability within and among natural populations. University of Chicago Press. Chicago. EUA.
- Young, A., T. Boyle y T. Brown. 1996. The population genetic consequences of habitat fragmentation for plants. *Trends in Ecology and Evolution* 11(10):413-419.
- Young, A.G., H.G. Merriam y S.I. Warwick. 1993. The effects of forest fragmentation on genetic variation in *Acer saccharum* Marsh, (sugar maple) populations. *Heredity* 71: 277-289.
- Young, A.G., A.D.H. Brown, B.G. Murray y C.H. Miller. 2000. Genetic erosion, restricted mating and reduced viability in fragmented population of the endangered grassland herb *Rutidosis leptorhynchoides*. En Young, A.G. y G. M. Clarke (eds)

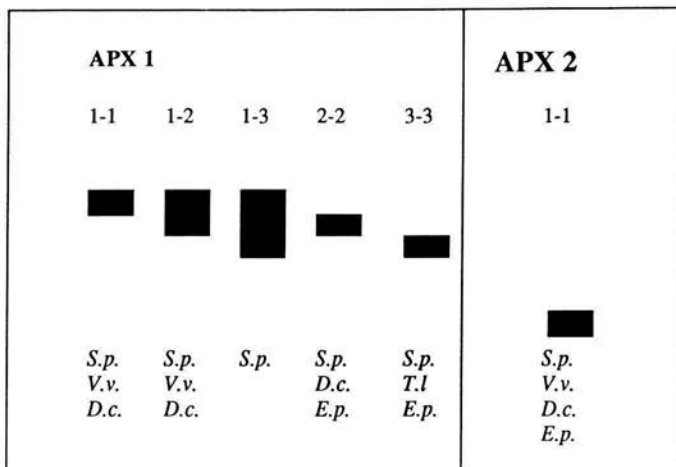
Genetics, Demography and Viability of Fragmented Populations. Vol. 4 Pp: 335-359. Cambridge University Press. Cambridge.

Apéndice 1 . Enzimas que mostraron actividad para alguna(s) de las especies de estudio.

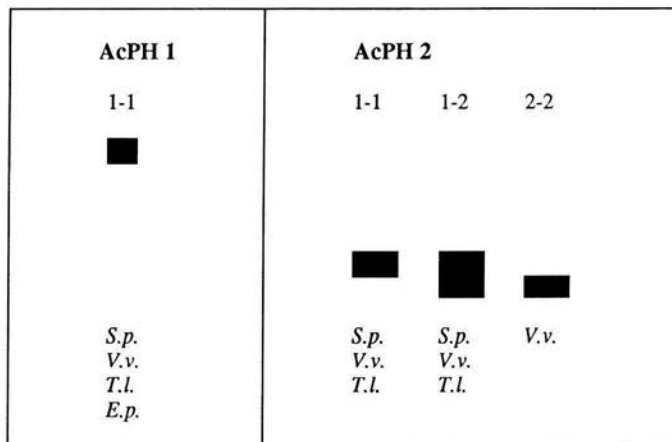
ENZIMA	INIC.	No. E.C.	ESTRUCTURA CUATERNARIA	SIST.	ACTIVIDAD (No.LOCI)
* Fosfatasa ácida	AcPH	3.2.3.2	Monómero-dímero	*PK, C, MC	S.p.,(3) V.v.(1), E.p.(1), T.l.(1)
Aconitasa	ACO	4.2.1.3	Monómero	PK	D.c.(1), E.p.(1)
* Alcohol deshidrogenasa	ADH	1.1.1.1	Dímero	*II, D	S.p.,(1) V.v.(1), E.p.(1), D.c.(1)
*Peroxidasa anódica	APX	1.11.1.7	Monómero-dímero	*D, PK, C, II, MC	S.p.,(2) V.v.(2), E.p.(2), D.c.(2), T.l.(1)
* Aspartato animotransferasa	GOT	2.6.1.1	Dímero	*PK, C	S.p.,(3) V.v.(2), D.c.(2), T.l.(1) E.p.(1)
Esterasa	EST	3.1.1.-	Monómero-dímero	PK, C	V.v.(2), D.c.(1)
* Glutamato deshidrogenasa	GDH	1.4.1.2	Tetrámero-dímero	*II, D	S.p.,(1) V.v.(1), D.c.(1), T.l.(1) E.p.(1)
* Leucinaminopeptidasa	LAP	3.4.11.1	Monómero	*PK, C,	S.p.,(1) V.v.(1), E.p.(1), D.c.(1), T.l.(1)
Malato deshidrogenasa	MDH	1.1.1.37	Dímero	II, D, MC	S.p.,(2), V.v.(2), D.c.(1)
* Enzima málica	ME	1.1.1.40	Tetrámero	*D, II	S.p.,(1) V.v.(1), D.c.(1), T.l.(1) E.p.(1)
* Menadion reductasa	MNR	1.6.99.2		PK, II, D	V.v.(1)
* Nicotinamin-adenin-dinucleotido deshidrogenasa	NADHDH	1.6.99.3		*II	S.p.,(3) V.v.(2), D.c.(2), T.l.(1) E.p.(1)
Fosfato de nicotinamida adenina dinucleotido deshidrogenasa	NADPHDH	1.6.99.1		*II	S.p.,(1) V.v.(1), D.c.(1), T.l.(1) E.p.(1)
Fosfoglucosa isomerasa	PGI	5.3.1.9	Dímero	C, PK	V.v.(1)

