



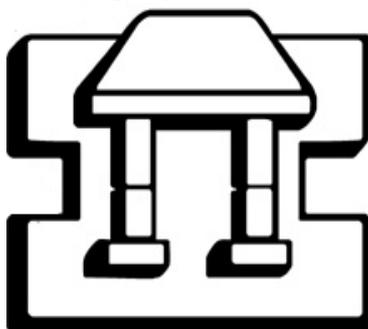
**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
IZTACALA**

**“ESTRUCTURA GENÉTICA POBLACIONAL DE  
*Tillandsia recurvata* L. (BROMELIACEAE) SOBRE  
SUS FOROFITOS *Prosopis laevigata* y *Parkinsonia  
praecox* EN EL VALLE DE ZAPOTITLÁN, PUEBLA”**

**T E S I S**  
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:  
**B I Ó L O G O**  
P R E S E N T A:  
**SANDRA JANET SOLÍS JERÓNIMO**

**DIRECTORA DE TESIS:  
DRA. SOFÍA SOLÓRZANO LUJANO  
Laboratorio de Bioquímica Molecular, UBIPRO, FES  
Iztacala UNAM.**



**LOS REYES IZTACALA, ESTADO DE MÉXICO,**

**2007**



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.

## DEDICATORIA

A mis padres:

Avelino Solís y Rosalba Jerónimo, por el apoyo, comprensión y esfuerzo que me brindaron para alcanzar una de las metas más importantes en mi vida.

A mis hermanos:

Ricardo, Juan Carlos y José Alberto, gracias por darme un gran ejemplo de vida, comprensión, protección y amistad.

A todos mis maestros, compañeros y a mis mejores amigos Víctor, Marcela, Ruth y Nancy.

## 9. AGRADECIMIENTOS ACADÉMICOS

Agradezco a los revisores de este trabajo: Dra. Sofía Solórzano Lujano, Dr. Jorge Eduardo Campos Contreras, M. en C. Ernesto Aguirre León, M. en C. María Elena Huidobro Salas y Dr. Sergio Cházaro Olvera.

Los fondos brindados por la FES Iztacala al personal del SNI (Sofía Solórzano) fueron utilizados para apoyar este proyecto.

Al macroproyecto Ecosistemas y Desarrollo Humano (Clave-UNAM-SDEI-PTII-02) coordinado por la Dra. Patricia Dávila Aranda, el cual apoyó en parte del trabajo de campo.

## ÍNDICE

1. RESUMEN	1
2. INTRODUCCIÓN	2
3. OBJETIVO	12
4. ÁREA DE ESTUDIO	13
5. MÉTODOS	15
5.1 Trabajo de Campo	15
5.1.1 Colecta de Muestras Biológicas	15
5.2 Trabajo de Laboratorio	15
5.2.1 Aislamiento de ADN genómico	15
5.2.2 Amplificación de regiones microsatélite	17
5.2.3 Análisis de Datos	20
6. RESULTADOS	22
7. DISCUSIÓN	26
8. CONCLUSIONES	30
9. AGRADECIMIENTOS	30
10. LITERATURA CITADA	31



## 1. RESUMEN

El género *Tillandsia* pertenece a la familia de las Bromeliáceas y comprende alrededor de 400 especies distribuidas desde el sur de los Estados Unidos de América hasta el norte de la Patagonia en Argentina (Claver *et al.*, 1983). La especie *Tillandsia recurvata* ha llamado la atención en los últimos años, debido al incremento de sus poblaciones y los daños estructurales causados a los sustratos sobre los cuales se desarrolla (Paez-Gerardo, 2005). En el Valle de Zapotitlán, Puebla, *T. recurvata* crece principalmente sobre *Prosopis laevigata* y *Parkinsonia praecox*, siendo en este último donde se observa una mayor abundancia de la epífita. Por lo tanto, en este trabajo se realizó un análisis genético que permitiera saber si el forofito influye en la estructura genética de *T. recurvata*, para ello se utilizaron marcadores moleculares microsatélites los cuales mostraron una alta diversidad genética con un valor promedio de heterocigosis ( $H = 0.40$ ) que corresponde a lo reportado para *Tillandsia fasciculata* y *Guzmania monostachya* (Boneh *et al.*, 2003). La diferenciación genética fue alta ( $F_{ST} = 0.4090$ ), lo cual nos indica que existe estructura genética entre las poblaciones. Por otra parte, la distancia genética fue alta y el nivel de flujo génico bajo ( $Nm = 0.3612$ ). Lo anterior nos indica que *T. recurvata* mostró diferencia entre las poblaciones colectadas en el Valle de Zapotitlán, Puebla. Y por lo tanto, los microsatélites son marcadores útiles para la búsqueda e identificación de regiones altamente variables en la epífita.



## 2. INTRODUCCIÓN

En los últimos años, ha surgido un interés creciente en el estudio de la diversidad biológica. Esta diversidad se distribuye en distintas proporciones a nivel mundial y sólo algunos países pueden considerarse ricos en diversidad biológica (Toledo, 1988; Villaseñor y Magaña, 2007). En América Latina, se ubican parte de las regiones llamadas megadiversas, una de ellas es México, que cuenta con una gran riqueza florística cercana a 30, 000 especies de plantas vasculares, Ecuador por su parte posee 15, 000 especies de plantas y la región tropical de los Andes que corresponde a Venezuela, Chile y Argentina, alberga en menos del 1% de su superficie el 20% de la vida vegetal del planeta (Costanza, 1997), por lo cual, de manera reciente se han planteado preguntas que permitan entender por qué existe y cómo se pierde dicha diversidad (Dirzo, 1990; Dirzo *et al.*, 2005). Para ello es importante tomar en cuenta que la diversidad biológica forma parte de un corto período de historia ecológica y un largo proceso evolutivo y dinámico que se manifiesta en la existencia de diferentes formas de vida, las cuales con base en procesos genéticos como la mutación y procesos evolutivos de selección determinan sus características, así como su capacidad de hacer frente a los cambios que se vayan generando en el ambiente y que se manifiestan en las repuestas morfológicas y fisiológicas, en las formas de desarrollo, en la demografía y en las historias de vida de las poblaciones (Halffter y Ezcurra, 1992).



## Estructura Genética en *Tillandsia recurvata*

---

Por lo tanto, la presencia de suficiente variación o diversidad a nivel genético le permitirá a las poblaciones de una especie determinada responder y adecuarse a los diferentes cambios que ya sea de manera natural o inducida se presenten en el medio (Smartt, 1995).

