



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

FACULTAD DE CIENCIAS

Distribución espacial y estructura genética de
Bryopteris filicina (Sw.) Nees en la Selva
Lacandona, Chiapas

TESIS

Que para obtener el grado académico de

Doctora en Ciencias (Biología)

PRESENTA

Clementina de los Angeles Equihua Zamora

Director de Tesis: Doctor Daniel Piñero Dalmau

México, D.F.

Octubre, 2008



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

A la memoria de mis papás, Clementina y Luigi, por enseñarme a disfrutar de la familia y de la naturaleza. Su cariño y alegría de vivir me acompañan siempre.

Contenido

1. Resumen	4
2. Abstract	5
3. Agradecimientos	6
4. Introducción	9
5. Objetivos e hipótesis	24
6. Artículo: Spatial distribution of <i>Bryopteris filicina</i> on tree trunks in the Selva Lacandona, Chiapas, Mexico.	26
7. Artículo: Genetic variation of <i>Bryopteris filicina</i> in the Selva Lacandona o Chiapas, Mexico.	36
8. Discusión general	60
9. Conclusiones generales	68
10. Literatura citada	69
11. Apéndices	82
• Apéndice 1. Especies de árboles donde se encontró <i>Bryopteris filicina</i>	83
• Apéndice 2. Método de extracción de ADN	85
• Apéndice 3. Método de PCR para RAPDs	86
• Apéndice 4. Loci encontrados en <i>B. filicina</i>	88
• Apéndice 5. Senderos visitados en Chajul e Ixcán	92



Distribución espacial y estructura genética de *Bryopteris filicina* (Sw.) Nees en la Selva Lacandona, Chiapas

CLEMENTINA DE LOS ANGELES EQUIHUA ZAMORA

Resumen

Bryopteris filicina es una hepática foliosa de amplia distribución en el Neotrópico. Por su forma de vida y hábitos se ha sugerido que es una especie indicadora de alto contenido de humedad microambiental. El presente estudio tiene como objetivos 1) describir y analizar la distribución espacial de *B. filicina* a lo largo de troncos de árboles de tres sitios de la Selva Lacandona de Chiapas, México y 2) realizar un análisis para determinar la variación genética de los gametófitos de esta especie encontrados sobre dichos troncos de árboles. Para cumplir el primer objetivo se utilizó el método de la Línea de Canfield colocando una cinta métrica de la base del árbol hasta los dos metros de altura, para registrar la presencia de gametófitos de *B. filicina* cada centímetro. Se encontró la especie en 142 árboles, principalmente sobre *Ampelocera bottlei*, *Brosimum alicastrum* y *Guarea glabra*. La altura sobre el intervalo estudiado, textura de la corteza y orientación, son útiles para predecir la presencia de *B. filicina* sobre árboles de los diferentes sitios estudiados en la Selva Lacandona. *Bryopteris filicina* tiende a ser más abundante en árboles con corteza lisa y orientados hacia el norte en Chajul y Loma Bonita, y al sur en Ixcán. Dadas las condiciones donde se encontró la especie, *B. filicina* es una buena indicadora de condiciones de humedad. Con el fin de determinar la variación genética de *Bryopteris filicina* se recolectaron muestras de gametófitos de esta especie en tres puntos de la Línea de Canfield: el punto más alto, el de enmedio y el más bajo. Se estudió la variación genética de la especie a tres niveles utilizando RAPDs: 1) sobre los troncos (i.e. parches que crecen a lo largo del tronco), 2) entre los diferentes troncos de un mismo sitio y 3) entre tres sitios de estudio dentro de los tres sitios estudiados en la región de la Lacandona. Se utilizaron los primers OP-F10 y OP-F14 para amplificar ADN. Se encontraron 156 fenotipos dentro de las muestras que amplificaron bandas de RAPDs. Se encontró mucha variación genética sobre cada tronco de árbol ($G_{st} = 1$ y 98.69% en el AMOVA), lo que sugiere que el parche es producto del establecimiento de más de una espora o que hay mutación somática. Los resultados del AMOVA mostraron 0.04% y 3.07% de la diferenciación genética entre los tres sitios estudiados. La mayor variación genética encontrada sobre cada tronco de árbol y la poca variación entre troncos de árboles y sitios, sugiere una estructura genética de tipo metapoblacional.



Spatial distribution and genetic structure of *Bryopteris filicina* (Sw.) Nees en in the Selva Lacandona, Chiapas

CLEMENTINA DE LOS ANGELES EQUIHUA ZAMORA

Abstract

Bryopteris filicina is a leafy liverwort widely distributed in the Neotropical region. Due to its life form and living habits it was considered to be a good indicator of mist. This research objectives are 1) to describe and analyze *B. filicina*'s spacial distribution along tree trunks from three study sites in the Selva Lacandona region of the state of Chiapas, Mexico and 2) determine the genetic variation of *B. filicina* gametophytes found on the tree trunks from objective 1. In order to determine the spacial distribution of *Bryopteris filicina* a Canfield Line was used to record presence-absence of gametophytes growing on a tree trunk from its base to 2 m height. The species was found on a total of 142 trees but it was over-represented on *Ampelocera bottlei*, *Brosimum alicastrum* and *Guarea glabra*. Height within the range studied (0-2 m), bark texture and orientation are good predictors of the presence of *B. filicina* between the studied sites in the Selva Lacandona. *Bryopteris filicina* tends to be more abundant on trees with smooth texture, oriented towards North in Chajul and Loma Bonita and South Ixcán. *Bryopteris filicina* was found to be good indicator of environmental humidity. In order to determine the genetic variation of *B. filicina* sets of three gametophyte samples were collected from 90 trees from the Canfield Lines: on the highest point where the species was recorded, in the middle and in the lowest point. The genetic variation of the species was analyzed using RAPD's to determine g) genetic variation along a tree trunk, b) between tree trunks from one site and 3) between tree trunks from the three studied sites. Primers OP-F10 and OP-F14 were used to amplify extracted DNA samples. A total of 156 RAPD phenotypes were found in the samples that showed bands on each tree ($G_{st} = 1$). Much *B. filicina* genetic variation was found on each tree trunk (98.69%); suggesting establishment by spores or high somatic mutation. AMOVA results showed little differentiation among tree trunks (3.07%) the three studied sites (0.04%), suggesting a metapopulation genetic structure.



Agradecimientos

Terminar este trabajo me ha costado un trabajo enorme, Este esfuerzo ha sido compartido con mi esposo Rodrigo y mis hijos Rodrigo chico y Ale. Especialmente les estoy agradecida porque durante el último año soportaron mi *ausencia*, para concentrarme en escribir “la tesis”. Rodrigo, además siempre se ha entusiasmado con mis planes y mis excentricidades profesionales. Le agradezco que me escucha, me aconseja y literalmente, que está conmigo en las buenas y en las malas. Gracias por darme amor y paz en mi vida.

A mi Ale y mi Rodrigo les agradezco su alegría de vivir, su juventud y los retos que me ponen enfrente cada día. Disfruto muchísimo su presencia y su compañía. Espero que este trabajo también sea motivo de inspiración para los planes que vayan haciendo a lo largo de su vida.

Especialmente le agradezco a Daniel Piñero, en primer lugar por haber querido dirigir una tesis en un grupo de plantas lejos de su interés principal, así como su orientación y paciencia durante este largo proceso. A los miembros de mi comité tutorial Rodolfo Dirzo y Ken Oyama su constante disposición para resolver mis dudas y trabajar conmigo en un proceso que parecía interminable y además de todo, por animarme a terminar. A los miembros de mi jurado: A. Mendoza, L. Eguiarte, E. de Luna, D. Tejero y A. Zambrano, por su confianza y sus valiosísimos comentarios a la última versión de la tesis.

Este trabajo se ha beneficiado del apoyo que me han dado diversas personas. En el campo recibí la ayuda de Manuel Villalobos “el Buho”, Mario y Rafa Lombera, Ana Soler y Edmundo Huerta. Guille Gómez me dió la sus técnicas para caracterizar los troncos de los árboles. Agradezco en especial el apoyo logístico que me proporcionó Conservation International, Chiapas, especialmente a I. March, R. Jiménez y R. Guerrero. Ruth Jiménez realizó los mapas de los senderos del apéndice.



Le agradezco a Dolores González del Instituto de Ecología, A.C. por proporcionarme su protocolo para la extracción de ADN. Rocío Esteban fue una pieza clave en el trabajo de laboratorio, ya que me ayudó a ajustar el protocolo de extracción de ADN y de PCR para trabajar con *Bryopteris filicina*. Además, su conocimiento, paciencia y capacidad de enseñar fueron fundamentales para terminar esa parte del trabajo. También quiero agradecer de manera especial a Óscar Rodríguez Ávila y a Karen Sánchez su invaluable ayuda durante el trabajo de laboratorio.

Mil gracias a Lalo Morales Guillaumin por su disposición para escucharme y ayudarme a echar a andar los análisis de mis datos. Luis Eguiarte y Valeria Souza, gracias por su apoyo para analizar mis datos de la parte genética y por tantos años de amistad. La sagacidad y visión matemática y biológica de Miguel Equihua, como siempre, fueron fundamentales para el análisis de mis datos, además de que el pretexto de los análisis me permitió visitarlo en Xalapa y disfrutar de la encantadora compañía de Gris. La ayuda de Ana Escalante y Mariana Rojas fue fundamental para realizar los últimos análisis de la información genética. Gracias al laboratorio de dinámica de poblaciones y evolución de historias de vida, del Instituto de Ecología de la UNAM, por permitirme el uso del *software* para la lectura de los geles.

Todo trabajo de esta naturaleza es también el resultado de muchas interacciones personales que de alguna manera me han enriquecido a mí y a mi trabajo. En primer lugar les agradezco a Luis, Fernando Miguel y Alberto su amor y la suerte de pertenecer a la misma familia. En especial les agradezco a Miquis y a Alberto por compartir conmigo tantas vivencias especiales desde la infancia, desde los largos juegos en las tardes, hasta “el examen de matemáticas” que me ayudó a pasar algunos exámenes semestrales en la secundaria. A mis cuñadas Lourdes, Rosa, Gris y Gabi por su amistad y aceptar ser parte de la familia Equihua, especialmente les agradezco las horas que hemos pasado juntas para que nuestros hijos se conozcan más. A mis sobrinos Julián, Pablo, Ana Clementina, Luis Eugenio, Georgina, Natalia, Sebastián, Lorenz , Sonia ¡y ahora Paolo!, cuyo orden de aparición he disfrutado tanto.

A Gerardo, Pupa, Osiris y Rocío, por su valiosísima amistad. A Chelo, Ruth y Frida por apapachar, cuidar y recibir a mis hijos en sus casas; y por llevarlos y traerlos en incontables ocasiones. Su apoyo es el mejor regalo que puede recibir una mamá.

Ana Mendoza: ¡gracias por tu hospitalidad! Me devolviste los ánimos para terminar más rápidamente.



A la familia Medellín Legorreta que se ha convertido en mi “otra” familia en los más de veinte años que hemos convivido. Mis suegros Mario y Enriqueta son un ejemplo de vida y, especialmente, les agradezco haberme recibido con tanto afecto desde que nos conocimos.

Esta tesis fue financiada en parte por la Mc. Arthur Foundation y el Laboratorio de Genética y Evolución del Instituto de Ecología de la UNAM.