* Enzimas y sistemas utilizados en este trabajo

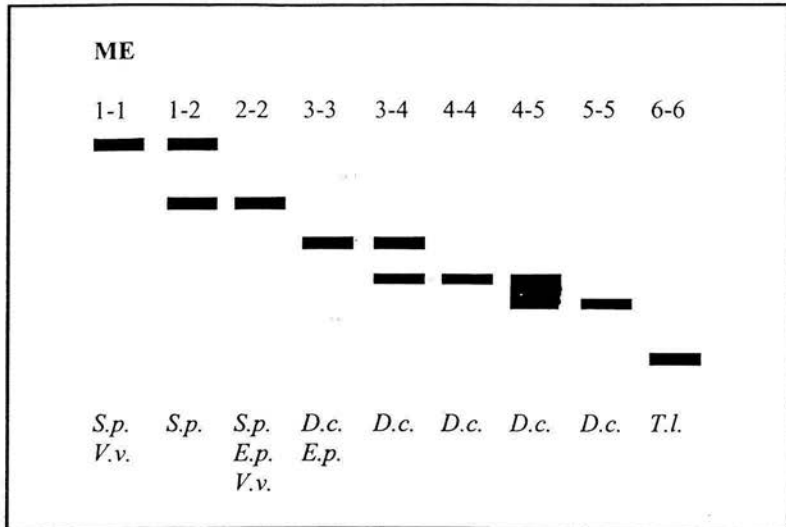
Apéndice 2. Patrones de bandeo observados para cada una de las especies estudiadas



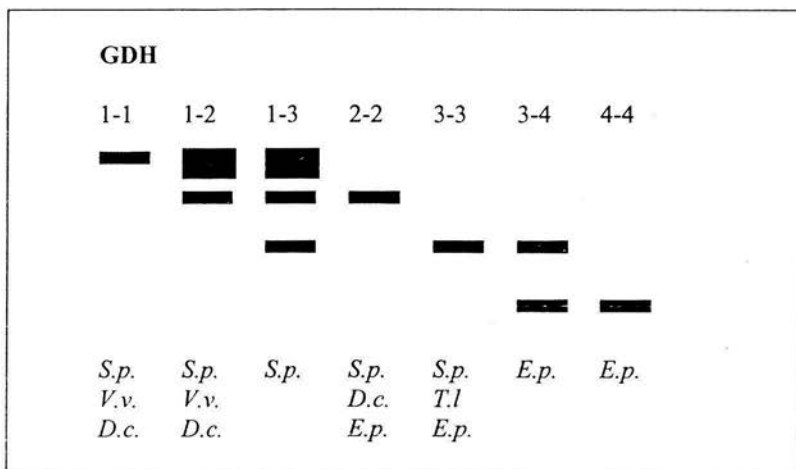
Patrón de bandeo observado para la enzima Peroxidasa Anódica (APX)



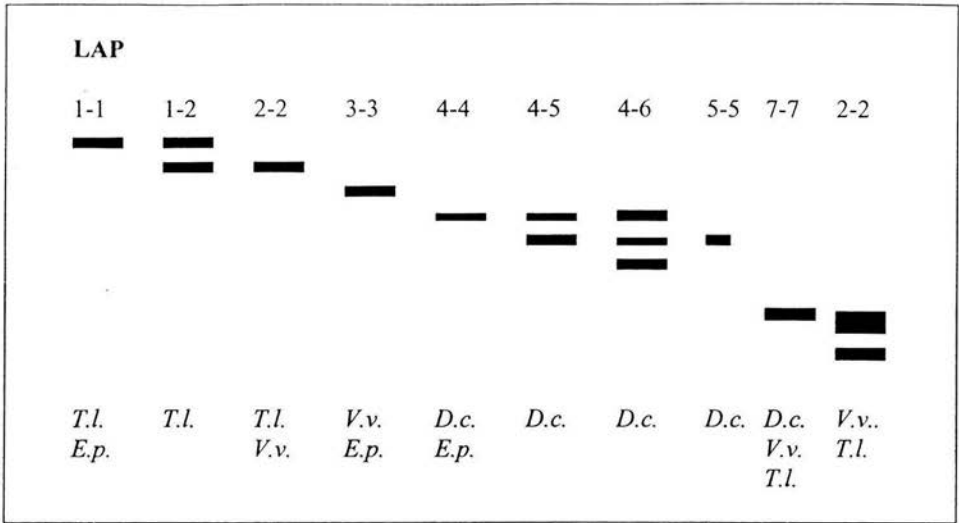
Patrón de bandeo observado para la enzima Fosfatasa Ácida (AcPH)