De manera reciente, han surgido diferentes formas de analizar las variaciones genéticas y los efectos de las mismas dentro y entre las poblaciones, a partir de un conjunto de herramientas moleculares que proporcionan información en cuanto a la cantidad y distribución de la variación genética, son los llamados marcadores moleculares que se desarrollaron a finales de la década de los 70's mediante el análisis de isoenzimas, sin embargo con los avances de la tecnología del ADN se han diseñado marcadores basados en la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) y la variación de ADN y ARN (Parker *et al.*, 1998). Actualmente se le ha otorgado relevancia a los marcadores de tipo microsatélite (Simple Sequence Repeats, SSR), los cuales se caracterizan por presentar un alto grado de polimorfismo y generar gran volumen de información debido al número y frecuencia de los alelos detectados, además presentan elevada repetibilidad. Por ello, es una herramienta muy utilizada en el mapeo genómico de algunos organismos, estudios forenses, monitoreo de diversidad genética en trabajos de genética de poblaciones y en la conservación y manejo de los recursos biológicos (Zane *et al.*, 2002).



## Estructura Genética en *Tillandsia recurvata*

---

También, generan información en cuanto a la estructura genética, que en el caso de las plantas está determinada por procesos genéticos, historia evolutiva, jerarquía de distribución, y el sistema biológico de las mismas. Por otra parte, el análisis de la variación genética permite establecer el origen del material genético de las especies y sus adaptaciones a los diferentes ambientes, a fin de conocer el estado en el que se encuentran las poblaciones y los posibles efectos que tengan algunas especies sobre otras para poder establecer estrategias de control y conservación de dicha diversidad biológica (Smartt, 1995).

Tomando en cuenta los datos de diversidad biológica ya mencionados, Coxson y Nadkarni (1995) proponen que del total de la diversidad biológica, el 30% corresponde a especies de plantas epífitas, las cuales tienen la capacidad de ser polinizadas por insectos, con ayuda de algunas aves, del viento e incluso autopolinizarse (Benzing, 1980). Las epífitas involucran el 10% de las especies vegetales vasculares incluyendo un número importante de helechos, así como las familias *Orchideaceae*, *Araceae*, *Gesneriaceae*, *Piperaceae*, *Ericaceae*, *Melostomataceae* y *Bromeliaceae*, entre las principales (Benzing, 1990). Estas familias han adquirido importancia económica, ornamental, en la elaboración de alimentos, artesanías, arreglos florales e incluso en la medicina debido a las propiedades antibacterianas encontradas en algunas especies (Quiroga *et al.*, 2004).



## Estructura Genética en *Tillandsia recurvata*

---

Además, son importantes desde el punto de vista ecológico ya que aportan un porcentaje importante de biomasa (5%) dentro de los ecosistemas y han desarrollado complejos mecanismos de subsistencia puesto que utilizan como soporte principal los doseles de los árboles (Benzing, 1980; Benzing, 1990). Debido a ésta asociación y a los daños encontrados en las estructuras de los árboles que funcionan como soporte, Mondragón et al. (2004) llamaron a las epifitas, parásitas mecánicas ó estructurales, aunque también consideran que pueden sobrevivir en sustratos muertos e inertes.

La relación que han establecido las epifitas con los árboles es común encontrarla en partes muy específicas del árbol, o bien pueden mostrar cierta preferencia sobre el sustrato (Coxson y Nadkarni, 1995). Este patrón de preferencia sobre los sustratos, se encuentra claramente representado en el género *Tillandsia* que cuenta con más de 500 especies por los que es el género más diverso de la familia de las bromelias (Bromeliaceae). Este género se distribuye en los desiertos, bosques y montañas de América Central, América del Sur, México y en el sur de los Estado Unidos en Norteamérica (Claver *et al.*, 1983). Una especie del género *Tillandsia* que ha adquirido relevancia por su asociación con especies arbóreas de importancia económica, es *Tillandsia recurvata* (Figura 1), conocida popularmente como Musgo Bola, clavel del aire y gallitos, entre otros.



## Estructura Genética en *Tillandsia recurvata*

---

Esta especie tradicionalmente se ha usado como planta medicinal, alimenticia y forrajera (SEMARNAT, 2002; Huidobro, 1988). *T. recurvata* presenta una amplia distribución latitudinal y altitudinal en América, abarcando desde el sureste de los Estados Unidos de América hasta el sur de Argentina y desde el nivel del mar hasta los 2700 msnm. El Musgo Bola, muestra gran tolerancia a los cambios ambientales y de vegetación (Aguilera, 1970; Smith *et al.*, 1986). Rzedowski (1978) asocia a *T. recurvata* a diversos tipos de vegetación entre los que destacan el bosque tropical caducifolio y el matorral xerófito. Este autor la considera como la única fanerógama de hábito epífita abundante en las zonas áridas de Puebla y Oaxaca.

*T. recurvata* se encuentra asociada a la denominada Tetechera (*Neobuxbaumia tetetzo*), que es un tipo de vegetación del Valle de Zapotitlán de las Salinas con elementos como, *Bursera aelogilum*, *Beaucarnea gracilis* (sotolín), *Fouquieria formosa* (Ocotillo), *Mimosa luisiana*, *Prosopis laevigata* (Mezquite) (Figura 2) y *Parkinsonia praecox* (Palo Verde) (Valiente-Banuet *et al.*, 2000).



Figura 1. *Tillandsia recurvata* creciendo sobre *Parkinsonia praecox* en el Valle de Zapotitlán, Puebla (Fotografía de Ma. Elena Huidobro Salas, 2007).

Esta epífita pertenece al grupo de las tillandsias grises, además de ser una epífita extrema, xerófita, pequeña y desarrolla un sistema de tricomas especializados para realizar la absorción de humedad y la protección de la planta a la radiación solar (Benzing, 1980; Benzing, 1990). *T. recurvata* exhibe fotosíntesis tipo CAM y sus raíces fibrosas funcionan para asegurar la fijación al sustrato, además que presenta una especial adaptación a los periodos prolongados de escasez de agua (Benzing, 1980; Benzing, 1990).



Figura 2. *Tillandsia recurvata* sobre las ramas de *Prosopis laevigata* uno de sus principales forofitos (sustratos) en San Luís Potosí, 2007 (Fotografía de Ernesto Aguirre León 2007).



## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Un estudio reciente desarrollado en el Valle de Zapotitlán, Puebla demostró que *T. recurvata* es una especie adaptable a condiciones de sequía diferencial, capaz de ajustar sus características morfológicas, funcionales y reproductivas (Benzing, 1990). En esta región, *T. recurvata* utiliza como forófitos (sustratos) principales al Mezquite y al Palo Verde. Sin embargo, en ésta última especie existe una alta densidad poblacional de la epífita ya que a diferencia del Mezquite presenta ramas lisas con gran cantidad de ceras en la corteza, que aunado al viento, el agua y la gravedad le permiten a la semilla fijarse y desarrollarse de manera idónea (Páez-Gerardo *et al.*, 2005).



## ANTECEDENTES

Se han realizado estudios genéticos con especies del género *Tillandsia* que han permitido conocer desde otra perspectiva el sistema biológico de éste género. Es el caso de González *et al.* (2004) quienes encontraron que la especie *T. achyrostachys* presenta una heterocigocis alta ( $H = 0.324$ ) así como un efecto de la endogamia sobre la especie y sugieren una diferenciación genética relativamente alta ( $F_{ST} = 0.391$ ).