Introducción

“[La ciencia] nos enseña a no descuidar nada, a no despreciar los pequeños principios... ya que con frecuencia, lo pequeño contiene en principio a lo grande, así como lo grande contiene a lo pequeño”

Michael Faraday

Los briófitos, representados por los musgos, hepáticas y anthoceros, constituyen el segundo grupo de plantas con mayor número de especies, después de las angiospermas (Mishler 2001). Las estimaciones en el número de especies de briofitas en el mundo, varían entre unas 11,000 (Bold et al. 1980 y Pharo y Zartman 2007) y más de 18,000 (Delgadillo y Cárdenas 1990; Gradstein et al. 2001a; Mishler 2001, Renzaglia et al. 2007). A pesar de esta variación en el cálculo del número de especies, los briófitos, en diversidad, representan tres cuartas partes “de lo que significa ser planta terrestre” (Christianson 2000), esto quiere decir que constituyen una parte muy significativa de la diversidad vegetal de muchos ecosistemas, incluyendo aquellos en los que las plantas vasculares son pocas o están ausentes (Newton et al. 2000). Sin embargo, debido a su pequeño tamaño, muy frecuentemente son pasadas por alto en los estudios florísticos y ecológicos (Newton et al., 2000; Mishler 2001; Tan y Pócs 2000; Gradstein et al. 2001a y b). Los musgos son el grupo de briofitas mejor estudiado y se estima que existen unas 12 800 especies (Renzaglia et al. 2007). Los musgos son un grupo monofilético (fig1. Newton et al. 2000), que tiene 1) gametófitos foliosos (filidios u hojas) que son unos órganos laminares adheridos a un tallo o eje principal, 2) tienen rizoides multicelulares que se desarrollan de la superficie del gametófito hacia el punto de contacto con el sustrato, 3) una columnella que es un cilindro de células estériles del centro de la cápsula (De Luna et al. 2003). Es importante resaltar que



estas estructuras se originan a partir de la generación del gametófito y son haploides (Delgadillo y Cárdenas 1990).

Por otra parte, se calcula que hay unas 5 200 especies de hepáticas que constituyen un grupo muy diverso desde el punto de vista morfológico, sin embargo todas se distinguen de los musgos en que su esporofito madura dentro del gametófito, no existe diferenciación dentro de la zona meristemática y siempre carcen de estomas y columnella. Además, su gametófito generalmente crece postrado sobre el sustrato y puede ser folioso, un talo simple o un talo compuesto (con cámaras de aire; Crandall-Stotler y Stotler 2000). Las hepáticas talosas se caracterizan por tener un talo o gametófito aplanado dorsoventralmente que con frecuencia, está ramificado de forma dicotómica que varía en su estructura interna (Gradstein et al 2001a). Estas plantas forman parte de distintos clados dentro de la filogenia del grupo (Renzaglia et al. 2007). Las hepáticas foliosas forman dos clados: el de las Jungermanniales en el que están las plantas que tienen todas las hojas iguales (géneros *Herbertus* y *Triandrophyllum*) y las Porellales, que incluye a las que tienen las hojas incubas, bilobadas (figs. 1 y 2; Forrest et al, 2006; Renzaglia et al. 2007). Es en las Porellales que se incluye a la familia Lejeuneaceae que es la más diversa de las hepáticas. De acuerdo con Gradstein et al. (2003a) se han descrito unas 1,000 especies dentro de 90 géneros. Este grupo además, es el más abundante en las zonas tropicales húmedas y puede representar hasta el 70% de las hepáticas de los ecosistemas del continente americano, la mayoría son epífitas y son un componente muy importante de las selvas del continente americano (Gradstein 1994; Wilson et al. 2006). *Bryopteris filicina* (Sw.) Nees, la planta objeto de estudio en este trabajo, se incluye en esta familia y sus características se describirán más adelante.

Gracias a su talla, así como a sus características y necesidades biológicas, los briófitos, en general, pueden ser plantas útiles para estudiar diversos fenómenos biológicos que a veces resultan difíciles de observar o manipular en otros grupos de plantas (Mishler 2001, Nadkarni y Solano 2002). Por ejemplo, por su abundancia, han sido utilizadas como plantas que definen a ciertos ecosistemas (Frahm y Gradstein 1991), especialmente aquellos con alto contenido de humedad (Bates 2000), ya sea en forma de niebla, rocío o precipitación. Además es bien reconocida su utilidad como especies indicadoras de altas concentraciones de contaminantes en la atmósfera (Rao 1982; Bates et al. 1990. Zambrano-García 1991; Durán et al. 1992; Bates 2000) o en el suelo (e.g. Shaw et al. 1989; Shaw 1988, 1990 y 1991; Samecka-Cymerman et al. 2002). Sus complejidad



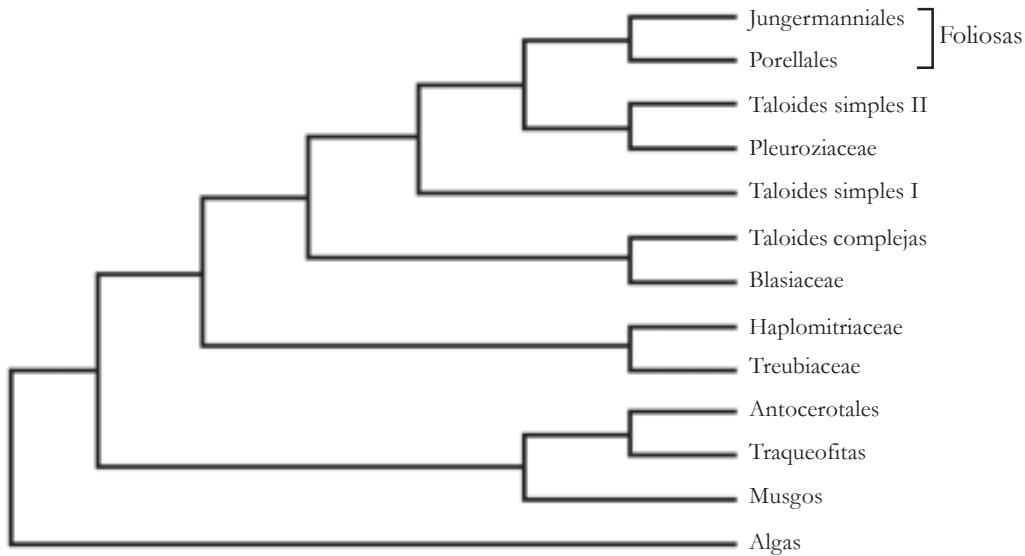


Figura 1. Filogenia ilustrativa de los grandes grupos de hepáticas y en relación con los de otras plantas (modificado de Forrest et al., 2006).

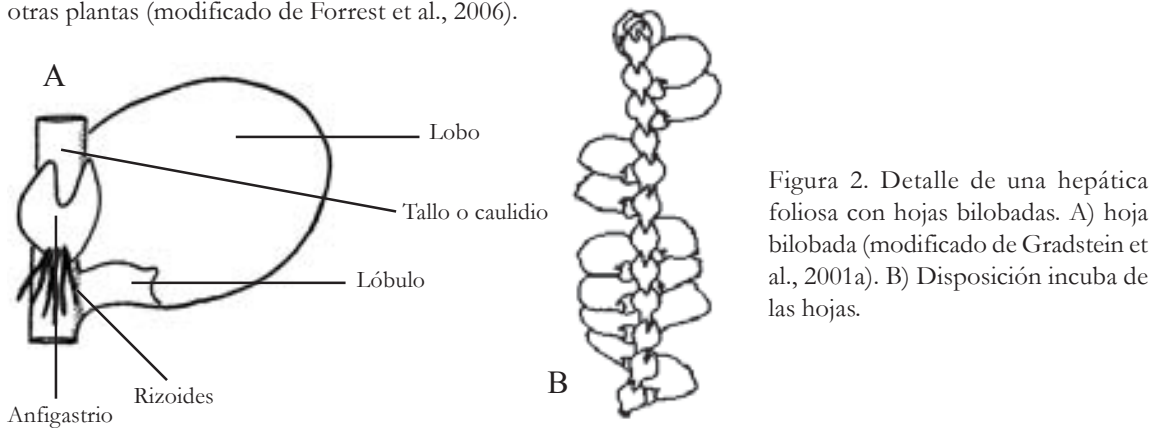


Figura 2. Detalle de una hepática foliosa con hojas bilobadas. A) hoja bilobada (modificado de Gradstein et al., 2001a). B) Disposición incuba de las hojas.

ontogénica las hace útiles como sistemas modelo para estudiar la evolución de las plantas terrestres en general (Mishler 2001). Así mismo se ha reportado la existencia de cromosomas sexuales en estas plantas (Allen 1917; Delgadillo y Cárdenas 1990; Okada et al. 2000). En estudios recientes, el musgo *Physcomitrella patens*, se ha convertido en una especie ampliamente utilizada para entender muchos aspectos desde el punto de vista de la experimentación molecular, citológica y de desarrollo ontogénico en la biología de las plantas (Wood et al. 2000).

Los briófitos habitan en todos los ecosistemas, pero son más abundantes en sitios como tundras y páramos, en los que no hay cubierta forestal o es escasa (Schofield 1985). En selvas tropicales los musgos, hepáticas y antoceros habitan principalmente como epífitas (Frahm y

Gradstein 1991). Diversos estudios han demostrado que estas plantas juegan papeles importantes en el mantenimiento de la salud de esos ecosistemas (e.g. Hölscher et al. 2004; Lowman y Wittman 1996; Stuntz et al. 2002) y que son excelentes indicadores biológicos de humedad y temperatura (Frahm y Gradstein 1991). Además, se ha documentado el papel que juegan los musgos y hepáticas captadoras de la humedad y de los nutrientes que ahí se acumulan, así como aquellos que les llegan en forma de rocío o lluvia (Clark 1994; Nadkarni et al. 2004; Clark et al. 1998 y 2005). Nadkarni y Solano (2002) demostraron que en tiempo de sequía son importantes fuentes de nutrientes y humedad. También, se ha visto que funcionan como sustrato para el establecimiento de diversas especies de plantas vasculares o refugio de diversos animales (Nadkarni 1994; Nadkarni y Solano 2002), e incluso se ha determinado que pueden servir como un mecanismo para controlar la temperatura de las ramas que las sostienen (Freiberg 2001). Muchas especies de briofitas tienden a ser muy específicas en sus necesidades microambientales, por lo que pueden ser buenas indicadoras de condiciones ecológicas como por ejemplo lo serían su respuesta a atributos como la humedad, temperatura, disponibilidad de luz y humedad, así como a las características físicas y químicas del sustrato donde crezcan (Shaw 1990; Frahm y Gradstein 1991; Bates 2000; Mishler 2001; Frahm 2003; Equihua y Equihua 2007).

En Latinoamérica ha aumentado el número de estudios cuyo objetivo es determinar la diversidad de especies de estos grupos de plantas (e.g. Salazar-Allen et al. 1996; Equihua y Pócs 1999; Delgadillo y Cárdenas 2002; Acebey et al. 2003; Benavides et al. 2006). Sin embargo, aún es poco lo que se sabe sobre la historia natural de estas especies. *Bryopteris filicina* (Sw.) Nees es una especie que por sus características biológicas, podría ser útil para detectar ciertas condiciones microambientales en las selvas (Gradstein 1994; Gradstein et al. 2001a y Equihua y Equihua 2007). Para contribuir a incrementar el conocimiento sobre la biología de los briófitos mexicanos se presenta este trabajo, cuyo objetivo es describir la distribución espacial de la hepática *Bryopteris filicina* sobre troncos de árboles y su variación genética, en la Selva Lacandona del estado de Chiapas, aquí en México.

La deforestación de las selvas tropicales en muchos casos perturba, de manera radical, el funcionamiento de este ecosistema. Los servicios ambientales que prestan se deterioran a pasos agigantados, con frecuencia llegando a un camino sin retorno. Además, se altera la disponibilidad de recursos a largo plazo para beneficio del propio ser humano (Saunders et



al. 1991; Laurance 2004 y 2007; Laurance y Luizao 2007). Los estudios que reportan el efecto de la deforestación en la vegetación son diversos (e. g. Bierregaard et al. 1992; Young et al. 1996; Laurance et al. 2001; Cayuela et al. 2006); sin embargo son pocos los que explican cómo varía la humedad (pero véase Kapos 1989; Freiberg 2001; Laurance 2004); u otras características microambientales de este ecosistema bajo esas condiciones de modificación del hábitat. Si se conoce cómo cambian las características microclimáticas y otros factores modificados por la deforestación, será posible establecer si esta última, o las modificaciones en el clima global, están llevando a la pérdida de pequeñas especies, como los briófitos (Zartman 2003; Holz y Gradstein 2005), sin importar su preferencia por hábitats terrestres o superficies de rocas, troncos de árboles, etc.