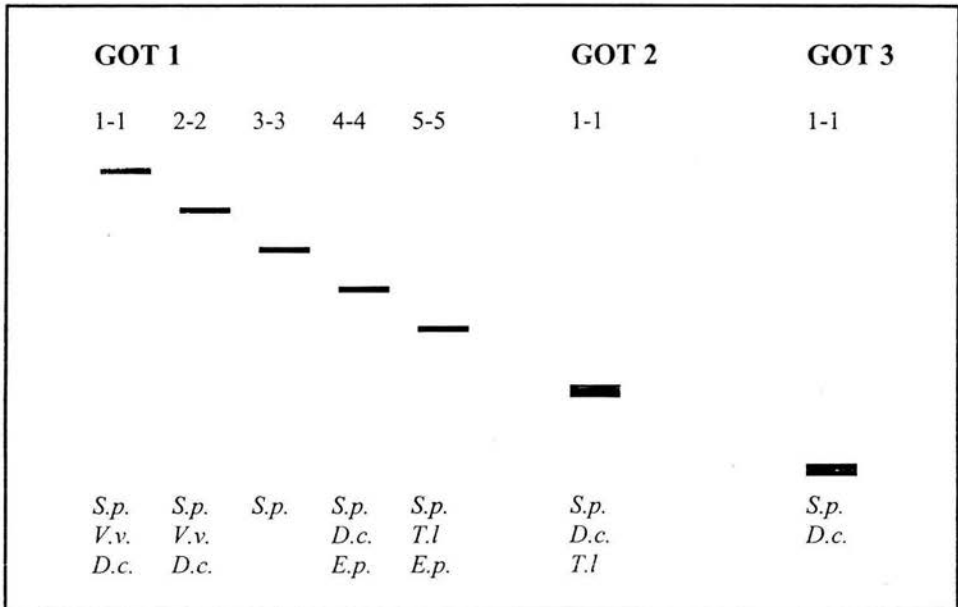
Patrón de bandeado observado para la Enzima Málica (ME)



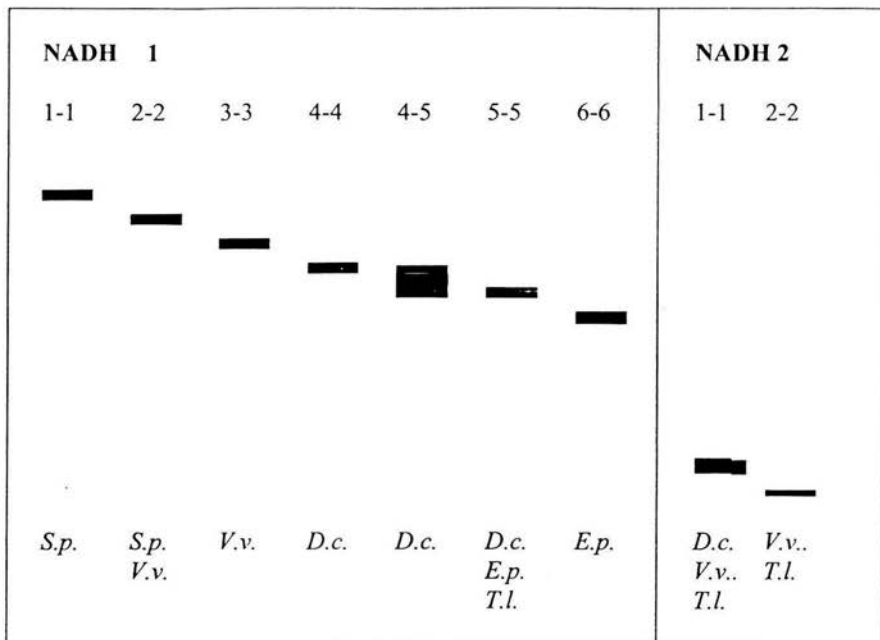
Patrón de bandeado observado para la enzima Glutamato Deshidrogenasa (GDH)



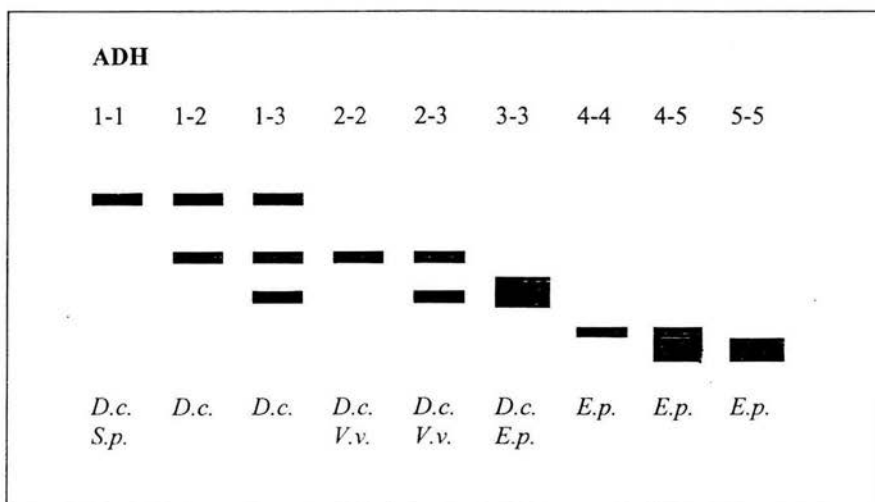
Patrón de bandeo observado para la enzima Leucin-amino Peptidasa (LAP)