También Soltis *et al.* (1987) realizaron estudios genéticos con las especies *T. ionantha* y *T. recurvata* a partir de electroforesis con enzimas y los resultados mostraron que *T. ionantha* es una especie en la que es más frecuente el entrecruzamiento al azar sobre la endogamia ( $F_{IS} = 0.056$ ) y por el contrario *T. recurvata*, resultó ser una especie endógama ( $F_{IS} = 1.000$ ). Soltis *et al.* (1987) atribuyen este comportamiento al alto nivel de autogamia en la especie *T. recurvata*.

También Govindaraju (1989) estudió diferentes especies que predominantemente se autopolinizan y encontró que en las bromelias no hay un nivel de flujo génico elevado ( $Nm$ ), sino valores moderados que oscilan entre 0.158 - 0.457.



## Estructura Genética en *Tillandsia recurvata*

Por otro lado, Boneh *et al.* (2003) estudiaron a las especies *T. fasciculata* y *Guzmania monostachya* y encontraron que es elemental el estudio de las epífitas en los bosques de montaña de América Central, ya que aparte de tener importancia económica, ornamental y medicinal, presentan cierta preferencia respecto a los sustratos arbóreos que las sostienen. Además, aportan una cantidad importante de biomasa al ecosistema y participan de manera sustancial en el ciclo de los nutrientes y en las interacciones planta-animal que se generan dentro de los bosques. Y consideran que la abundancia y diversidad de las epífitas *T. fasciculata* y *Guzmania monostachya* distinguen el bosque Neotropical maduro del bosque secundario y proponen que el desarrollo de marcadores polimórficos microsatélites permite obtener más información molecular de estudios poblacionales, sobre especialización ecológica, capacidad de colonización y la estructura genética de las especies epífitas. De manera general, se han realizado estudios genéticos con especies epífitas. En primera instancia Benzing (1980), obtuvo el número cromosómico de las bromelias y encontró que es elevado ( $n = 25$ ) a partir de un conteo de 83 cromosomas, mismos que registró para 73 taxa de la familia *Bromeliaceae*, por lo que el autor considera que se trata de una familia poliploide. Ackerman y Ward (1999), demostraron a través de isoenzimas el potencial evolutivo de la orquídea *Tolumnia variegata* en Puerto Rico, Costa Rica y Cuba, encontrando variaciones genéticas altas ( $H = 0.22$ ) con una diferenciación genética de  $F_{ST} = 0.060$ .



## Estructura Genética en *Tillandsia recurvata*

---

Ranker (1992) por su parte encontró que helechos del género *Adenophorus* y *Grammitis* poseen características genéticas similares a las halladas en algunas orquídeas ( $F_{ST} = 0.024$  y  $0.122, 0.124$ ).



## OBJETIVO, HIPÓTESIS Y JUSTIFICACIÓN

Es pertinente realizar un primer análisis a nivel genético que nos indique si efectivamente las poblaciones de *T. recurvata* que crecen sobre el Mezquite son diferentes de aquellas poblaciones que se desarrollan sobre el Palo Verde, bajo el supuesto de que en éste último la epífita ha desarrollado poblaciones tan abundantes como para generarle daños estructurales a dicho forofito (Páez-Gerardo *et al.*, 2005).

Los resultados de los diferentes estudios genéticos mencionados sugieren que las técnicas moleculares, particularmente la de microsatélites, son adecuadas para otras bromelias, por la amplia heterocigosis encontrada para las dos especies estudiadas. Aprovechando esta tecnología, en el presente trabajo se estableció como objetivo evaluar la estructura genética de *Tillandsia recurvata* sobre sus forofitos *Prosopis laevigata* y *Parkinsonia praecox* en el Valle de Zapotitlán, Puebla, con la finalidad de contrastar a los individuos que crecen en los dos diferentes sustratos.



#### 4. ÁREA DE ESTUDIO

El Valle de Zapotitlán de las Salinas se localiza en la porción occidental del Valle de Tehuacán–Cuicatlán, al sureste del Estado de Puebla y al noroeste de Oaxaca. Este valle pertenece a la provincia florística del Valle de Tehuacán–Cuicatlán (Rzedowski, 1978), en esta región los suelos son someros y pedregosos en la mayor parte del área, con diferentes niveles de alcalinidad y salinidad debido a la influencia de los diferentes substratos geológicos presentes en el sitio. Las principales tipos de suelo son: litosoles, cambisoles cálcicos y xerosoles cálcicos (García-Martínez, 2002). El Valle de Zapotitlán, tiene una superficie aproximada de 270 km<sup>2</sup> y se ubica entre los 18° 18.255' y 18° 24' de latitud norte y entre los 97° 43' y 97° 36' de longitud oeste (Figura 3) y una altitud que va de los 1, 460 a 2, 600 m snm (INEGI, 1984). El clima es seco semicálido, con lluvias de verano, oscilación térmica entre 5 y 7 °C, y la temperatura media fluctúa entre 17.6 y 23.7°C (García, 1973).

La comunidad vegetal dominante en el Valle de Zapotitlán es el matorral xerófilo, en el que predominan las tetecheras por la presencia de *Neobuxbaumia tetetzo*, complementado con otros elementos florísticos importantes tales como: *Prosopis laevigata*, *Bursera aelogyllum*, *Fouquieria formosa*, *Mimosa luisiana*, *Parkinsonia paraecox* y *Beaucarnea gracilis* (Valiente-Banuet y Arizmendi, 1998).