BRYOPTERIS FILICINA

La hepática foliosa *Bryopteris filicina* pertenece a la familia Lejeuneaceae. Dentro de esta familia es parte de la tribu Holostipae, que reúne a los géneros que tienen anfigastrios (u hojas ventrales) sin dividir (fig. 3). Stotler y Crandal-Stotler (1974) sugirieron que el género debería de ser colocado dentro de su propia familia debido a variaciones en las ramificaciones, pero diversos estudios como por ejemplo Gradstein et al. (2003) y Hartman et al. (2006) demostraron que, desde el punto de vista molecular, *Bryopteris* pertenece, sin lugar a dudas, en Lejeuneaceae. Las especies *Bryopteris filicina*, *B. difusa* y *B. gaudichaudii* son las tres únicas reconocidas para el género *Bryopteris* (Hartman et al. 2006). Las dos primeras especies son de distribución

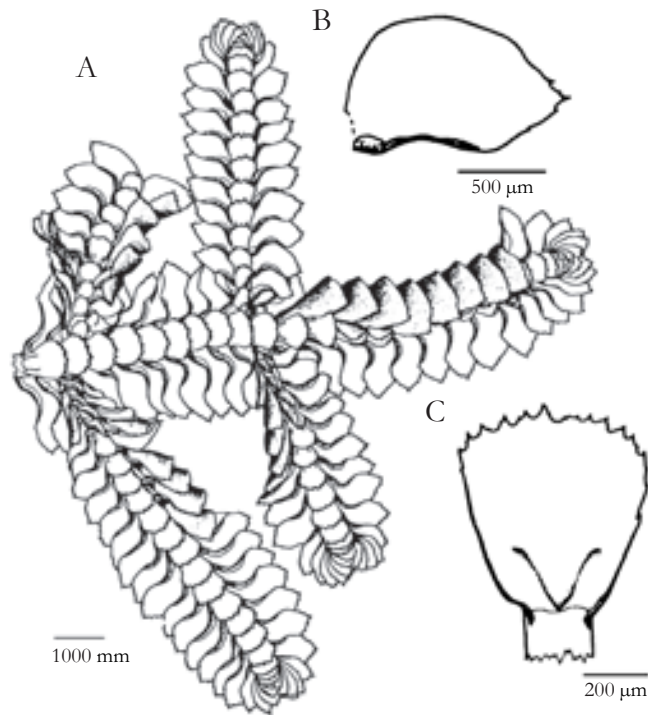


Figura 3. A. Gametófito de *Bryopteris filicina*. Se muestra crecimiento pinado y la disposición de las hojas (B), los anfigastrios (C). Modificado de Gradstein 1994.

Neotropical, mientras que la tercera es de Madagascar y Reunión. Stotler y Crandall-Stotler (1974) y Gradstein et al. (1983) atribuyeron la presencia de *B. gaudichaudii* en el viejo mundo, a un fenómeno de vicariancia. Para Hartman et al. (2006) la amplia variación morfológica de *Bryopteris filicina* a lo largo de su área de distribución se debe a plasticidad fenotípica. La evidencia de estos autores en ITS sugiere que *B. filicina* esta separada en dos clados: uno de la región andina y otro de la región norte del Neotrópico pero es insuficiente para descartar la existencia de especiación críptica.

Bryopteris filicina es una epífita muy común, de distribución Neotropical (fig. 4) que crece desde el nivel del mar hasta los 2,500 m sobre el nivel del mar. Hay registros de esta especie, creciendo en sitios



Figura 4. El área de distribución de *Bryopteris filicina* está marcado con gris. En Brasil la especie está registrada hasta la región de Bahía. Mapa elaborado a partir de Gradstein 1994.

perturbados y sin perturbar, desde México (de la región de los Tuxtlas, Ver., Guerrero, Oaxaca y Chiapas), hasta la Guyana Francesa, la región de Bahía en Brasil y en las islas del Caribe (Gradstein 1994). Es una especie indicadora de sitios con altos niveles de humedad (Gradstein 1994; Gradstein et al. 2001a; Equihua y Equihua 2007).

Las plantas de *Bryopteris filicina* típicamente, tienen un tallo prostrado con hojas (o filidios) de tipo escamas. De estos tallos se levantan ejes foliosos, que se ramifican de manera densamente pinada, bi-pinadas o incluso, tripinadas. Hay veces que se ramifican menos densamente de manera irregularmente pinada. Las hojas son complicadas-bilobadas con un gran lobo dorsal oval dentado hacia la mitad superior de la hoja y tienen un lóbulo ventral pequeño cercano al tallo (o caulidio). Aunque las hojas son diminutas (de 1.3 a 2.2 x 0.9 x 1.3 mm), las plantas pueden medir hasta 25 cm de longitud, y crecen de manera frondosa con un rizoma prostrado y tallos secundarios erectos. Los anfigastrios son más largos que anchos (1.5 a 2 veces el ancho del caulidio); no están divididos pero sus márgenes pueden ser dentados o no (fig. 3; Gradstein 1994). Los rizoides son escasos o carecen de ellos. Se han obtenido diterpenos y sesquiterpenos de esta especie, incluyendo cuatro sesquiterpenos previamente desconocidos (Nigashima et al. 1994). Se han encontrado fragmentos de *Bryopteris* sp. incluidos en ámbar, sin embargo su edad estimada es controvertida (Hartman et al. 2006).

BRIOFITAS MEXICANAS

Se estima que existen unas 4,000 especies de musgos y hepáticas para la región Neotropical (Gradstein et al. 2001a). Son pocos los trabajos brioflorísticos que se han hecho en México, sin embargo Delgadillo (1997) calcula que existen alrededor de 1,000 especies de musgos y Fulford y Sharp (1990) listan 550 especies de hepáticas foliosas. En un trabajo publicado en el 2003, Delgadillo et al. indican que el número de endemismos de estas plantas para el país es bajo, si se comparan con los listados de otros grupos vegetales y que en México los musgos constituyen alrededor del 25% de la flora muscínica Neotropical y la mayoría de las especies endémicas se encuentran en ecosistemas alpinos (19 especies o 17% de su flora).

El sur de Mexico se ha incluido dentro de los *hot spots* por su diversidad biológica y número de endemismos (Myers et al. 2000) y dentro de ésta se encuentra la región de la selva Lacandona. A pesar de esto, son pocos los inventarios brioflorísticos de la zona (Equihua et al. 2001 y Delgadillo y Cárdenas 2002); y sólo se ha reportado la presencia de alrededor de 136 especies de musgos. Estos trabajos son el resultado de colectas en sitios periféricos de la Reserva de Montes Azules, de las cuales es de llamar la atención la extensión de los rangos de distribución de diez especies conocidas para Centroamérica (Delgadillo y Cárdenas 2002) y



de nueve conocidas de otras regiones del continente americano, incluidas las islas del Caribe y la región amazónica (Equihua et al. 2001) y una especie endémica (Delgadillo y Cárdenas 2002). Todavía son menos los inventarios de hepáticas, ya que sólo existe el trabajo de Equihua y Pócs (1999), en el que se reportan 26 especies de hepáticas epífilas, algunos de ellos nuevos registros para el país. Los resultados que se presentan en esta tesis son de los primeros estudios ecológicos que se hacen con de hepáticas tropicales mexicanas.

ΕΠΙΦΙΤΙΣΜΟ EN BRIOFITAS

Los briófitos viven en las selvas tropicales principalmente como plantas epífitas (Frahm y Gradstein 1991; Wolf 1993; Gradstein et al. 2001b y 2003b), esto quiere decir que completan su ciclo de vida adheridas a la superficie de otras plantas (Zotz y Heitz 2001), como por ejemplo ramas y troncos de árboles, palmeras y helechos, así como sobre hojas de gran diversidad de plantas del sotobosque (Vital y Prado 2006), utilizandolas únicamente como soporte (Nadkarni et al. 2001; Zotz 2007). Las hepáticas y musgos epífitos de zonas tropicales además pueden utilizar otros sustratos como contrafuertes de árboles, paredes de arroyos y senderos (Pócs 1982; Benavides et al. 2006) o incluso, animales (e. g. Gradstein et al. 1984; Gradstein y Equihua 1995) pero rara vez el suelo. En esta última superficie llegan a crecer especialmente en sitios donde las hojas muertas forman gruesas capas que lo cubren (Frahm y Gradstein 1991).

Las plantas epífitas no tienen contacto con el suelo (Jacobs 1988; Rhoades 1995; Nadkarni et al. 2001) y generalmente, crecen muy arriba del dosel, donde la relativamente alta iluminación compensa las carencias de no estar enraizadas al suelo (Benzing 1987; Richards 1998). Las epífitas están expuestas a las mismas condiciones microambientales de la parte de la planta que la sostiene. Como carecen de una conexión orgánica al suelo de la selva, son completamente dependientes del abasto de nutrientes disueltos en la precipitación pluvial o que está en el aire (Benzing 1990; Nadkarni y Matelson 1991). Esto quiere decir que estas plantas sólo utilizan a otra como sostén sin tomar nutriente alguno de ellas (Nadkarni 1984, Nadkarni et al. 2001; Zotz 2007). Se ha dicho que las epífitas crecen en ambientes que son estresantes desde el punto de vista físico, puesto que la mayoría son efímeros (Benzing 1995; Nadkarni 2000), en el sentido de que desaparecen después de haber completado su propio ciclo de vida



o por otros factores del ciclo natural del bosque, como por ejemplo la formación de claros.

Por las características anatómicas sencillas, los briófitos epífitos tienen menos protección al ambiente, porque sus tejidos no son complejos (por ejemplo, no tienen algo parecido a un epitelio) y carecen de órganos (Romero et al. 2006), contrario a las plantas superiores. Esto significa que son particularmente sensibles a cambios microambientales (Kessler 2000), por lo que la intensidad de la luz, la humedad relativa, la temperatura, viento y las características físicas y químicas del sustrato juegan un papel especialmente importante en la definición de su hábitat (Rhoades 1995; Benzing 1998).

Como ya se ha mencionado, las plantas epífitas influyen en procesos de los ecosistemas como son el ciclo de los minerales y en el almacenamiento de los nutrientes (Coxson y Nadkarni 1995; Nadkarni et al. 2004), en las relaciones hídricas o como hábitat para otros organismos (Rhoades 1995; Freiberg y Freiberg 2000). A pesar de su pequeña talla, las hepáticas y musgos son importantes componentes de las comunidades de epífitas (e.g., Cornelissen y Ter Steege 1989; Frahm y Gradstein 1991; Gradstein et al. 2001b; Kelly et al. 2004; Benavides et al. 2006) y en algunos ecosistemas llegan a acumular gran cantidad de biomasa (Coxson 1991; Hölscher et al. 2004; Hofstede et al. 1993; Kessler 2000), lo que en ciertas condiciones ambientales puede favorecer que los árboles que las sostienen formen raíces adventicias, de donde obtienen nutrientes que ahí se acumulan (Nadkarni 1981).

Las epífitas, son plantas que crecen en ambientes temporales y en parches (Nadkarni 2000; Laube y Zotz 2007), por lo que tienen que “moverse” a nuevos sustratos a la velocidad a la que desaparecen los viejos. Estas plantas viven en sistemas constituidos por poblaciones que dependen del mecanismo de colonización-extinción para mantenerse, ya que de no ser así sus poblaciones podrían disminuir y llegar a desaparecer, puesto que cada especie solamente crece en ciertas regiones limitadas en espacio (Söderström 1993, 1998; Söderström y Herben 1997), pero con todos los recursos necesarios para sobrevivir como una población local (Laube y Zotz 2007). Así, la distancia entre los parches con los sustratos disponibles y la movilidad de las diásporas son los factores más importantes para que las especies persistan en esos ecosistemas (Söderström 1993). Son pocos los estudios de poblaciones cuyo objetivo sea entender el comportamiento de la dispersión, colonización y sobrevivencia de las especies de briofitas (pero véase a Herben et al.