Patrón de bandeo observado para la enzima Aspartato Amino Transferasa (GOT)



Patrón de bandeo observado para la enzima Nicotinamín-adenin dinucleótido Deshidrogenasa (NADH)



Patrón de bandeo observado para la enzima Alcohol Deshidrogenasa (ADH)

Apéndice 3. Frecuencias alélicas.

LOCUS	<i>Senecio praecox</i>		<i>Verbesina virgata</i>		<i>Eupatorium petiolare</i>		<i>Dahlia coccinea</i>		<i>Tagetes lunulata</i>		
	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	
ADH	1	1.000	1.000	---	---	---	---	0.400	0.567	---	---
	2	---	---	1.000	0.933	---	---	0.117	0.067	---	---
	3	---	---	0.000	0.067	0.033	0.000	0.483	0.367	---	---
	4	---	---	---	---	0.250	0.100	---	---	---	---
	5	---	---	---	---	0.717	0.900	---	---	---	---
GDH	1	0.600	0.283	0.900	0.067	---	---	0.083	---	---	---
	2	0.400	0.333	0.100	0.933	---	---	0.917	0.933	---	---
	3	0.000	0.383	---	---	0.033	0.167	---	0.067	1.000	1.000
	4	---	---	---	---	0.967	0.833	---	---	---	---
ME	1	1.000	0.833	0.833	1.000	---	---	---	---	---	---
	2	0.000	0.166	0.167	0.000	0.000	0.133	---	---	---	---
	3	---	---	---	---	1.000	0.867	0.383	0.683	---	---
	4	---	---	---	---	---	---	0.333	0.032	---	---
	5	---	---	---	---	---	---	0.283	0.000	---	---
	6	---	---	---	---	---	---	---	---	1.000	1.000
LAP	1	---	---	---	---	0.033	0.000	---	---	1.000	0.883
	2	---	---	0.033	0.000	0.000	0.133	---	---	0.000	0.117
	3	---	---	0.967	1.000	0.967	0.867	---	---	---	---
	4	---	---	---	---	---	---	0.600	0.967	---	---
	5	---	---	---	---	---	---	0.250	0.033	---	---
	6	---	---	---	---	---	---	0.150	0.000	---	---
	7	0.917	0.967	---	---	---	---	---	---	---	---
	8	0.083	0.033	---	---	---	---	---	---	---	---
APX	1	0.083	0.000	0.967	1.000	1.000	1.000	0.667	0.800	1.000	1.000
	2	0.917	1.000	0.033	0.000	0.000	0.000	---	---	---	---
	3	---	---	---	---	---	---	0.333	0.200	---	---
AcPH 2	1	0.917	1.000	0.750	1.000	---	---	---	---	1.000	0.967
	2	0.083	0.000	0.250	0.000	---	---	---	---	0.000	0.033
GOT 1	1	0.033	0.000	---	---	---	---	---	---	---	---
	2	0.967	1.000	---	---	---	---	---	---	---	---
	3	---	---	1.000	1.000	1.000	1.000	---	---	---	---
	4	---	---	---	---	---	---	1.000	0.933	1.000	1.000
	5	---	---	---	---	---	---	0.000	0.067	---	---
NADH 1	1	0.033	0.000	---	---	---	---	---	---	---	---
	2	0.967	1.000	0.033	0.033	---	---	---	---	---	---
	3	---	---	0.967	0.967	---	---	---	---	---	---
	4	---	---	---	---	---	---	0.733	1.000	0.033	1.000
	5	---	---	---	---	1.000	0.200	0.267	0.000	0.967	0.000
	6	---	---	---	---	0.000	0.800	---	---	---	---
NADH 2	1	---	---	0.100	1.000	---	---	1.000	1.000	0.067	0.000
	2	---	---	0.900	0.000	---	---	0.000	0.000	0.933	1.000
% LOCI POLIMÓRFICOS											
CRITERIO 99 %	0.750	0.375	0.777	0.333	0.375	0.625	0.666	0.666	0.666	0.222	0.222
CRITERIO 95 %	0.500	0.250	0.555	0.222	0.125	0.625	0.666	0.555	0.555	0.111	0.111

Apéndice 4. Heterosis observadas (H obs) y esperadas (H esp) para cada loci.