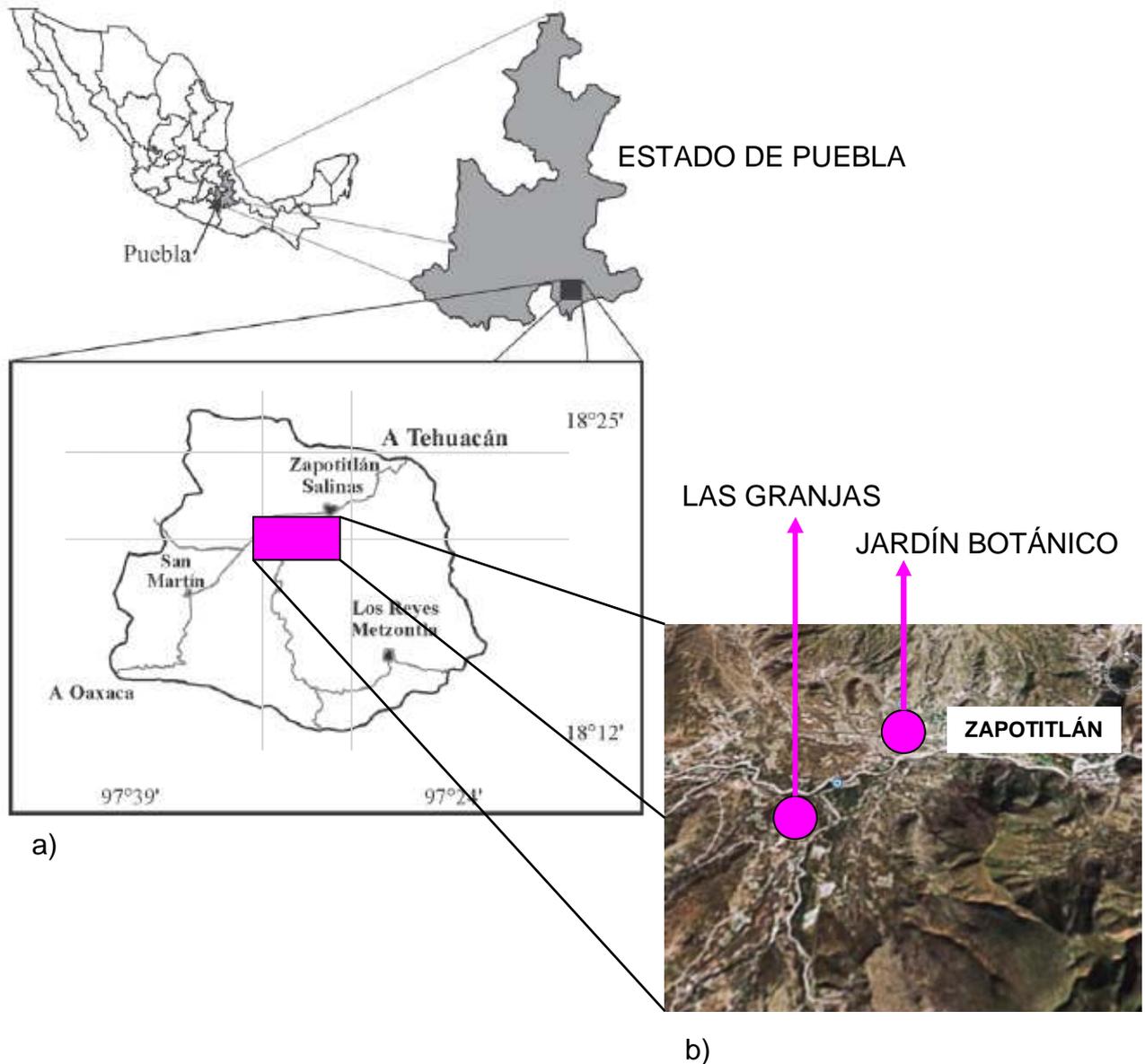


Figura 3. Ubicación en proyección del mapa de la cuenca de Zapotitlán de las Salinas, Puebla en el Valle de Tehuacán-Cuicatlán (a) (López *et al.*, 2003).

Ubicación geográfica de Las Granjas y el Jardín Botánico, los dos sitios de colecta de *T. recurvata* (b) (Fuente:

<http://google.earth.mx/puebla/Tehuacán/Zapotitlán>).



## 5. MÉTODOS

### 5.1 Trabajo de Campo

#### 5.1.1 Colecta de Muestras Biológicas

Se colectaron 30 individuos completos de *T. recurvata*, que crecían sobre *Prosopis laevigata* en la localidad de Las Granjas (Las Granjas/ *P. laevigata*) y 30 en el Jardín Botánico (Jardín Botánico/ *P. laevigata*) así como 30 individuos que crecían sobre *Parkinsonia praecox* en la localidad de Las Granjas (Las Granjas/ *P. praecox*). Cada muestra se colocó en bolsas de plástico en nitrógeno líquido hasta su almacenamiento en el laboratorio a -80°C.

### 5.2 Trabajo de Laboratorio

#### 5.2.1 Aislamiento de ADN genómico

Se tomaron aproximadamente 200-300 g de tejido vegetal, el cual fue pulverizado en un mortero utilizando nitrógeno líquido, para la extracción del ADN genómico total (ADNg). Con el kit de extracción de plantas de QIAGEN (QIAGEN, Valencia, California) (Figura 4).



Figura 4. Proceso de extracción del ADN total de *T. recurvata*.

Para visualizar el ADNg, se realizaron electroforesis en geles de agarosa al 0.8 % que fueron teñidos con bromuro de etidio y se corrieron a 100 V 30 min y las bandas fueron reveladas con luz ultravioleta (UV) y la imagen del gel se almacenó digitalmente para su análisis con el programa Alphamager (Alphamager Automatic Image Capture, San Leandro, California) (Figura 5).

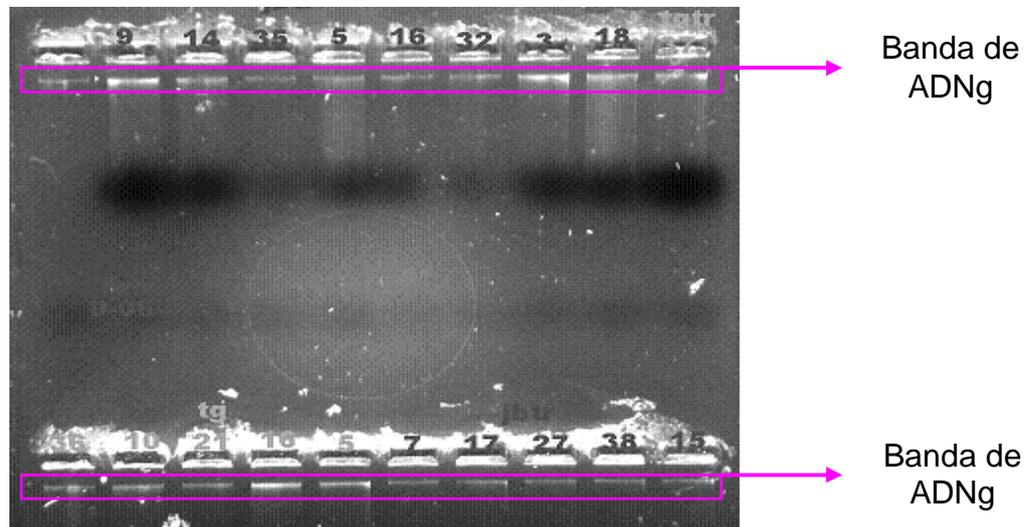


Figura 5. ADNg de *T. recurvata* revelado en un gel de agarosa al 0.8%.

### 5.2.2 Amplificación de regiones microsatélite.

La amplificación se realizó en un termociclador de ADN TGradient Thermocycler (BIOMETRA Tgradient thermocycler, Goettingen, Alemania), programado con un ciclo inicial de 94°C, para la desnaturalización durante 3 min, seguido de 30 ciclos de 10s a 94°C, posteriormente la alineación de los oligonucleótidos durante 10s a 55°C, la polimerización a 72°C durante 10s y un ciclo de 3 min a 72°C para la polimerización complementaria. Cada reacción de 25µl contenía H<sub>2</sub>O desionizada, Buffer de PCR 10x, MgCl<sub>2</sub> 4mM, DNTp's (10mM), Primer F (10 µM), Primer R (10 µM), Taq polimerasa (1U), BSA (Bovine Serum Albumin) y ADNg.