1991; McLetchie et al. 2002; Cronberg 2002; Hedenås et al. 2003 y Alvarenga y Porto 2007). Muchos de estos trabajos llaman la atención sobre la posible pérdida de especies debido a la fragmentación del hábitat, algunas de ellas son notorias porque son sensibles a la disminución de la humedad, porque las condiciones microambientales de los fragmentos son diferentes de las del sitio original (Alvarenga y Porto 2007).

Se ha discutido que el aumento de la distancia entre fragmentos con frecuencia favorece la sobrevivencia de especies con mejores sistemas de dispersión (Herben y Söderström 1992; Löbel et al. 2006). En este contexto Löbel et al. (2006) sugieren que las especies que dependen de la dispersión de esporas pueden ser más susceptibles a la calidad del hábitat, mientras que las especies que dependen de la propagación asexual pueden ser más sensibles a la configuración espacial del hábitat y a la dinámica de los parches, ya que las diásporas producidas por este último sistema reproductivo son más eficientes para mantener una población local (Equihua 1987; Hassel et al. 2005). De acuerdo con Söderström y During (2005) la reproducción sexual es una de las características más importantes para la sobrevivencia de una especie, ya que produce diásporas que son dispersadas en espacio y tiempo y que tendrán la variación genética que puede serle útil a la especie cuando ocupa nuevos parches de hábitat. Desde el punto de vista genético, en poblaciones subdivididas o metapoblaciones (como sería el caso de briofitas epífitas) gran parte de la variación se encuentra en cada subpoblación (Zartman et al. 2006); pero en aquellas en las que exista una alta tasa de recambio, los niveles de diferenciación genética entre poblaciones serán bajos por sus altas tasas de dispersión y de flujo génico (Harrison y Hastings 1996).

VARIACIÓN GENÉTICA EN BRIOFITAS

Autores como Crum (1972), Wyatt (1985 y 1992), Cummins y Wyatt (1981) y Hamrick y Godt (1989) dicen que los briófitos son plantas que tienen tasas evolutivas lentas y bajos niveles de diferenciación genética intraespecífica, debido a que la fase haploide es la dominante y es de larga vida. El argumento es que la dominancia de esta fase haploide evita que se acumulen mutaciones, que es raro que se establezcan nuevas plantas a partir de esporas y que muchas especies de musgos y hepáticas se autofecundan (Wyatt 1985 y 1992). Además, como dependen del agua para llevar a cabo la fertilización, necesitan microambientes muy específicos que limitan mucho los tipos de hábitats que pueden ocupar (Cummins y Wyatt 1981). Sin embargo, en diversos estudios con musgos

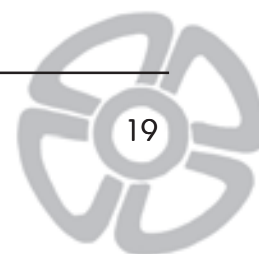


y hepáticas, en los que se utilizaron aloenzimas e isoenzimas, y cuyo objetivo es determinar su variación genética intraespecífica, se ha demostrado que ésta es tan alta como la que se encuentra en plantas vasculares (Cummings y Wyatt 1981; Wyatt et al. 1989a y b; Bischler y Boisselier-Dubayle 1997). Algunos valores de G_{st} obtenidos de análisis con isoenzimas para musgos y hepáticas se presentan en el cuadro 1. Hamrick et al. (1979) reportaron que en plantas vasculares del 22 al 75% de los loci son polimórficos, mientras que Wyatt et al. (1989a) explican que existe una variación de 16 - 56% en musgos. Por su parte, en hepáticas se ha encontrado una variación de loci polimórficos de 5-20% (Bischler y Boisselier-Dubayle 1997).

La variación genética que se encontró en los estudios en los que se utilizaron aloenzimas e isoenzimas de autores como Cummings y Wyatt (1981), Hofman (1988) y Montagnes et al. (1993) también se reportó en estudios con distintas especies de musgos y hepáticas utilizando RAPDs (e.g. Stenøien y Sæstad 1999; Gunnarsson et al. 2007; Zhu et al. 2007), AFLPs (e.g. Snäll et al. 2004 y Zartman et al. 2006), ISSRs (Hassel et al. 2005) y microsatelites (Van Der Velde et al. 2001 y Wilson y Provan

Cuadro 1. Ejemplos de valores de G_{st} de reportados para plantas vasculares, musgos y hepáticas. No se dan valores de desviación estándar en los casos marcados con *.

	Marcador	G_{st}	Referencia
Plantas vasculares			
<i>Cordia alliodora</i>	Isoenzimas	0.117*	Chase et al., 1995.
<i>Pseudotsuga menziesii</i>	RAPDs	0.340 ± 0.07	Aagaard et al., 1998.
<i>Elymus fibrosus</i>	Aloenzimas	0.650*	Díaz et al., 2000
<i>Elymus fibrosus</i>	RAPDs	0.630*	Díaz et al., 2000
Hepáticas			
<i>Conocephalum conicum</i>	Isoenzimas	0.231*	Bischler y Boisselier-Dubayle, 1997.
<i>Marchantia chenopoda</i>	Isoenzimas	0.244*	Bischler y Boisselier-Dubayle, 1997.
<i>Porrella platyphylla</i>	Isoenzimas	0.893*	Bischler y Boisselier-Dubayle, 1997.
<i>Riccia dictyospora</i>	Isoenzimas	0.692*	Dewey, 1989.
Musgos			
<i>Hylacomium splendens</i>	Isoenzimas	0.073 ± 0.017	Cronberg et al., 1997.
<i>Leucodon temperatus</i>	Isoenzimas	0.042*	Akiyama, 1994.
<i>Brachythecium rivulare</i>	RAPDs	0.217*	Zhu et al., 2007.
<i>Leucodon nipponicus</i>	Isoenzimas	0.208*	Akiyama, 1994.
<i>Mielichhoferia elongata</i>	Isoenzimas	0.925*	Shaw y Schneider, 1995.
<i>Mielichhoferia mielichhoferiana</i>	Isoenzimas	0.925*	Shaw y Schneider, 1995.
<i>Plagiommium ciliare</i>	Isoenzimas	0.248 ± 0.07	Wyatt et al. 1989b.



2003). Los resultados encontrados en algunos de los estudios anteriormente citados, demuestran que el uso de marcadores moleculares que tienen el objetivo de ayudar a entender aspectos genéticos en poblaciones de briofitas, también son útiles para elucidar diferentes preguntas a nivel poblacional. Un ejemplo es el estudio de Hassel et al. (2005), quienes investigaron sobre la extensión de la distribución de dos especies de musgos y la variación genética. Skotniki et al. (1999) trabajaron con los mecanismos de dispersión en ese mismo grupo de plantas. Snäll et al. (2004) estudiaron la variación de la estructura genética de especies que están relacionadas cercanamente pero que tienen diferentes sistemas reproductivos. Además se han llevado a cabo distintos trabajos que describen el efecto de la fragmentación del hábitat en la estructura genética de especies como *Polytrichum commune* (Wilson y Provan 2003), *Radula flaccida* (Zartman et al. 2006) y *Leptodontium smithii* (Spagnuolo et al. 2007).

RAPDs EN LOS ANÁLISIS GENÉTICOS

La amplificación al azar de ADN polimórfico (RAPD por las siglas en inglés de Random Amplified Polymorphic DNA), utiliza la reacción en cadena de polimerasa (PCR, por las siglas en inglés de Polymerase Chain Reaction) para la amplificación enzimática de fragmentos anónimos de ADN polimórficos (Otero-Arnaiz et al. 1997 y González 1998). La facilidad de esta técnica ha simplificado el estudio de la variación genética y ha transformado la manera en que se llevan a cabo los análisis genéticos en muchos tipos de organismos. Los RAPDs son marcadores moleculares que se obtienen a partir de la amplificación de segmentos aleatorios de ADN y son una variación de la técnica de la PCR (Otero-Arnaiz et al. 1997; Freeland 2005). Para amplificar los segmentos del ADN que se investiga se utiliza una enzima termoestable, conocido como Taq que se obtiene de la bacteria *Thermus aquaticus*. Además se usa magnesio como cofactor de la enzima, secuencias cortas de oligonucleótidos (usualmente de diez bases), también conocidos como *primers* o iniciadores y la muestra que se estudia. La reacción de amplificación se lleva a cabo con cambios de temperatura, lo que desnaturizará el ADN de la muestra a estudiar y el oligonucleótido se alinea a uno o varios sitios homólogos de la cadena de ADN desnaturizada. Con los cambios en la temperatura se evita la alineación de sitios que no son completamente homólogos. Posteriormente se mantiene por un tiempo la temperatura óptima para que la enzima se pueda mantener estable. Después se dará inicio a la fase de replicación de los segmentos de ADN amplificados (Otero-Arnaiz



1997). El perfil del ADN amplificado depende principalmente de la homología con la secuencia del nucleótido entre el patrón de ADN y el *primer* (Bardakci 2001). Los segmentos amplificados son separados con la técnica de electroforesis en geles de agarosa, teñidos con bromuro de etidio y visualizados con luz ultravioleta (Otero-Arnaiz et al. 1997; González 1998 y Bardakci 2001).

Con el uso de RAPDs se presupone que cada producto de amplificación representa un alelo por locus (Waugh y Powell 1992). Los productos de la amplificación son transmitidos mendelianamente y se comportan como marcadores dominantes porque el carácter que se obtiene es la presencia/ausencia de la secuencia amplificable de ADN (Otero-Arnaiz et al. 1997); esto es, no se pueden distinguir los homócigos dominantes de los heterócigos para un fragmento en particular (Williams et al. 1990). Este método es muy atractivo porque generalmente es más rápido y menos costoso que otros diseñados con anterioridad para detectar variaciones en la secuencias del ADN. Además, los RAPDs son un método rápido, simple, de alta resolución y que necesitan de poco material del organismo a estudiar (Fischer et al. 2000). Se ha producido una gran variedad de marcadores moleculares que tienen una alta probabilidad de éxito porque se necesitan muy pequeñas cantidades de ADN, y no es necesario hacer clonaciones, secuenciar o caracterizar de cualquier otra manera al genoma de la especie que se esté estudiando (Bardakci 2001 y Freeland 2005).

Los RAPDs son útiles en los análisis de genética de poblaciones porque detectan mucha variación (Otero-Arnaiz et al. 1997; Fazekas y Yeh 2001; Scott y Crandall-Stotler 2002) y como son marcadores de ADN, en teoría ofrecen mayor resolución y flexibilidad que la electroforesis de enzimas (Otero-Arnaiz et al. 1997). Los polimorfismos (i.e. diferencias en el número de bandas) entre los individuos se detectan por la presencia de bandas contra su ausencia. La falta de estas bandas, cuando se interpretan los geles, puede deberse a diversas razones: 1) a que el *primer* falló en amplificar para algún sitio en algunos individuos, 2) a que hubo cambios en la secuencia de los nucleótidos en los sitios de acoplamiento, o 3) porque se presentaron inserciones y deleciones en el fragmento entre dos sitios de *primers* conservados (Otero-Arnaiz et al. 1997; Clark y Lanigan 1993; Bardakci 2001).

Los RAPDs pueden ser la mejor técnica para hacer observaciones iniciales del organismo a estudiar (Skotnicki et al. 1999). Se ha sugerido que a veces, en los RAPDs existe el problema de que las bandas que



migran juntas, que se supondría son homólogas, no lo sean. Esto puede ser cierto en los individuos que pertenecen a especies diferentes o a poblaciones que son muy divergentes. Debido a los problemas antes descritos, se ha concluido que los RAPDs dan estimaciones más precisas en estudios de poblaciones más cercanas que en estudios de poblaciones poco relacionadas (Bardakci 2001; Freeland 2005). Además, como los marcadores dominantes son anónimos, puede ser difícil detectar contaminación de las muestras o comparar datos con otros estudios; es por esto que el que un trabajo se pueda reproducir depende de que la limpieza de laboratorio sea muy rigurosa (Freeland 2005).