LOCUS	<i>Senecio praecox</i>		<i>Verbesina virgata</i>		<i>Eupatorium petiolare</i>		<i>Dahlia coccinea</i>		<i>Tagetes lunulata</i>	
	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
ADH										
H obs	0.000	0.000	0.000	0.133	0.667	0.000	0.233	0.067	---	---
H esp	0.000	0.000	0.000	0.126	0.430	0.186	0.603	0.549	---	---
GDH										
H obs	0.000	0.033	0.000	0.000	0.067	0.000	0.167	0.000	0.000	0.000
H esp	0.488	0.673	0.183	0.127	0.066	0.283	0.155	0.127	0.000	0.000
ME										
H obs	0.000	0.333	0.000	0.000	0.000	0.000	0.267	0.367	0.000	0.000
H esp	0.000	0.283	0.283	0.000	0.000	0.235	0.673	0.440	0.000	0.000
LAP										
H obs	0.167	0.067	0.000	0.000	0.000	0.000	0.467	0.067	0.000	0.033
H esp	0.155	0.066	0.066	0.000	0.066	0.235	0.564	0.066	0.000	0.209
APX										
H obs	0.167	0.000	0.067	0.000	0.000	0.000	0.000	0.200	0.000	0.000
H esp	0.155	0.000	0.064	0.000	0.000	0.000	0.452	0.325	0.000	0.000
AcPH										
H obs	0.167	0.000	0.100	0.000	---	---	---	---	0.000	0.067
H esp	0.155	0.000	0.381	0.000	---	---	---	---	0.000	0.066
GOT										
H obs	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
H esp	0.066	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.127	0.000	0.000
NADHDH 1										
H obs	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
H esp	0.066	0.000	0.066	0.066	0.000	0.325	0.398	0.000	0.000	0.000
NADHDH 2										
H obs	---	---	0.000	0.000	---	---	0.000	0.000	0.000	0.000
H esp	---	---	0.000	0.000	---	---	0.000	0.000	0.1266	0.000
PROMEDIOS										
H obs	0.0557	0.0481	0.0186	0.0148	0.0816	0.0000	0.1260	0.0779	0.0000	0.0111
H esp	0.1206	0.1136	0.1159	0.0510	0.0624	0.1404	0.3161	0.1816	0.0141	0.0306

Las frecuencias que no presentan desviaciones significativas al equilibrio Hardy-Weinberg ($p > 0.05$) se incluyen en un rectángulo □

Apéndice 5. Genotipos observados y esperados por locus y por especie.

Eupatorium petiolare. Prueba de X^2 para la desviación del equilibrio Hardy-Weinberg

LOCUS	CLASE	SITIO A		SITIO B		A+B	
		OBS	ESP	OBS	ESP	OBS	ESP
ADH	3 3	1	0.0333			1	0.0167
	3 4	0	0.5000			0	0.3500
	3 5	0	1.4333			0	1.6167
	4 4	5	1.8750	3	0.3000	8	1.8375
	4 5	5	10.7500	0	5.4000	5	16.9750
	5 5	19	15.4083	27	24.3000	46	39.2042
X^2		39.0878		30		90.2765	
g.l.		3		1		3	
p		0.0000		0.0000		0.0000	
GDH	3 3	0	0.0333	6	1.2000	6	0.8167
	3 4	2	1.9333	0	9.6000	2	12.3667
	4 4	28	28.0333	24	19.2000	52	46.8167
X^2		0.0357		30		42.1623	
g.l.		1		1		1	
p		0.8502		0.0000		0.0000	
ME	2 2			5	0.8333	5	0.4167
	2 3			0	8.3330	0	9.1667
	3 3	30		25	20.8333	55	50.4167
X^2				30		60	
g.l.				1		1	
p				0.0000		0.0000	
LAP	1 1	29	28.0333			39	25.3500
	1 2	0	1.9333			0	26.0000
	1 3	1	0.0333			0	1.3000
	2 2			10	3.3333	20	6.6667
	2 3			0	13.3333	0	0.6670
	3 3			20	13.3333	1	0.0167
X^2		30		30		120	
g.l.		1.0000		1		3	
p		0.0000		0.0000		0.0000	
NADH1	5 5	30		24	19.2000	54	48.6
	5 6			0	9.6000	0	10.8
	6 6			6	1.2000	6	0.6
X^2				30		60	
g.l.				1		1	
p				0.0000		0.0000	