## Estructura Genética en *Tillandsia recurvata*

---

La amplificación del ADN se realizó por medio de la técnica de PCR, utilizando tres parejas de primers que amplifican regiones microsatélite (Tabla 1) y fueron diseñados previamente en otro estudio (Boneh *et al*, 2003).

Para el análisis de regiones microsatélite en *T. recurvata*, los oligonucleótidos (primers) fueron marcados con el fluorocromo HEX y la electroforesis de los fragmentos se realizó en el secuenciador ABI 3100 (Applied Biosystems, ABI 3100, Foster, California).

Los productos de la amplificación se analizaron con electroforesis en geles de agarosa al 1.2 % teñidos con bromuro de etidio y las bandas fueron reveladas con luz ultravioleta (UV) y la imagen del gel se almacenó digitalmente para su análisis con el programa Alphasizer (Alphasizer Automatic Image Capture, San Leandro, California) (Figura 6).

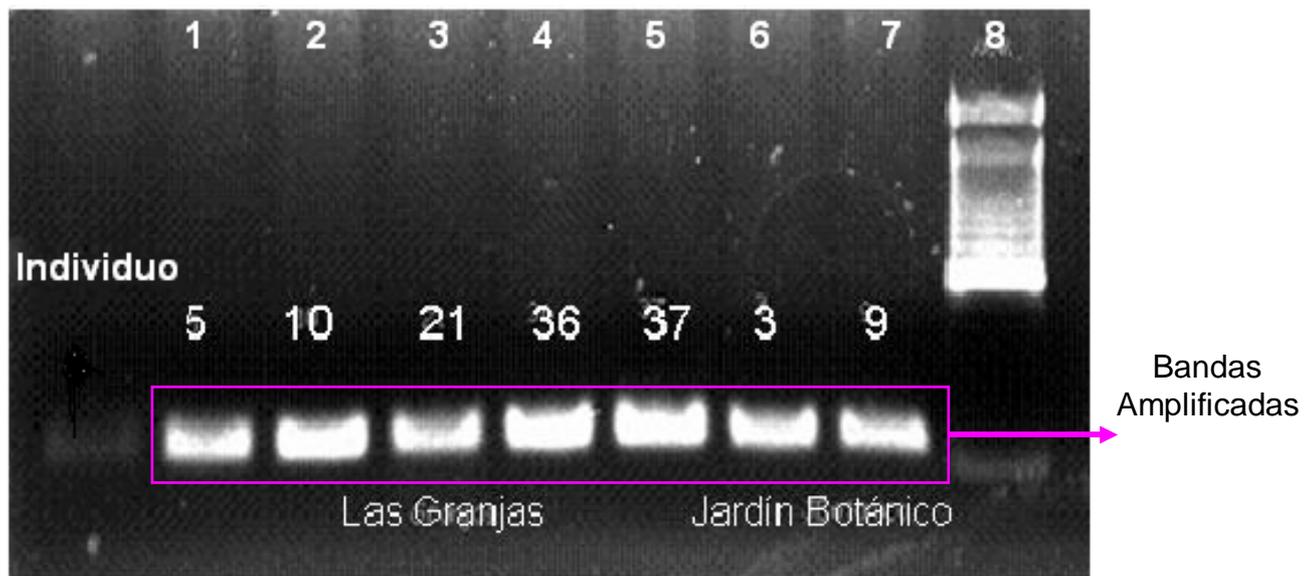


Figura 6. Visualización de productos de PCR. Fragmentos amplificados de aproximadamente 185-200pb. Carriles 1-4, individuos 5, 10, 21 y 36 respectivamente colectados de Las Granjas. Carriles 5-7, individuos 37, 3 y 9 del Jardín Botánico. Carril 8 Marcador de Peso Molecular (100pb).



Tabla 1. Primers utilizados para amplificar regiones de microsatélite

(Boneh *et al.*, 2003)

LOCUS (PRIMER)	SECUENCIA (5' → 3')
e6b	F: CGTACGAAGGTAAGCACAA R: CCGTTGAAGAGGTTAGAGG
CT5	F: AATGAGTTTCAGTTTTAGAAGC R: CCAAGAAAAGAACGGATCA
p2p19	F: ATGCTGCCCACTGAAGATTT R: TCCGTCCAAGGTTTATTGTC

### 5.2.3 Análisis de Datos

Los datos obtenidos en el secuenciador, se procesaron y analizaron mediante el programa TFPGA (Miller, 2000), con el que se estimó la diversidad genética a través de la heterocigosis (H), la distancia e identidad genética de Nei (1987), la diferenciación poblacional a partir del estadístico  $F_{ST}$ , el cual permite medir la repartición de la diversidad genética que existe entre las poblaciones (Trevor *et al.*, 2004) como sigue:



## Estructura Genética en *Tillandsia recurvata*

---

$$F_{ST} = \frac{(H_t - H_s)}{H_t} \quad (\text{Wright, 1943})$$

Donde

$F_{ST}$ : Índice F de diferenciación genética.

$H_t$ : Heterocigosis esperada de la población total.

$H_s$ : Heterocigosis esperada de un individuo de la población.

Uno de los problemas en el análisis de la estructura de las poblaciones es determinar la cantidad de flujo génico ya que es un componente principal de la estructura poblacional porque determina hasta qué punto cada población local de una especie es una unidad evolutiva independiente (Trevor *et al.*, 2004). Para la estimación del flujo génico se utilizó el programa Arlequin 2.0 (Schneider *et al.*, 1999).

$$Nm = \frac{(2 - F_{ST})}{4 F_{ST}} \quad (\text{Wright, 1943})$$

Donde

Nm: Número de migrantes

$F_{ST}$ : Índice F de diferenciación genética.

Se utilizó el programa SPSS para conocer si las diferencias encontradas en los valores de H eran iguales con base en el estadístico no paramétrico de Wilcoxon (Statistical Analysis Software Predictive, Chicago, Illinois).



## 6. RESULTADOS

### Diversidad Genética

Se obtuvieron 90 muestras con los tres loci analizados (e6b, CT5 y p2p219). Se encontraron dos alelos, en cada uno los cuales difieren en sus frecuencias entre las poblaciones. Las frecuencias alélicas registradas para cada población se muestran en la Tabla 2. También, encontramos una alta repartición de la diversidad genética entre las poblaciones ( $F_{ST} = 0.4090$ ) y un bajo nivel de flujo génico ( $Nm = 0.3612$ ).

Tabla 2. Frecuencias alélicas encontradas las poblaciones estudiadas con los tres loci utilizados.