El uso de RAPDs se ha incrementado en estudios de genética de poblaciones de gran variedad de organismos, pero pueden ser problemáticos al realizar estimaciones de frecuencias génicas. Como los loci amplificados son dominantes, las estimaciones son menos precisas que las obtenidas con marcadores codominantes como lo serían los casos en que se usen isoenzimas y RFLPs (Lynch y Milligan 1994; Badarakci 2001; Freeland 2005). Sin embargo, se han desarrollado métodos para corregir el problema de diferenciar entre los homocigotos y heterocigotos, pero se debe presuponer que la población está en equilibrio de Hardy-Weinberg, aunque no siempre sea el caso (Lynch y Milligan 1994; Freeland 2005). Además, se debe tener en cuenta que los marcadores de loci diferentes no migran a una misma posición en el gel, que cada locus puede ser tratado como un sistema de dos alelos, que sólo uno de los alelos de cada locus es amplificado por el PCR y que hay que enfocarse en los marcadores que son comunes (Lynch y Milligan 1994).

Los RAPDs pueden ser muy útiles para hacer estudios de variación genética en organismos clonales, ya que un fragmento polimórfico puede ser utilizado para determinar la identidad del clon (Otero-Arnaiz et al. 1997; Bardakci 2001; Chen et al. 2006). En briofitas, que son plantas en las que domina la fase haploide y dependen en gran medida de la propagación asexual, se han usado RAPDs en diversos estudios (e.g. Boisselier-Dubayle et al. 1995; Stenøien y Sæstad 1999; Skotnicki et al. 1998 y 1999; Zouhair et al. 2000; Stenøien et al. 2000; Scott y Crandall-Stotler 2002; Wang et al. 2006; Gunnarsson et al. 2007; Zhu et al. 2007). Por ejemplo, en musgos estos marcadores han permitido determinar la variación y estructura genética en poblaciones sexual y asexualmente reproductivas, o para entender los mecanismos de dispersión de diversas especies (e. g. Skotnicki et al. 1998 y 1999; Stenøien y Sæstad 1999).



Asimismo, los RAPDs han sido un método elegido para determinar cómo se distribuye la variación genética entre especies de un mismo género en musgos (Korpelainen y Salazar-Allen 1999) y en diversas hepáticas (Boisselier-Dubayle y Bischler 1994 y 1995; Bischler y Boisselier-Dubayle 1997; Scott y Crandall-Stotler 2002). También se han usado RAPDs en análisis de genética de poblaciones (Skotnicki et al. 1999; Fischer et al.



Objetivo general

Determinar la distribución espacial y estructura genética de gametófitos de *Bryopteris filicina* en el bosque maduro de la Selva Lacandona, así como estudiar la variabilidad genética de la especie a nivel microgeográfico dentro de la misma región de la Lacandona.

PARTICULARES

- Determinar la distribución espacial de gametófitos de *Bryopteris filicina* a nivel de árbol y entre árboles en la Selva Lacandona
- Determinar la estructura genética de la población a nivel árbol y entre árboles en el bosque maduro de la Selva Lacandona
- En función de la variación genética encontrada en un parche de bosque maduro, determinar y comparar la variación genética de otras dos poblaciones diferentes de *B. filicina* en la selva madura



Hipótesis

- *Bryopteris filicina* estará creciendo sobre árboles con corteza no exfoliante o escamosa y se distribuirá al azar sobre troncos de árboles de la Selva Lacandona.
- No se encontrará variación genética de gametófitos de *B. filicina* que crecen sobre un mismo tronco de árbol dentro de la Selva Lacandona debido a que, en cada tronco, la población se mantiene por propagación asexual
- Los gametófitos de *B. filicina* que crecen sobre diferentes troncos de árboles de la Selva Lacandona, varían genéticamente debido a que en cada árbol la población se establece por reproducción sexual (i.e. esporas).
- Existe mucha variación genética de *B. filicina* entre tres parches de selva madura en la Lacandona, debido a que las plantas se propagan por esporas para colonizar a grandes distancias (i. e. árboles).



Spatial distribution of *Bryopteris filicina* on tree trunks in the Selva Lacandona, Chiapas, Mexico

CLEMENTINA EQUIHUA

Departamento de Ecología Evolutiva, Instituto de Ecología, UNAM, Ap. Postal 70-275, 04510, México, D.F., Mexico
e-mail: cequihua@miranda.ecologia.unam.mx

MIGUEL EQUIHUA

Instituto de Ecología, A.C. Ap. Postal 63, Km. 2.5 antigua Carretera a Coatepec, Xalapa, Veracruz 91000, Mexico
e-mail: equihuam@ecologia.edu.mx

ABSTRACT. Spatial distribution is a critical component of population structure and reflects, depending on the scale, relationships between organisms and the biotic and abiotic environment, but has been poorly investigated in the case of bryophytes. The objective of this study was to describe the spatial distribution of *Bryopteris filicina* at two spatial scales: 1) along porophyte tree trunks in the Lacandona Forest of Chiapas, Mexico, and 2) among three sites with contrasting degree of conservation. We expected to find larger *Bryopteris filicina* populations in well-preserved conditions, compared to disturbed areas and on non-smooth trunk surfaces, rather than on smooth trunks. A modification of the Canfield line protocol was used to quantify the distribution of *B. filicina*. This species was found on a total of 142 trees, but it was over-represented on *Ampelocera hottlei*, *Brosimum alicastrum* and *Guarea glabra*. Height, within the range studied (0–2m), bark texture and orientation are good predictors of the presence of *B. filicina* between the studied sites in the Selva Lacandona. *Bryopteris filicina* tends to be more abundant on trees with smooth texture, oriented towards north in Chajul and Loma Bonita and South in Ixcán.

RESUMEN. La distribución espacial es un componente de la estructura del hábitat y refleja, dependiendo de la escala, las relaciones entre individuos. El objetivo de este estudio es el de describir la distribución espacial de *Bryopteris filicina* sobre troncos de árboles. También se compara la distribución entre troncos de árboles de las regiones de Chajul, Loma Bonita e Ixcán dentro de la Selva Lacandona, Chiapas, México. Esperamos encontrar poblaciones de *B. filicina* más grandes y saludables en el bosque con mejores condiciones de conservación. Con el fin de describir la distribución de *B. filicina* se utilizó el método de la línea de Canfield. Encontramos a *B. filicina* en 142 árboles, principalmente *Ampelocera hottlei*, *Brosimum alicastrum* y *Guarea glabra*. La altura sobre el intervalo estudiado, textura de la corteza y orientación, son útiles para predecir la presencia de *B. filicina* sobre árboles de los diferentes sitios estudiados en la Selva Lacandona.

KEYWORDS. *Bryopteris filicina*, liverworts, Lacandona, Mexico, tropical rain forest, Neotropics, epiphytes, spatial distribution.





A first step in understanding plant communities is to describe their spatial distribution. The spatial pattern is the arrangement of points of plants in space, which exhibits a certain amount of predictability (Dale 2000). It has been demonstrated that, depending on the scale, patterns of plant distribution reflect the interactions among individual plants or interactions between plants and their environment (Crawley 1997; Dale 2000). In order to understand plant communities, we must describe and quantify their ecological characteristics, both spatial and temporal, and then relate these observed characteristics to underlying processes and attributes such as establishment likelihood, growth rate, competition, reproduction, senescence and mortality (Dale 2000).

Studies on the spatial organization of epiphytes in tropical forests have begun to draw attention of researchers only in recent years (e.g., Benavides D. et al. 2005; García-Suárez et al. 2003; Kelly et al., 2004; Vandunné 2002). Most of the recently published literature focuses on understanding the distribution of vascular epiphytes (e.g., Benavides D. et al. 2005; Nieder et al. 2000; Vandunné 2002; Wolf & Flamenco-S. 2003). Despite the importance of bryophytes as key components of epiphyte communities, there are still very few published studies focused on understanding the biology of epiphytic bryophytes (e.g., Gradstein et al. 2001b; Hedenås et al. 2003; Kelly et al. 2004; Nadkarni et al. 2001; Holz & Gradstein 2005). Given their large biomass and important ecosystem functions (e.g., Clark 1994; Clark et al. 2005; Hölischer et al. 2004; Stuntz et al. 2002), understanding the biology of epiphytic bryophytes will help to better understand ecosystems as a whole. This study describes the distribution of the liverwort *Bryopteris filicina* (Sw.) Nees along tree trunks. We expected to find *B. filicina* growing on trees with non-flaky bark texture and randomly placed on the tree trunk (in terms of height and exposure).

We also compare the distribution of the species on trees from three different sites within the Selva Lacandona (Fig. 1). Due to their geographical position and human pressure, the three study sites represent tropical rain forest under different disturbance conditions. There is a narrow altitudinal

gradient from Chajul towards Ixcán. Chajul, Loma Bonita and Ixcán were subject to different human disturbances (O'Brien 1998; de Vos 1988). We expected to have larger and healthier *Bryopteris filicina* populations in the site under better preservation conditions (i.e., larger trees, less exploited by humans and subject to less flooding events). We defined these sites as those with larger trees (in terms of DBH and height; Barbour et al. 1999), indicating an older, mature forest in a gradient from Ixcán to Chajul. Of the three sites, Chajul was an area that during the 1980s was heavily used by farmers from the neighboring Ejido Boca Chajul (O'Brien 1998), whereas the other two areas were used to a lesser extent.

MATERIALS AND METHODS

Study site. The Selva Lacandona is located in eastern Chiapas, Mexico (Fig. 1). It includes the largest remnant of tropical rain forest in the country, and together with the forests of Guatemala, Belize and the south of the Yucatán Peninsula, constitutes the most extensive tract of this biome in Mesoamerica (Mendoza & Dirzo 1999). The Montes Azules Biosphere Reserve covers 331,200 ha of the Lacandona region. The area is estimated to contain approximately 20% of Mexico's total species diversity (Medellín 1994, 1996; Mendoza & Dirzo 1999). Despite its richness and biological importance, the Selva Lacandona suffers one of the highest deforestation rates in both Mexico (Mendoza & Dirzo 1999; O'Brien 1998) as well as in other tropical areas (Myers 1993), due to pressure from the surrounding rural communities in search for agricultural land, and because of its potential for timber extraction and petroleum exploitation (O'Brien 1998). Such pressures vary spatially (Mendoza & Dirzo 1999; O'Brien 1998) and, therefore, a mosaic of conserved and varying degrees of different disturbance types is present in the area. This study was conducted in the areas surrounding the Chajul Biological Station (16°06'N, 90°56'W, 120 m), the Loma Bonita archaeological site (16°06'N, 91°00'W, 130 m) and Ixcán station (16°07'N, 91°05'W, 170 m). The three sites are in differentially disturbed patches within a