Senecio praecox. Prueba de χ^2 para la desviación del equilibrio Hardy-Weinberg

LOCUS	CLASE	SITIO A		SITIO B		A+B	
		OBS	ESP	OBS	ESP	OBS	ESP
GDH	1 1	18	10.8	8	2.4083	26	11.7012
	1 2	0	14.2	0	5.6667	0	19.4333
	1 3			1	6.5167	1	10.1583
	2 2	12	4.8	10	3.3333	22	8.0667
	2 3			0	7.6667	0	8.4333
	3 3			11	4.4083	11	2.0420
X²I		30		54.176		112.75	
g.l.		1		3		3	
p		0.0000		0.0000		0.0000	
ME	1 1	30		20	20.8333	53	53.2042
	1 2			10	8.3333	7	6.5917
	2 2			0	0.8333	0	0.2042
X²				0.0357		0.2302	
g.l.				1		1	
p				0.8502		0.6313	
LAP	7 7	25	25.2083	28	28.0333	53	53.2042
	7 8	5	4.5833	2	1.9333	7	6.5917
	8 8	0	0.2083	0	0.0333	0	0.2042
X²		0.2479		0.0357		0.2302	
g.l.		1		1		1	
p		0.6185		0.8502		0.3613	
APX	1 1	0	0.2083	30		0	0.1042
	1 2	5	4.5833			5	4.7917
	2 2	25	25.2083			55	55.1042
X²		0.2479				0.1134	
g.l.		1				1	
p		0.6185				0.7363	
AcPH	1 1	25	25.2083	30		55	55.1042
	1 2	5	4.5833			5	4.7917
	2 2	0	0.2083			0	0.1042
X²		0.2479				0.1134	
g.l.		1				1	
p		0.6185				0.7363	
GOT	1 1	1	0.0333	30		1	0.0167
	1 2	0	1.9333			0	1.9667
	2 2	29	28.0333			59	58.0167
X²		30				60	
g.l.		1				1	
p		0.0000				0.0000	
NADHI	1 1	1	0.0333	30		1	0.0167
	1 2	0	1.9333			0	1.9667
	2 2	29	28.0333			59	58.0167
X²		30				60	
g.l.		1				1	
p		0.0000				0.0000	

Verbesina virgata Prueba de X^2 para la desviación del equilibrio Hardy-Weinberg

		SITIO A		SITIO B		A+B	
LOCUS	CLASE	OBS	ESP	OBS	ESP	OBS	ESP
ADH	2 2	30		26	26.1333	56	56.0667
	2 3			4	3.7333	4	3.8667
	3 3			0	0.1333	0	0.0667
X^2				0.1531		0.0713	
g.l.				1		1	
p				0.6956		0.7894	
GDH	1 1	27	24.3000	2	0.1333	29	29.9667
	1 2	0	5.4000	0	3.7333	0	14.0666
	2 2	3	0.3000	28	26.1333	31	16.0167
X^2		30		30		60	
g.l.		1		1		1	
p		0.0000		0.0000		0.0000	
ME	1 1	25	20.8333	30		55	50.4167
	1 2	0	8.3333			0	9.1667
	2 2	5	0.8333			5	0.4167
X^2		30				60	
g.l.		1				1	
p		0.0000				0.0000	
LAP	2 2	29	28.0333			59	58.067
	2 3	0	1.9333			0	1.9667
	3 3	1	0.0333	30		1	0.0167
X^2		30				60	
g.l.		1				1	
p		0.0000				0.0000	
APX	1 1	28	28.0333	30		58	58.0167
	1 2	2	1.9333			2	1.9667
	2 2	0	0.0333			0	0.0167
X^2		0.0357				0.0172	
g.l.		1				1	
p		0.8505				0.9652	
AcPH	1 1	21	16.875	30		51	45.9375
	1 2	3	11.250			3	13.125
	2 2	6	1.875			6	0.9375
X^2		16.1333				35.7061	
g.l.		1				1	
p		0.0001				0.0000	
NADH1	2 2	29	28.0333	29	28.0333	58	56.0667
	2 3	0	1.9333	0	1.9333	0	3.8667
	3 3	1	0.0333	1	0.0333	2	0.0667
X^2		30		30		60	
g.l.		1		1		1	
p		0.0000		0.0000		0.0000	
NADH 2	1 1	3	0.3	30		3	0.1500
	1 2	0	5.4			0	5.7000
	2 2	27	24.3			57	54.150
X^2		30				60	
g.l.		1				1	
p		0.0000				0.0000	