POBLACIÓN/FOROFITO	Primer e6b ALELOS		Primer CT5 ALELOS		Primer p2p19 ALELOS	
	A	a	A	a	A	a
Las Granjas/ <i>P. laevigata</i> (N=30)	0.5606	0.4394	0.5606	0.4394	0.5909	0.4091
Jardín Botánico/ <i>P. laevigata</i> (N=30)	0.6667	0.3333	0.4833	0.5167	0.6000	0.4000
Las Granjas/ <i>P. praecox</i> (N=30)	0.5000	0.5000	0.6333	0.3667	0.4333	0.5667



Los datos de heterocigosis (H) mostraron que en la población de Las Granjas/*P. praecox* el resultado es significativamente más alto ( $Z = -1.5910$ ,  $P < 0.05$ ) ( $H = 0.4852$ ) respecto a lo obtenido en las otras dos poblaciones, Jardín Botánico/*P. laevigata* ( $H = 0.4746$ ) y Las Granjas/*P. laevigata* ( $H = 0.4835$ ). De manera que la población que crecía sobre *P. praecox* cuenta con un porcentaje importante de individuos heterocigotos y las poblaciones que crecen sobre *P. laevigata* mostraron una alta frecuencia del genotipo homocigo en (Tabla 3).

Tabla 3. Porcentaje de las frecuencias genotípicas encontradas en las tres poblaciones de *T. recurvata* aquí analizadas.

POBLACIÓN/FOROFITO	Primer e6b GENOTIPO			Primer CT5 GENOTIPO			Primer p2p19 GENOTIPO		
	AA	Aa	aa	AA	Aa	aa	AA	Aa	aa
Las Granjas/ <i>P. laevigata</i> (N=30)	45	27	28	51	24	25	43	22	35
Jardín Botánico/ <i>P. laevigata</i> (N=30)	45	26	29	44	28	28	40	30	30
Las Granjas/ <i>P. praecox</i> (N= 30)	34	36	30	38	30	32	36	33	31



Por otra parte, la distancia genética encontrada entre las poblaciones colectadas sobre *P. laevigata* fue diferente con respecto a la población que crecía sobre *P. praecox* (Tabla 4).

Tabla 4. Distancia e Identidad genética entre las poblaciones de *T. recurvata*.

POBLACIONES COMPARADAS	DISTANCIA GENÉTICA	IDENTIDAD GENÉTICA
Las Granjas/ <i>P. laevigata</i> vs Jardín Botánico/ <i>P. laevigata</i>	0.0111	0.9890
Las Granjas/ <i>P. laevigata</i> vs Las Granjas/ <i>P. praecox</i>	0.0222	0.9780
Las Granjas/ <i>P. praecox</i> vs Jardín Botánico/ <i>P. laevigata</i>	0.0513	0.9500

En el dendrograma (Figura 7) obtenido con los valores de distancia genética de Nei (1987) se visualiza la similitud genética encontrada entre las poblaciones. Las dos poblaciones de *T. recurvata* que crecen sobre *P. laevigata*, presentan entre sí una distancia genética baja, (D=0.0111) (Tabla 4) y los individuos colectados sobre *P. praecox* reportaron distancias mayores, (D=0.0222 y 0.0513) (Tabla 4).

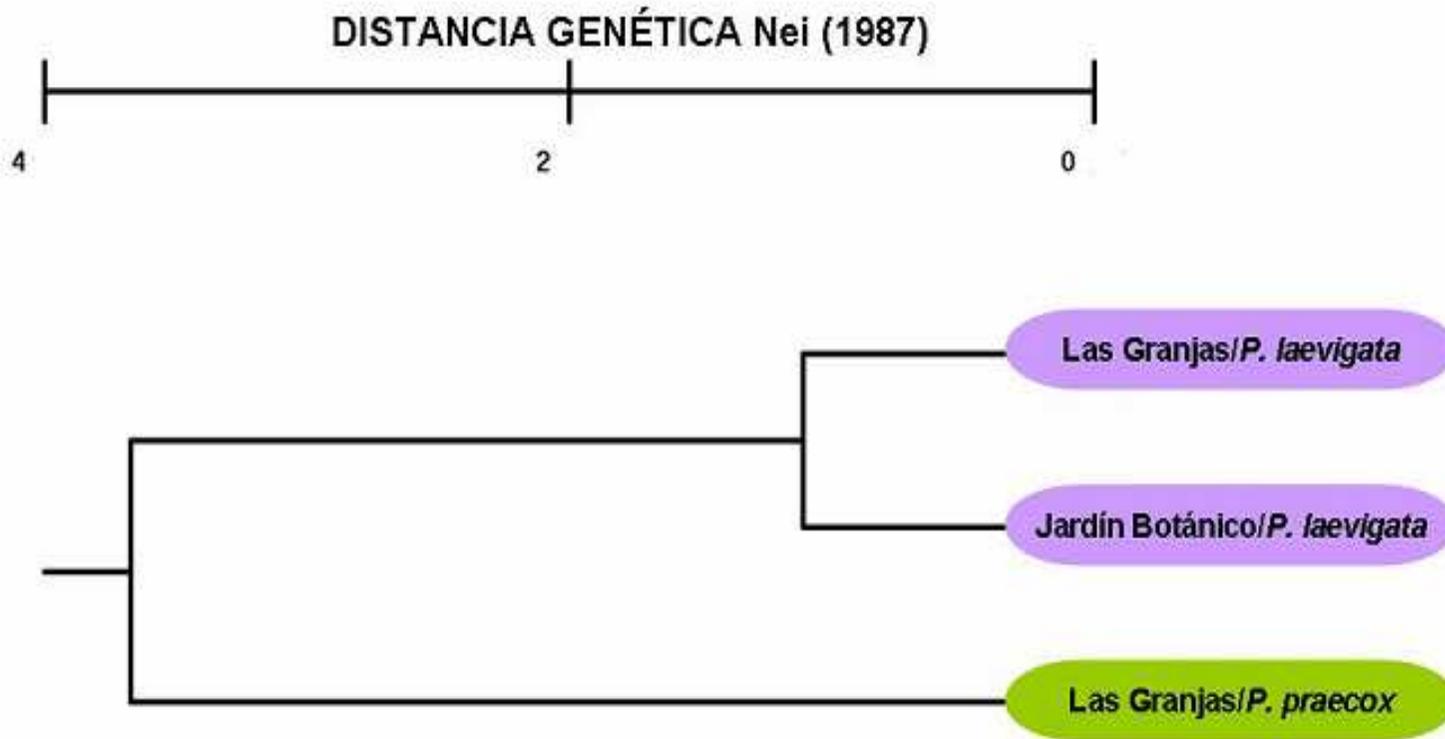


Figura 7. Dendrograma obtenido a partir de los valores de distancia genética entre poblaciones de *Tillandsia recurvata* con el método UPGMA (Miller, 2000).