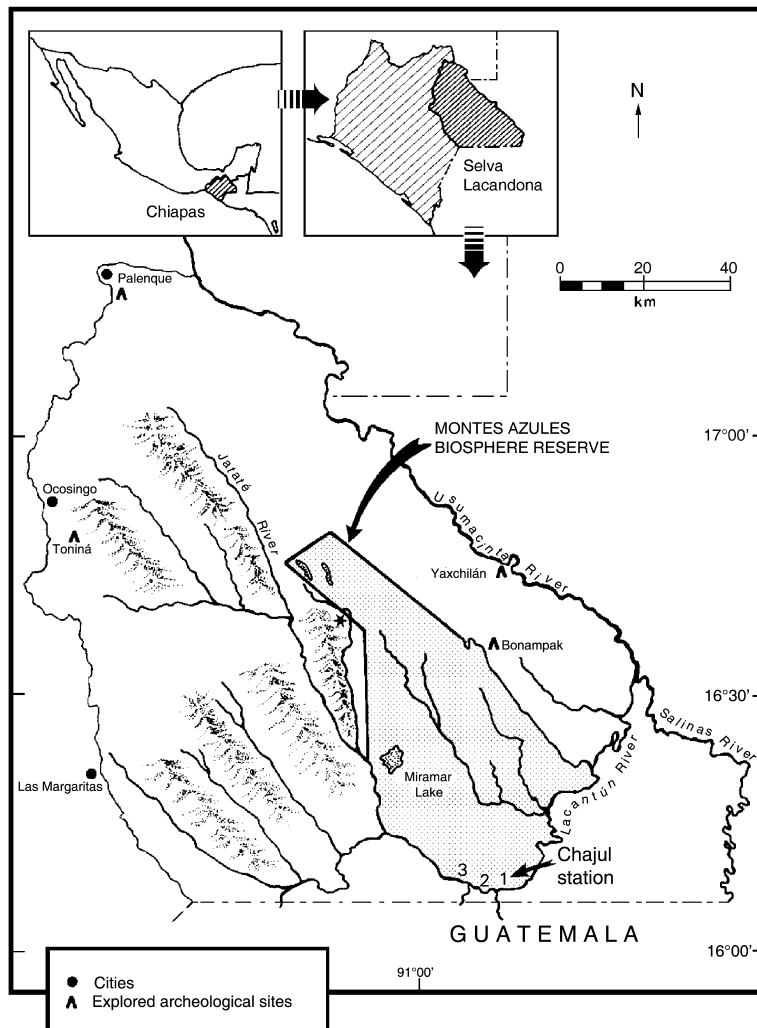


Figure 1. Sites for the study of the vertical distribution of *Bryopteris filicina* on trees in the Selva Lacandona, Chiapas, México. 1) Chajul Biological Station area, 2) Loma Bonita ruins and 3) Ixcán. Map modified from Medellín (1994).

large (> 500,000 ha) tropical rain forest continuum in the south of the Biosphere Reserve (Fig. 1). There is a narrow altitudinal gradient from Chajul (120 m) towards Ixcán (170 m). The three sites represent a gradient of anthropogenic disturbance in the form of timber extraction and limited agriculture, where Chajul suffered a higher degree of perturbation 30 years ago and Ixcán is the least perturbed site. The entire region is covered with lowland tropical rain forest (Medellín 1996) and is part of the floristic province of the coast of the Gulf of Mexico

(Rzedowski 1978). Across the Lacantún River and outside the reserve and the study sites, the Chajul and Ixcán regions had some of the largest concentrations of Guatemalan refugees during the 1980s (O'Brien 1998).

The rain forest in the study areas is multi-layered with emergent trees more than 25 m tall (Medellín & Equihua 1998). Predominant canopy trees include *Dialium guianense*, *Vatairea lundellii*, *Brosimum alicastrum*, *Ampelocera hottlei*, *Guarea glabra*, *Spondias radlkoferi* and *Licania platypus*, among others;

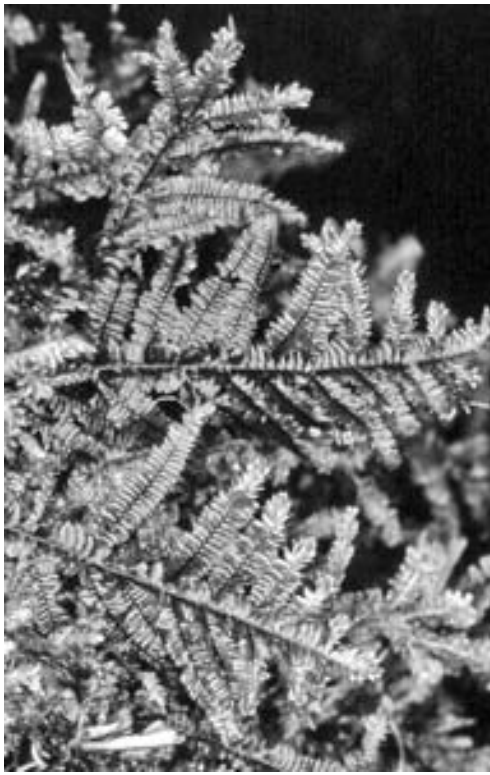


Figure 2. *Bryopteris filicina*: live plant from the Selva Lacandona, Chiapas, Mexico.

understory taxa include *Heliconia* sp., *Calathea* spp., several species of *Arecaceae* (e.g., *Chamaedorea* spp. and *Geonoma* sp.), *Rubiaceae*, and saplings of the predominant trees (e.g., *Psychotria* spp. and *Quararibea* sp.). Canopy closure is about 80%. The distance between Chajul and Loma Bonita is 7.1 km, with 15.6 km between Chajul and Ixcán, and 8.6 km between Loma Bonita and Ixcán (Fig. 1), thus insuring independence between sites. Vascular epiphytes are both highly abundant and species-rich especially in the form of bromeliads and orchids (pers. observ.). The climate is hot and humid with rainfall reaching 3000 mm, 80% falling between May to December and mean annual temperature of 25.3°C (Medellín 1993).

Study organism. *Bryopteris filicina* is a leafy liverwort in the *Lejeuneaceae* (Fig. 2). It is widely distributed in the Neotropics. The species is primarily found as an epiphyte in disturbed and non-disturbed rain forests from sea level to 2500 m (Gradstein 1994;

www.mobot.org). *Bryopteris filicina* may be an indicator of the occurrence of high humidity such as clouds or mist conditions (Gradstein et al. 2001b). This fact is also supported by its hygromorphic structure: large leaves (Richards 1998) and shoots arising perpendicular from the vertical trunk forming flattened photosynthetic surfaces and leaves arranged in two lateral ranks, also known as “fans” (Bates 1998) or “feathers” (Richards 1984; Holz et al. 2002). *Bryopteris filicina* is dioicous (occasionally monoicous; Gradstein 1994) and can also propagate through vegetative propagules such as cladia. Plants of *B. filicina* are as much as 25 cm long and usually feather-like. The growth-form is frondose, with a creeping rhizome and erect secondary stems (Gradstein 1994; Gradstein et al. 2001a). For the purpose of this study, gametophytes covering a continuous area on the same trunk are defined as a patch. Voucher specimens are deposited in MEXU.

Sampling. Trees were surveyed for the presence of *Bryopteris filicina* along trails surrounding the Chajul Biological Station, Loma Bonita and Ixcán (Fig. 1). Trails used are part of the infrastructure of the Chajul Biological Station, and as such they are very narrow and avoid unnecessary disturbance. A pilot random-sampling demonstrated a relatively low probability of occurrence of this species on tree trunks in the three sites (0.27, 0.30 and 0.41, Chajul, Loma Bonita and Ixcán, respectively). To balance the sample sizes in the three sites, about eight kilometers of trails were visited in the Chajul area and between three and four kilometers in the Loma Bonita and Ixcán areas. Therefore all trees found with *B. filicina* growing on their trunks encountered along our trails were used for sampling. On each tree where *B. filicina* was found, the following information was recorded: geographical location of the tree trunk (as accurate as the GPS reception under the canopy allowed using a Magellan Trailblazer XL GPS), tree species, DBH, height, bark characteristics (e.g., color and texture) and orientation of the patch. All the sampled trees were vertical or close to it.

To determine how *B. filicina* was distributed along the tree trunks, all trees where the species was found were used. On each tree with a patch of *B. filicina*, a measuring tape was placed over the patch, from the trunk base to 2 m height. Every centimeter where *B.*



Figure 3. Placement of a Canfield line on tree trunks to determine the spatial distribution of *Bryopteris filicina* in the Selva Lacandona, Chiapas, Mexico. Presence and absence of *B. filicina* was determined at each centimeter. Drawing by S. Hernández.

filicina touched the measuring tape was recorded, following the Canfield line method (Mueller-Dombois & Ellenberg 1974; **Fig. 3**). A visual estimation of the highest point where *B. filicina* was growing on the trunk was recorded.

Statistical analysis. In order to describe the spatial distribution of *B. filicina* on trees, we used generalized linear models. Poisson models (log-linear regressions) were fitted but the results were over-dispersed (Venables & Ripley 2002). A better solution was found using a binomial distribution as the random component of the models (logistic regres-

sions). A chi-squared distribution was used as the test statistic (Venables & Ripley 2002). All models fitted and statistical tests applied were conducted with SPlus® 7 (Insightful 2005).

RESULTS AND DISCUSSION

A total of 451 trees were examined to determine the presence of *Bryopteris filicina* on its trunks. The species was found on a total of 142 trees in the areas of Chajul, Loma Bonita and Ixcán. Forty nine species of trees were found with *B. filicina* growing on their trunks (**Table 1**). The tree species that most frequently had *B. filicina* growing on their trunks were *Ampelocera hottlei* ($n = 23$, 15%) *Brosimum alicastrum* ($n = 23$, 15%) and *Guarea glabra* ($n = 14$, 10%). Our results show that *B. filicina* tends to grow on relatively abundant species of trees. Most of these trees had smooth bark texture (76.2%, included *A. hottlei* and *B. alicastrum*), then fissured (23.1% in *G. glabra*) and finally scaly (0.7%; **Fig. 4a**). Bark characteristics such as hardness, pH or water retention capacity were not considered for any of the trees where we found *B. filicina*. Further study would help to clarify if the preferences are further influenced by the physical or chemical characteristics of the bark, by microenvironmental variables, or are related to a successional process (Barkman 1958). We only recorded tree species when *B. filicina* was growing on them. Only in the Chajul area, Dirzo and Frias (pers. comm.) have recorded 83 tree species and we collected *B. filicina* on 24 of these.

Bryopteris was found growing oriented more frequently towards the north than east, south or west (**Fig. 4b**). A chi-squared test showed that there is a significant difference between the presence of the species on the different bark textures and between the orientation where it is growing (**Table 2**). It has been suggested that *Bryopteris filicina* is an indicator of high relative humidity such as cloud or mist conditions (Bates 1998; Gradstein 1994; Gradstein et al. 2001b), and orientation seems to influence these microenvironmental variables and therefore the growing habit of *B. filicina*. Further study should measure these microenvironmental variables such as humidity, sun exposure, orientation in relation to the river and possible effect of exposure, since all these conditions vary greatly vertically (Walsh 1998).

Table 1. Characteristics of the trees where *Bryopteris filicina* was found in the Selva Lacandona region, Chiapas, Mexico

	Chajul	Loma Bonita	Ixcán	Total
Checked trees	173	160	118	451
Sampled trees	46	48	48	142
Species of sampled trees	23	27	23	49
Average height of the sampled trees (m)	9.0	11.0	12.6	10.9
Average DBH of the sampled trees	9.6	15.3	18.0	13.7
Average height along the Canfield line (cm)	144.6	142.0	143.6	143.7
Bark texture of sampled trees				
Scaly	1	0	0	1
Fissured	10	11	12	33
Smooth	36	37	36	109

At the three localities, on average, the sampled trees were 10.9 m tall, and had a DBH of 13.7 cm. There is a significant difference among sites in the size of the trees where *B. filicina* was found growing (DBH and tree height $p = 0$, respectively). *Bryopteris filicina* was found growing at heights to 8 m. The average height where *B. filicina* was found along the 0–2 m Canfield line on the tree trunk was 143.7 cm (Table 1). The average height where *B. filicina* was growing is not significantly different from tree to tree (Table 2), not considering locality as an effect.

In general, *Bryopteris filicina* grows on trunks of species of trees that are abundant in the area (i.e., *Ampelocera hottlei*, *Brosimum alicastrum* and *Guarea glabra*). In the Chajul area these species of trees have high importance values (4.17, 6.91 and 4.67, respectively; R. Dirzo & R. Frías, pers. comm.), and they are also important vegetation components in Loma Bonita and Ixcán (pers. observ.). Tree height and DBH are good estimators of overall plant biomass (Barbour et al. 1999), and therefore can help determine the conservation status of the three sites. A multiple comparison test showed that DBH and tree height are significantly different between the three sites ($p < 0$). The site with largest trees in terms of DBH and height were found in Ixcán, with fewer in Loma Bonita and fewest in Chajul (Table 1). The Chajul area was heavily used by farmers from the Ejido Boca Chajul during the 1980s (O'Brien 1998), whereas the other two areas were used less.