Dahlia coccinea. Prueba de X^2 para la desviación del equilibrio Hardy-Weinberg

LOCUS	CLASE	SITIO A		SITIO B		A+B	
		OBS	ESP	OBS	ESP	OBS	ESP
ADH	1 1	9	4.8000	16	9.6333	25	14.0167
	1 2	0	2.8000	0	2.2667	0	5.3167
	1 3	6	11.6000	2	12.4667	8	24.6500
	2 2	3	0.4083	2	0.1333	5	0.5042
	2 3	1	3.3833	0	1.4667	1	4.6750
	3 3	11	7.0083	10	4.0333	21	10.8375
X²		29.58		51.6886		77.6788	
g.l.		3		3		3	
p		0.0000		0.0000		0.0000	
GDH	1 1	0	0.2083			0	0.1042
	1 2	5	4.5833			5	4.6250
	1 3					0	0.1667
	2 2	25	25.2083	28	26.1333	53	51.3375
	2 3			0	3.7333	0	3.7000
	3 3			2	0.1333	2	0.6670
X²		0.2479		30		60.1217	
g.l.		1		1		3	
p		0.6185		0.0000		0.0000	
ME	3 3	11	4.4083	14	13.3333	25	16.5375
	3 4	0	7.2833	12	13.3333	12	20.4750
	3 5	1	6.9000			1	9.4500
	4 4	6	3.0830	4	3.3333	10	6.3375
	4 5	7	5.7000			7	5.8500
	5 5	5	2.7000			5	1.3500
X²		2704155		0.3		27.6054	
g.l.		3		1		3	
p		0.0000		0.5839		0.0000	
LAP	4 4	12	10.8000	28	28.0333	40	36.8167
	4 5	7	9.0000	0	9.6000	9	13.3167
	4 6	5	5.4000			5	7.0500
	5 5	3	1.8750	2	1.2000	3	1.2042
	5 6	2	2.2500			2	1.2750
	6 6	1	0.6750			1	0.3375
X²		1.4667		4.2188		6.6615	
g.l.		3		1		3	
p		0.69		0.04		0.0835	
APX	1 1	20	13.3333	21	19.2000	41	32.2667
	1 3	0	13.3333	6	9.6000	6	23.4667
	3 3	10	3.3333	3	1.2000	13	4.2667

	X²	30		4.2188		33.2406
	g.l.	1		1		1
	p	0.0000		0.04		0.0000
GOT	4 4	30		28	26.1333	58 56.0667
	4 5			0	3.7333	0 3.8667
	5 5			2	0.1333	2 0.0667
	X²			30		60
	g.l.			1		1
	p			0		0.0000
NADH1	4 4	22	16.8750	30		52 45.9375
	4 5	1	11.2500			1 13.1250
	5 5	7	1.8450			7 0.9375
	X²	27.9037				51.2054
	g.l.	1				1
	p	0.0000				0.0000

Tagetes lunulata. Prueba de X² para la desviación del equilibrio Hardy-Weinberg

LOCUS	CLASE	SITIO A		SITIO B		A+B	
		OBS	ESP	OBS	ESP	OBS	ESP
LAP	1 1	30		26	23.4083	56	53.2042
	1 2			1	6.1833	1	6.5917
	2 2			3	0.4083	3	0.2042
	X²			21.0811		43.1761	
	g.l.			1		1	
	p			0.0000		0.0000	
AcPH	1 1	30		28	28.0333	58	58.0167
	1 2			2	1.9333	2	1.9667
	2 2			0	0.0333	0	0.0167
	X²			0.0357		0.172	
	g.l.			1		1	
	p			0.8502		0.8955	
NADH 2	1 1	2	0.1333			2	0.0667
	1 2	0	3.7333			0	3.8667
	2 2	28	26.1333	30		58	56.0667
	X²	30				60	
	g.l.	1				1	
	p	0.0000				0.0000	

Apéndice 6. Valores promedio de variación genética (aloenzimas) interespecífica para varios atributos de historia de vida en angiospermas. Tomado de Hamrick & Godt, 1996

[N = número de especies, P_S = porcentaje de loci polimórficos entre especies, H_e = diversidad genética entre especies ($H_e = 1 - \sum p_i^2$), G_{ST} = proporción del total de la diversidad genética en los loci polimórficos entre poblaciones $G_{ST} = (H_T - H_S) / H_T$]

Variable	N	P_S	H_{es}	G_{ST}
Anual – Sistema de reproducción				
Entrecruzamiento	98	59.1	0.186	0.191
Rep. Mixta	29	40.3	0.115	0.343
Autofecundación	102	43.2	0.131	0.553
Perennes de vida corta				
Entrecruzamiento	140	43.7	0.123	0.218
Rep. Mixta	48	53.6	0.172	0.238
Autofecundación	32	29.9	0.081	0.442
Perennes de vida larga				
Entrecruzamiento	241	65.5	0.180	0.094
Rep. Mixta	24	42.5	0.135	0.145
Anual – Mecanismos de dispersión				
Attached	42	74.2	0.227	0.277
Gravedad	141	44.9	0.132	0.380
Ingestión	26	34.8	0.138	0.406
Viento	21	51.8	0.156	0.392
Perennes de vida corta				
Attached	26	55.7	0.165	0.230
Gravedad	144	48.8	0.133	0.233
Ingestión	21	38.3	0.128	0.321
Viento	43	40.7	0.100	0.266
Perennes de vida larga				
Attached	33	63.8	0.185	0.094
Gravedad	50	58.0	0.178	0.177
Ingestión	28	64.8	0.225	0.099
Viento	159	63.8	0.159	0.086
Familia				
Asteraceae	101	45.3	0.127	0.204
<i>Cucurbitaceae</i>	23	40.4	0.168	0.397
<i>Orchidaceae</i>	16	44.8	0.137	0.087
<i>Solanaceae</i>	23	32.0	0.094	0.426
<i>Poaceae</i>	91	62.7	0.201	0.284
<i>Pinaceae</i>	103	73.0	0.176	0.073