## 7. DISCUSIÓN

La epífita *T. recurvata* mostró una alta diversidad genética en las tres poblaciones, Las Granjas/*P. laevigata*, Jardín Botánico/*P. laevigata* y Las Granjas/*P. praecox*, en el Valle de Zapotitlán, Puebla (Ver tablas 2, 3, 4 y Figura 7).

Los tres loci utilizados mostraron que las poblaciones, de *T. recurvata* cuentan con una importante presencia de individuos heterocigotos. Esta idea se apoya en el porcentaje de individuos que poseen éste genotipo en las tres poblaciones (Tabla 2), el cual es ligeramente más alto en los individuos que crecen sobre *P. praecox*, ya que probablemente el factor que influye en el incremento de individuos heterocigotos es el sustrato (forofito) sobre el cual se desarrolla la epífita, aunque también se hayan colectado poblaciones sobre *P. laevigata* en la misma localidad, la heterocigosis sigue siendo más alta en los individuos que crecen sobre *P. praecox*.



## Estructura Genética en *Tillandsia recurvata*

---

Aunque el análisis de endogamia realizado por Soltis *et al.* (1987) con base en aloenzimas demostró que las bromelias *T. ionantha* y *T. recurvata* son especies con un alto nivel de endogamia ( $F_{IT} = 1.000$ ) el cual se reflejó en la deficiencia de individuos heterocigotos, de alguna manera se esperaba que los resultados fueran similares en las poblaciones del Valle de Zapotiltlán mediante el análisis de microsatélites. Sin embargo, las poblaciones de *T. recurvata* en el Valle de Zapotiltlán, mostraron una diferenciación genética alta ( $F_{ST} = 0.4090$ ), es decir, existe un nivel importante de heterogeneidad entre las poblaciones, de ahí que se encontrara un porcentaje importante de individuos heterocigos y que a su vez disminuyera el flujo génico ( $Nm = 0.3600$ ) entre las poblaciones, lo cual es consistente en las poblaciones de *T. recurvata* si consideramos la alta diferenciación genética encontrada entre las poblaciones y de acuerdo a Govindaraju (1989), es un nivel de flujo génico bajo pero que corresponde a plantas que se autofecundan predominantemente.

Por otra parte, la diferenciación genética coincide con lo encontrado por González *et al.* (2004) para la especie *T. achyrostachys* ( $F_{ST} = 0.391$ ), pero algunos trabajos realizados en otras epífitas sugieren valores de  $F_{ST}$  muy bajos, es el caso de la orquídea *Tolumnia variegata* (0.060) (Ackerman y Ward, 1999) y los helechos epifitos *Adenophorus tamarisinus* (0.024), *Grammitis hookeri* (0.161), *Grammitis tenella* (0.070) (Ranker, 1992).



## Estructura Genética en *Tillandsia recurvata*

Por lo tanto, esta comparación indicaría que no todas las especies epifitas dependen del apareamiento no aleatorio para poder establecer sus ya conocidas y abundantes poblaciones sobre los sustratos arbóreos, sino que podrían estar recurriendo a la dispersión de semillas a través del viento a largas distancias para intentar asegurar el éxito reproductivo y la colonización del mayor número de sustratos idóneos para desarrollarse, aunque esto implique el establecimiento de la planta sobre otro tipo de sustratos por ejemplo, el tendido de cables y alambrados.

Sin embargo, nuestros datos sugieren que probablemente la especie en los dos sitios de estudio (Las Granjas y Jardín Botánico) tiene la capacidad de utilizar factores favorables como el viento y la influencia de los insectos polinizadores que inciden en el forofito, le estarían dando a *T. recurvata* una mayor variabilidad y diversidad en la región del Valle de Zapotitlán y que por lo tanto permite diferenciar genéticamente a los individuos que crecen en sustratos diferentes.



## Estructura Genética en *Tillandsia recurvata*

Por otra parte, si comparamos la distancia genética que existe entre las tres poblaciones del musgo bola que aquí fueron estudiadas (Tabla 4), encontramos que a pesar de que las diferencias no son muy altas, permiten observar claramente la situación genética de las tres poblaciones. Además, en este trabajo nos situamos en un nivel de comparación local, donde contrastamos poblaciones de una misma especie, la epífita *T. recurvata* que se encuentran en distintas localidades de la misma área de estudio.

De manera que la población que fue colectada sobre *P. praecox*, presentó los valores más bajos de identidad ( $I = 0.9500$ ) y la distancia genética más alta ( $D = 0.0513$ ), contrario a las poblaciones que crecían sobre *P. laevigata* que presentaron un alto grado de semejanza ( $I = 0.990$ ) y por ello la distancia genética entre ellas fue muy baja ( $D = 0.0111$ ). Probablemente, sean las poblaciones que dada la distancia que existe entre ellas recurren en mayor medida a procesos de endogamia, incrementando así el flujo de genes y limitando la capacidad de los individuos para responder ante los cambios que se estén dando en el medio. Por lo tanto, son poblaciones que presentan una baja diversidad genética y mayor número de individuos homocigotos, debido probablemente a factores como la autofecundación (apareamiento no aleatorio), procesos de selección o bien el flujo génico.



## Estructura Genética en *Tillandsia recurvata*

---

Lo cual sugiere que evidentemente, la diferenciación genética en las poblaciones de *T. recurvata*, se observa cuando comparamos individuos que se encuentran en sustratos diferentes. Y por lo tanto, los individuos que crecen sobre el mismo sustrato compartirán casi la totalidad de los alelos entre sí.



## 8. CONCLUSIONES

- ❖ Lo anterior nos indica que la especie *Tillandsia recurvata* mostró diferencias genéticas en las tres poblaciones colectadas en el Valle de Zapotitlán, Puebla.
- ❖ Y por lo tanto, los microsatélites son marcadores útiles para la búsqueda e identificación de regiones altamente variables en *T. recurvata*. Además, resultaron indispensables para describir en primera instancia la diversidad genética del Musgo Bola.



## 10. LITERATURA CITADA

- Ackerman, J. D. y Wards, S. 1999. Genetic variation in a widespread, epiphytic orchid: where is the evolutionary potential? *Systematic Botany*, 24: 282-291.
- Aguilera, H. N. 1970. Suelos de las zonas áridas de Tehuacán, Puebla y sus relaciones con las cactáceas. *Cactáceas y Suculentas Mexicanas*, 15: 51-55.
- Benzing, D. H. 1980. *The biology of bromeliads*. Mad. River Press, Eureka California. 305 p.
- Benzing, D. H. 1990. *Vascular epiphytes: general biology and related biota*. Cambridge University Press, 380p.
- Boneh, L.; Kuperus, P. y Van Tienderen, H. 2003. Microsatellites in the bromeliads *Tillandsia fasciculata* and *Guzmania monostachya*. *Molecular Ecology Notes*, 3: 302-303.
- Claver, F. K.; Alaniz, J. R. y Caldíz, D. O. 1983. *Tillandsia* spp.: Epiphytic weeds of trees and bushes. *Forest Ecology and Management*, 6: 367-372.