Due to the significant differences between sites in terms of DBH and tree height, we tested, within each locality, if any of the tree characteristics (e.g., species,

bark texture and tree height) or if placement of *B. filicina* on the tree (e.g., orientation and height along the Canfield line), could be good predictors of its presence in the forest. A logistic regression showed that within locality, tree height, orientation, DBH and bark texture are the best predictors of the presence of the species in the forest (Table 2). Tree height, and maximum height where *B. filicina* was found, are

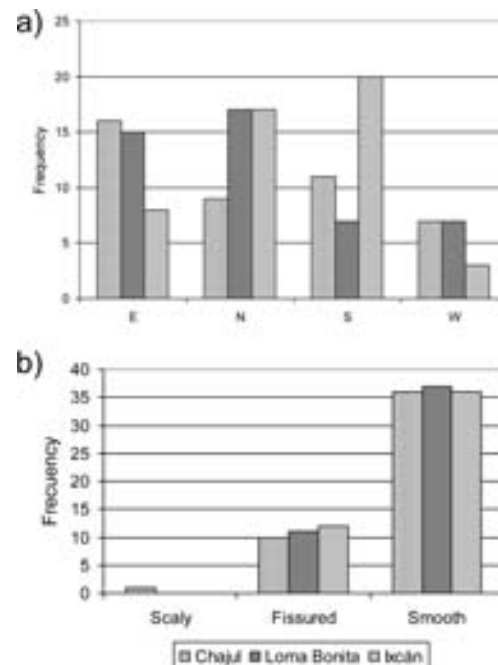
**Figure 4.** *Bryopteris filicina* a) orientation and b) texture preference on trees from the Selva Lacandona Chiapas, Mexico.

Table 2. Full binomial model fitted to predict the presence of *Bryopteris filicina* in the Selva Lacandona, Chiapas, Mexico. All the variables are considered alone and interacting with the locality effect.

	Df	Deviance	P (chi)
Bark texture interacting with locality	2	11.310	0.00350
Tree DBH interacting with locality	2	64.190	0.00000
Tree height interacting with locality	2	83.220	0.00000
Orientation interacting with locality	6	63.211	0.00000
Maximum height interacting with locality	2	21.608	0.00002
Average height interacting with locality	2	90.951	0.00003
Height along the Canfield line interacting with locality	2	3.164	0.20559
Bark texture	2	37.943	0.00000
Tree DBH	1	93.883	0.00000
Tree height	1	55.298	0.00000
Orientation	3	27.570	0.00000
Maximum height	1	83.049	0.00000
Average height	1	0.374	0.54080
Height along the Canfield line	1	1111.706	0.00000
Locality	2	54.860	0.00000

characteristics that interact with the variables that are helpful to predict the presence of the species on tree trunks, suggesting that *B. filicina* behaves differently according to tree features and location.

Although *B. filicina* has been found in undisturbed and disturbed forests (Gradstein 1994), the characteristics that best predicted its presence indicate that *B. filicina* is found more frequently in well-preserved forests (e.g., larger values of DBH). We agree with Snäll et al. (2003) in the sense that larger tree diameter implies longer time available for colonization. We did not quantify the presence of *B. filicina* in human-disturbed forest of any kind, but non-systematic observations by C. Equihua demonstrated that the species is very rare under drier, more exposed conditions (e.g., natural clearings, old fields and cacao plantations).

Along the Canfield line *B. filicina* was never found close to the forest floor, below 15 cm, and its frequency increased with height to as much as two meters. A model fitted to contrast among sites demonstrated that there is not a significant difference between the height where *B. filicina* is growing along the Canfield line in the different sites (Table 2). This is due to the variation of height between sites where *B. filicina* is found, but note that the lowest height was found in Chajul (15 cm) and the highest in Loma Bonita and Ixcán (200 cm). A logistic model was fitted

to predict the presence of *B. filicina* along tree trunks.

Figure 5 shows that the probability of finding *B. filicina* increases with height, within the range sampled, for the different sites where the study was conducted, and for the orientation and bark preferences of the species. During our visual estimations we could detect *B. filicina* to 8 m height. We found *B. filicina* more frequently between 1.8 and 2.0 m, thus inhabiting mostly the tree base and trunk as defined by Pócs (1982) and Cornelissen and Ter Steege (1989). Holz et al. (2002) also reported *B. filicina* as a species only found on trunks in *Quercus* forest in Costa Rica.

Bryopteris filicina has been reported from forests under different preservation conditions, and is widely distributed in the Neotropics (Gradstein 1994). Our results demonstrate that *B. filicina* mostly grows on common tree species with smooth-textured bark, occasionally on trees with fissured bark, and tends to avoid flaking bark, as reported for other bryophytes (Richards 1984). This is different to what has been found in temperate epiphytes because trees with very thick rugged bark are usually uncommon in tropical rain forests (Richards 1998).

In the three study sites in the Lacandon Forest, *B. filicina* grows mainly exposed to an orientation with higher humidity conditions: east in Chajul, north in Loma Bonita and south in Ixcán. In our case, these



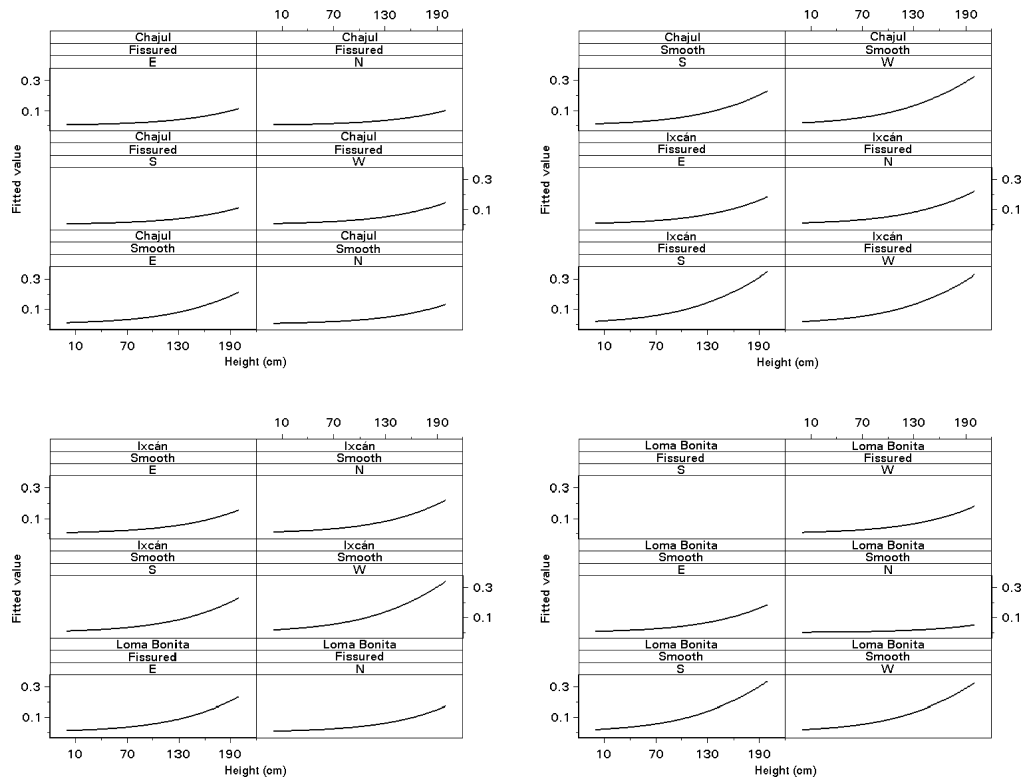


Figure 5. Adjusted logistic equation to predict the presence of *Bryopteris filicina* in Chajul Biological Station, Loma Bonita and Ixcán, in the Selva Lacandona, Chiapas, Mexico. Scaly bark is omitted in the graph because its sample size is too small. Height is along the Canfield line. There is no data for fissured bark in Loma Bonita southern exposure.

conditions occurred mainly towards the river or where northern winds bring mist during winter (Fig. 1). Orientation towards moisture-laden winds has also been reported in other ecosystems (e.g., González-Mancebo et al. 2003). Bark holds very small quantities of water (Barkman 1958), therefore most of the humidity that *B. filicina* needs to survive must come from the surrounding environment, not its substrate. *Bryopteris filicina* is a species that falls in the fan life-form classification by Bates (1998), it better survives under deep shade conditions and high moisture availability, intercepting cloud water when rainfall is low (Holz et al. 2002; León-Vargas et al. 2006; Pócs 1982).

Although *B. filicina* is found in forests with different tree characteristics, as mentioned before, it tends to be more frequent in forests that are better conserved. Greater DBH and tree height are indicators

of this conservation condition and of the age of the forest. It is important to encourage further research focusing on the succession of *Bryopteris* populations (and all bryophytes) because forest clearing is being carried out in its natural habitats. Our results support the hypothesis that *Bryopteris filicina* is a good indicator of high relative humidity conditions such as mist or cloudiness, and show that, in the Lacandon region, its populations could diminish as the habitat is fragmented and microhabitat conditions change with the loss of older trees. Our results support the results of Löbel et al. (2006) who worked on epiphytes in fragmented forests in Sweden. In tropical rain forests (as in any other ecosystems), any loss of species sensitive to small changes in humidity is an indication of major changes in ecosystem functions and shifts in plant species abundance (Nadkarni & Solano 2002), including epiphytic bryophytes. Today there is much

work being done to try to preserve large patches of tropical rain forests, but small species are being lost without being noticed and without even understanding the larger effect it may cause to the ecosystem. Our study demonstrates that although *Bryopteris filicina* is found under different forest conditions, it prefers trees that, although common, are relatively large. Its disappearance from a forest will indicate important changes in microhabitat conditions that will never represent the rain forest as we know it today.

ACKNOWLEDGMENTS

We thank M. Villalobos (El Buho), M. and R. Lombera, A. Soler and E. Huerta for their assistance in the field. D. Piñero, R. Dirzo, K. Oyama, R. Medellín, N. Ingerpuu and an anonymous reviewer who critically reviewed the manuscript. Fieldwork was partially funded by the McArthur Foundation and the Laboratorio de Genética y Evolución at the Instituto de Ecología, UNAM. This paper is in partial fulfillment to obtain the doctorate degree at the Facultad de Ciencias, UNAM, Mexico.