Apéndice 7

SITEMAS Y ENZIMAS

Buffer de extracción para *Abies*

(3/4 de buffer Yo y 1/4 de buffer VEG II)

BUFFER YO (Yen y O'Malley 1980)

*10 ml	solución Tris-ác.cítrico pH 7.0
0.05 g	NADP
0.05 g	NAD
0.018 g	ácido ascórbico
0.034 g	EDTA
0.10 g	albúmina bovina
0.33 ml	2-Mercaptoetanol

Aforar a 100 ml con agua destilada

* Solución Tris-ác.cítrico pH 7.0 (1.57g Trizma base, 0.83g ac. cítrico, aforar a 100ml)

BUFFER VEG II (Cheliak y Pitel 1984)

0.31 g	ácido bórico
2 ml	Tergitol 15-S-9
2 g	PEG 8000
7 g	PVP 40
1 g	PVP 360
0.88 g	Ácido ascórbico
0.02 g	NAD
0.1 g	albúmina bovina
0.27 g	sacarosa
0.19 g	cisteína-HCL
0.66 ml	2-Mercaptoetanol

Aforar a 100 ml con agua destilada y ajustar el pH a 7.1 con NaOH

SISTEMA "D" DE MAIZ (Struber et al. 1988)

BUFFER DE LA CHAROLA O ELECTRODO

0.065 M L-Histidina (H-8000) 10.088 g

0.007 M Ácido Cítrico Monohidratado 1.50 g

Llevar a 1 litro con H₂O destilada

Ajustar a pH 6.5 con ácido cítrico

Correr a 30 mA durante 6-7 hr.

BUFFER DEL GEL

1 Partes del Buffer del electrodo

3 Partes de H₂O destilada

Almidón al 9.5 % + 10 g de sacarosa

SISTEMA POULIK (Hakim-Elahi 1976)

BUFFER DE LA CHAROLA O ELECTRODO

Ácido bórico 18.55 g

NaOH 4 g

Llevar a 1 litro con H₂O destilada

Ajustar a pH 8.6 con 1M NaOH

Correr a 60 mA durante 4-5 hr.

BUFFER DEL GEL

Ácido Cítrico Monohidratado 0.63 g

Sigma 7-9 2 g

Llevar a 1 litro con H₂O destilada

Ajustar a pH 8.1 con 4M ácido cítrico

Almidón al 9.5 % + 10 g de sacarosa

SISTEMA II (Goodall y Stoddart 1989)

BUFFER DE LA CHAROLA O ELECTRODO

0.18 M Tris 21.798 g

0.004 M EDTA 1.488 g

Llevar a 1 litro con H₂O destilada

Ajustar a pH 8.6 con 1M NaOH

Correr a 45 mA durante 5-6 hr.

BUFFER DEL GEL

1 Partes del Buffer del electrodo

3 Partes de H₂O destilada

Almidón al 9.5 % + 10 g de sacarosa

ENZIMAS

(ADH) ALCOHOL DESHIDROGENASA E.C. 1.1.1.1

DPN 0.010 g

Añadir:

0.1 M Tris-HCl pH = 7.5 50 ml

Etanol 3 ml

MTT 1% 1.5 ml

PMS 1% 0.2 ml

Incubar en la obscuridad a 30° C

(GOT) GLUTAMATO OXALOACETATO TRANSAMINASA E.C. 2.6.1.1

Pyridoxal 5-fosfato 0.006 g

Fast Blue BB SALT 0.100 g

Añadir:

0.2 M Tris-HCl pH = 7.5 50 ml

Sustrato GOT pH = 7 7 ml

Incubar en la obscuridad a 37° C

(MDH) MALATO DESHIDROGENASA E.C. 1.1.1.37

DPN 0.008 g

NBT 0.008 g

NaCN 0.025 g

Añadir:

0.2 M Tris-HCl pH = 8.0 50 ml

1 M DL-Malato pH = 7.8 5 ml

PMS 1% 0.1 ml

Incubar en la obscuridad a T° ambiente

(LAP) LEUCINA AMINOPEPTIDASA

Fast Black K SALT 0.060 g

Añadir:

Buffer 0.2 M Tris-maleato pH = 5.2 50 ml

L-leucina b-naftilamida-HCl 2.5 % 2 ml

Incubar en la obscuridad a 37°C durante 30' y posteriormente añadir el Fast Black Salt disuelto en 10 ml de H₂O.

Incubar en la obscuridad a 37°C hasta que aparezcan las bandas,

(MNR) MENADION REDUCTASA E.C. 1.6.99.2

b-NADH (Forma reducida) 025 g

Menadione 0.025 g

Añadir:

0.05 M Tris - HCl pH= 7 50 ml

NBT 1 ml

Incubar en la obscuridad a T° ambiente

(NADHDH) NICOTINAMIN-ADENIN- DINUCLOTIDO DESHIDROGENASA E.C. 1.6.99.3

b-NADH (Forma reducida) 025 g

NBT 0.020 g

Añadir:

0.2 M Tris-HCl pH = 8.0 50 ml