## Estructura Genética en *Tillandsia recurvata*

---

- Costanza, R. 1997. The value of the world ecosystem services and natural capital. *Nature*, 387: 253-260.
- Coxson, D. S. y Nadkarni, N. 1995. Ecological roles of epiphytes in nutrient cycles of forest ecosystems. *Editorial Forest Canopies*, 350 p.
- Dirzo, R. 1990. La diversidad como crisis ecológica actual ¿qué sabemos?. *Especial de Ciencias*, 4: 48-55.
- Dirzo, R.; Rodríguez, J. P. y Good, T. 2005. Diversitas y el reto de la conservación de la biodiversidad latinoamericana. *Interciencia* 30: 449-452.
- García, E. 1973. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen, para adaptarlo a las condiciones de la República Mexicana: México, Universidad Nacional Autónoma de México, 246p.
- García-Martínez, M. G. 2002. Mapeo y caracterización de los suelos de las terrazas aluviales del Valle de Zapotitlán de las Salinas, Puebla: México, Universidad Nacional Autónoma de México, Escuela Nacional de Estudios Profesionales Iztacala, tesis profesional (Biología) 78 p.



## Estructura Genética en *Tillandsia recurvata*

---

- González, A. J.; Cruz, A. A.; Flores, P. A. y Vovides, A. P. 2004. Diversity and genetic structure of the mexican endemic epiphyte *Tillandsia archyrostachys* E. Morr. Ex Baker var. *achyrostachys* (Bromeliaceae). *Annals of Botany*, 94: 545-551.
- Govindaraju, D. R. 1989. Variation in gen flow levels among predominantly self-pollinated plants. *Journal of Evolutionary Biology*, 2: 173-181.
- Halffter, G. y Ezcurra, E. 1992. Nuestro patrimonio olvidado: La diversidad biológica. *La Jornada Ecológica*, 12: 324-340.
- Huidobro, S. M. E. 1988. El género *Tillandsia* (Bromeliaceae) en el Estado de México. Universidad Nacional Autónoma de México, Escuela Nacional de Estudios Profesionales Iztacala. Tesis de Biología 103 p. Tlalnepantla, Estado de México.
- INEGI (Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática). 1984. Carta topográfica Atzumba, E14 B75, escala 1:50,000: México, Instituto de Estadística, Geografía e Informática, México, D. F. México.
- López, F. G.; Muñoz, I. D.; Hernández, M. M.; Soler, A. A.; Castillo, L. M. C.; Hernández, A. I. 2003. Análisis integral de la toposecuencia y su influencia en la distribución de la vegetación y la degradación del suelo en la Subcuenca de Zapotitlán Salinas, Puebla. *Boletín de la Sociedad Geológica Mexicana*, 1: 19-41.



- Miller, M. 2000. Tools for population genetic analices (TFPGA) 1.3: a windows program for the genetic data. Computer software distributed by author.
- Mondragón, D.; Calvo, I. L. y Benzing, D. H. 2004. The basis for obligate epiphytism in *Tillandsia brachycaulos* (Bromeliaceae) in a Mexican tropical dry forest. *Journal of Tropical Ecology*, 20: 97-104.
- Nei, M. 1987. *Molecular evolutionary genetics*. Columbia University Press, Nueva York. 512p.
- Paéz-Gerardo, L. E.; Aguilar-Rodríguez, S.; Terrazas, T.; Huidobro-Salas, M. E. y Aguirre-León, E. 2005. Cambios anatómicos en la corteza de *Parkinsonia praecox* (Ruiz et Pavón) Hawkins causados por la epífita *Tillandsia recurvata* L. (Bromeliáceae). *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, 77: 59-64.
- Parker, P. G.; Snow, A. A.; Schug, M. D.; Booton, G. C. and Fuerst, P. A. 1998. What molecules can tell us about populations: choosing and using a molecular marker. *Ecology*, 79: 361-382.
- Quiroga, M. A.; Andrade, L. M. y Chagas, F. K. 2004. Chemical constituents from *Tillandsia recurvata*. *Fitoterapia*, 73: 423-425.



## Estructura Genética en *Tillandsia recurvata*

---

- Ranker, T. A. 1992. Genetic diversity of endemic Hawaiian epiphytic ferns: implications for conservation. *Selbyana* 13: 131-137.
- Rzedowski, J. Y. 1978. *Vegetación de México*. Ed. Limusa, México. 432p.
- SEMARNAT, 2002. Especies de uso no maderable en bosques de Encino, pino y pino-encino: en los estados de Durango, Chihuahua, Michoacán, Guerrero y Oaxaca. <http://semarnat.gob.mx/Tillandsiarecurvata.html>.
- Schneider, S.; Kueffer, J.; Roessli, D. y Excoffier, L. 1999. Arlequin, Versión 2.0: A software for population genetic data analysis. Genetic and Biometry Laboratory, University of Geneva, Switzerland.
- Smartt, J. 1995. *Diversidad genética de especies endémicas en el Ecuador*. Edit. UNEP, Quito. 329p.
- Smith, J. A. C., H. Griffiths y V. Lüttge 1986. Comparative ecophysiology of CAM bromeliads. *Plant Cell and Environment*, 9: 359-376.
- Soltis, D. E., A. J. Gilmartin, L. Rieseberg y S. Gardner, 1987. Genetic variation in the epiphytes *Tillandsia ionantha* and *Tillandsia recurvata* (Bromeliaceae). *American Journal Botany*, 74: 531-537.



## Estructura Genética en *Tillandsia recurvata*

- Toledo, V. M. 1988. La diversidad biológica de México. *Ciencia y Desarrollo*, 14: 17-30.
- Trevor, B. y Rowe, G. 2004. *An Introduction to: Molecular Ecology*. Oxford University Press, Oxford. 305p.
- Valiente-Banuet, A. y Arizmendi, M.C., 1998, El escenario ambiental del Valle de Tehuacán-Cuicatlán, en Tehuacán, horizonte del tiempo: Club Rotario Tehuacán-Manantiales, Patrimonio Histórico de Tehuacán, A.C. pp. 10-14.
- Valiente-Banuet, A., A. Casas., A. Alcántara, P. Dávila., N. Flores-Hernández., M. C. Arizmendi, y J. L. Villaseñor. 2000. La vegetación del valle de Zapotitlán-Cuicatlán. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, 67: 25-74.
- Villaseñor, J. L. y Magaña, P. 2007. Diversidad de plantas vasculares en México. *Ciencia y Desarrollo* 33: 6-11.
- Wright, S. 1943. Isolation by distance. *Genetics*, 28: 114-138.
- Zane, L.; Patarnello, T. y Bargelloni, L. 2002. Strategies for microsatellites isolation: a review. *Molecular Ecology*, 11: 1-16.