LITERATURE CITED

- Barbour, M. G., J. H. Burk, W. D. Pitts, F. S. Gilliam & M. W. Schwartz. 1999. *Terrestrial Plant Ecology*. 3rd ed. The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc., Menlo Park, CA.
- Barkman, J. J. 1958. *Phytosociology and Ecology of Cryptogamic Epiphytes*. Van Gorcum, Assen.
- Bates, J. W. 1998. Is 'life-form' a useful concept in bryophyte ecology? *Oikos* 82: 223–237.
- Benavides D., A. M., A. J. Duque M., J. F. Duivenvoorden, G. A. Vasco & R. Callejas. 2005. A first quantitative census of vascular epiphytes in rain forests of Colombian Amazonia. *Biodiversity and Conservation* 14: 739–758.
- Clark, K. L. 1994. *The Role of Epiphytic Bryophytes in the Net and Cycling of Nitrogen in a Tropical Montane Cloud Forest*. Ph.D. dissertation, University of Florida, Gainesville, FL.
- , N. M. Nadkarni & H. L. Gholz. 2005. Retention of inorganic nitrogen by epiphytic bryophytes in a tropical montane forest. *Biotropica* 37: 328–336.
- Cornelissen, J. H. C. & H. Ter Steege. 1989. Distribution and ecology of epiphytic bryophytes and lichens in dry evergreen forest of Guyana. *Journal of Tropical Ecology* 5: 131–50.
- Crawley, M. J. 1997. *Plant ecology*. 2nd ed. Blackwell Science, Berlin, Germany.
- Dale, M. R. T. 2000. *Spatial Pattern Analysis in Plant Ecology*. Cambridge University Press, U.K.
- De Vos, J. 1988. Oro Verde. La Conquista de la Selva Lacandona por los Madereros Tabasqueños, 1822–1949. Fondo de Cultura Económica & Instituto de Cultura de Tabasco, Mexico.
- García-Suárez, M. D., V. Rico-Gray & H. Serrano. 2003. Distribution and abundance of *Tillandsia* spp. (Bromeliaceae) in the Zapotitlán Valley, Puebla, México. *Plant Ecology* 166: 207–215.
- González-Mancebo, J. M., A. Losada-Lima & S. McAlister. 2003. Host specificity of epiphytic bryophyte communities of a laurel forest on Tenerife (Canary Islands, Spain). *The Bryologist* 106: 383–394.
- Gradstein, S. R. 1994. Lejeuneaceae: Ptychantheae, Brachiolejeuneae. *Flora Neotropica Monograph* 62: 1–216.
- , S. P. Churchill & N. Salazar-Allen. 2001a. Guide to the bryophytes of tropical America. *Memoirs of the New York Botanical Garden* 86: 1–377.
- , D. G. Griffin III, M. I. Morales & N. Nadkarni. 2001b. Diversity and habitat differentiation of mosses and liverworts in the cloud forest of Monte Verde, Costa Rica. *Caldasia* 23: 203–202.
- Hedenäs, H., V. O. Bolyukh & B. G. Jonson. 2003. Spatial distribution of epiphytes on *Populus tremula* in relation to dispersal mode. *Journal of Vegetation Science* 14: 233–242.
- Hölscher, D., L. Köhler, A. I. J. M. van Dijk & L. A. Bruijnzeel. 2004. The importance of epiphytes to total rainfall interception by a tropical montane rain forest in Costa Rica. *Journal of Hydrology* 292: 308–322.
- Holz, I & S. R. Gradstein. 2005. Cryptogamic epiphytes in primary and recovering upper montane oak forests of Costa Rica—species richness, community composition and ecology. *Plant Ecology*: 178: 89–109.
- , ———, J. Henrichs & M. Kappelle. 2002. Bryophyte diversity, microhabitat differentiation, and distribution of life forms in Costa Rican upper montane *Quercus* forest. *The Bryologist* 105: 334–348.
- Insightful. 2005. S-PLUS 7 for Windows User's Guide. Insightful Corporation. Seattle, WA.
- Kelly, D. L., G. O'Donovan, J. Feehan, S. Murphy, S. O. Drangeid & L. Marcano-Berti. 2004. The epiphytic communities of a montane rain forest in the Andes of Venezuela: patterns in the distribution of the flora. *Journal of Tropical Ecology* 20: 643–666.
- León-Vargas, Y., S. Engwald & M. C. F. Proctor. 2006. Microclimate, light adaptation and desiccation tolerance of epiphytic bryophytes in two Venezuelan cloud forests. *Journal of Biogeography* 33: 901–913.
- Löbel, S., T. Snäll & H. Rydin. 2006. Metapopulation process in epiphytes inferred from patterns of regional distribution and local abundance in fragmented forest landscapes. *Journal of Ecology* 94: 856–868.
- Medellín, R. A. 1993. Estructura y diversidad de una comunidad de murciélagos en el trópico húmedo mexicano. Pages 333–354. *In* R. A. Medellín & G. Ceballos (eds.), *Avances en el Estudio de los Mamíferos de México*. Asociación Mexicana de Mastozoología, A.C. México, D.F.
- . 1994. Mammal diversity and conservation in the Selva



- Lacandona, Chiapas, Mexico. *Conservation Biology* 8: 780–799.
- . 1996. La Selva Lacandona. *Arqueología Mexicana* 4: 64–69.
- & M. Equihua. 1998. Mammal species richness and habitat use in rainforest and abandoned agricultural fields in Chiapas, Mexico. *Journal of Applied Ecology* 35: 13–23.
- Mendoza, E. & R. Dirzo. 1999. Deforestation in Lacandonia (southeast Mexico): evidence for the declaration of the northernmost tropical hot-spot. *Biodiversity and Conservation* 8: 1621–1641.
- Mueller-Dombois, D. & H. Ellenberg. 1974. *Aims and Methods of Vegetation Ecology*. John Wiley & Sons, New York.
- Myers, N. 1993. Tropical forests: the main deforestation fronts. *Environmental Conservation* 20: 9–16.
- Nadkarni, N. M., M. C. Merwin & J. Nieder. 2001. Forest canopies, plant diversity. Pages 27–40. *In* S. Levin (ed.), *Encyclopedia of Biodiversity*. Academic Press, San Diego, CA.
- & R. Solano. 2002. Potential effects of climate change on canopy communities in a tropical cloud forest: an experimental approach. *Oecologia* 131: 580–586.
- Nieder, J., S. Engwald, M. Klawun & W. Barthlott. 2000. Spatial distribution of vascular epiphytes (including hemiepiphytes) in a lowland Amazonian rain forest (Surumonu Crane Plot) of southern Venezuela. *Biotropica* 32: 385–396.
- O'Brien, K. L. 1998. *Sacrificing the Forest: Environmental and Social Struggles in Chiapas*. Westview Press, Boulder, CO.
- Pócs, T. 1982. Tropical forest bryophytes. Pages 59–104. *In* A. J. E. Smith (ed.), *Bryophyte Ecology*. Chapman and Hall, Great Britain.
- Richards, P. W. 1984. The ecology of tropical forest bryophytes. Pages 1233–1270. *In* R. M. Schuster (ed.), *New Manual of Bryology*. The Hattori Botanical Laboratory, Nichinan, Japan.
- . 1998. *The Tropical Rain Forest: An Ecological Study*. 2nd ed. (with contributions by R. P. D. Walsh, I. C. Baillie & P. Greig-Smith). Cambridge University Press, U.K.
- Rzedowski, J. 1978. *Vegetación de México*. Limusa, México.
- Snäll, T., P. J. Ribeiro Jr. & H. Rydin. 2003. Spatial occurrence and colonisations in patch-tracking metapopulations: local conditions versus dispersal. *Oikos* 103: 566–578.
- Stuntz, S., U. Simon & G. Zotz. 2002. Rainforest air-conditioning: the moderating influence of epiphytes on the microclimate in tropical tree crowns. *International Journal of Biometereology* 46: 53–59.
- Vandunné, H. J. F. 2002. Effects of the spatial distribution of trees, conspecific epiphytes and geomorphology on the distribution of epiphytic bromeliads in a secondary montane forest (Cordillera Central, Colombia). *Journal of Tropical Ecology* 18: 193–213.
- Venables, W. N. & B. D. Ripley. 2002. *Modern Applied Statistics with S*. Springer, New York.
- Walsh, R. P. D. 1998. Microclimate and hydrology. Pages 208–236. *In* P. W. Richards, *The Tropical Rain Forest: An Ecological Study*. 2nd ed. Cambridge University Press, U.K.
- Wolf, J. H. D. & A. Flamenco-S.. 2003. Patterns in species richness and distribution of vascular epiphytes in Chiapas, Mexico. *Journal of Biogeography* 30: 1689–1707.

ms. received July 14, 2006; accepted April 2, 2007.



Genetic variation of *Bryopteris filicina* in the Selva Lacandona of Chiapas, Mexico

CLEMENTINA EQUIHUA AND DANIEL PIÑERO

Abstract. Genetic variation in a population is critical for coping with environmental changes and for the long term survival of a species. The objective of this study is to determine the genetic variation of *Bryopteris filicina* growing on tree trunks of the Selva Lacandona, Chiapas, Mexico, using RAPDs. The genetic variation of *B. filicina* was studied at three levels: 1) within trunks (i.e. patches growing along a tree trunk), 2) between tree trunks and 3) among three study sites in the Lacandona region. Samples were collected from trees along a 2 m Canfield line at three levels on the patch: the highest, the middle and the lowest points. Primers OP-F10 and OP-F14 were used for DNA amplification. A total of 156 RAPD phenotypes were found in the samples that showed bands on each tree ($G_{st} = 1$). Much *B. filicina* genetic variation was found on each tree trunk (98.69%); suggesting establishment by spores or high somatic mutation. AMOVA results showed little differentiation among tree trunks (3.07%) the three studied sites (0.04%), suggesting a metapopulation genetic structure.

Resumen. En una población la variación genética es vital para ayudarle a enfrentar los cambios del medio ambiente y para la supervivencia de la especie a largo plazo. El objetivo de este estudio es el de determinar la variación genética de *Bryopteris filicina*, utilizando RAPDs. *B. filicina* es epífita sobre troncos de árboles de la Selva Lacandona, Chiapas, México. Se estudió la variación genética de la especie a tres niveles 1) sobre los troncos (i.e. parches que crecen a lo largo del tronco), 2) entre los diferentes troncos de un mismo sitio y 3) entre los tres sitios de estudio dentro de la región de la Lacandona. Se colectaron muestras a lo largo de una Línea de Canfield a tres niveles donde se encontró el parche de *B. filicina*: en el punto más alto, en el punto de enmedio y en el punto más bajo. Se utilizaron los primers OP-F10 y OP-F14 para amplificar el ADN. Se encontró mucha variación genética sobre cada tronco de árbol ($G_{st} = 1$ y 98.69% en el AMOVA), lo que sugiere que el parche es producto del establecimiento de más de una espora o que hay mutación somática. Los



resultados del AMOVA mostraron 0.04% y 3.07% de la diferenciación genética entre los tres sitios estudiados. La mayor variación genética encontrada sobre cada tronco de árbol y la poca variación entre troncos de árboles y sitios, sugiere una estructura genética de tipo metapoblacional.

Keywords: Lacandona, Chiapas, Neotropics, liverworts, *Bryopteris*, epiphytes, genetic structure.

In order to make predictions about the nature of evolutionary process in natural populations, information is needed about genetic traits within the population (Ayala, 1977; Shaw, 1991). Genetic variation within populations is critical for coping with environmental changes and for long term survival of a species (Vida, 1994). Ecological factors affecting reproduction and dispersal are likely to be particularly important in determining the non random distribution of alleles and genotypes in space and time thus, its genetic structure (Loveless and Hamrick, 1984; McCauley, 1991). Plants have limited mobility, and it may imply that their genetic structure is a representation of their spatial structure (Loveless and Hamrick, 1984). In flowering, plants genetic structure is influenced by clonal reproduction, mating systems, and patterns of seed dispersal, as well as colonization and population density (Hamrick and Nason, 1996).

Deforestation and forest degradation is greatest in tropical regions and habitat loss is the fastest-growing threat to species and populations and land (Bierregaard et al., 1992; Aldhous, 1993; Millenium Ecosystem Assessment Board, 2005; Laurance, 2007). This destruction is resulting in mosaics of forest patches of different sizes within a heavily modified landscape (Saunders et al., 1991; Murcia, 1995; Laurance, 2004; Cayuela et al., 2006; Zartman et al., 2006). Much research has helped to understand the effect of this fragmentation on living organisms from different points of view (eg. Young et al., 1996; Laurance, 2001). Due to forest fragmentation, populations of many plant species are smaller and more isolated from each other. Decreased size and increased isolation of remnant populations after such changes may have important consequences for the genetic structure of plants (e.g. Young et al., 1996; Sih et al., 2000).

Epiphytic bryophyte populations naturally grow on habitats that are limited in time and in space (Herben, 1994) in discrete patches (Laube and Zotz, 2007); this means they live in habitats that are naturally fragmented. Epiphytes may be useful tools in helping understand the genetic effects of tropical forest fragmentation. Bryophyte epiphytes may



be useful too to establish research methodologies that will help to determine the long term impacts of habitat insularity that can be potentially helpful for developing general conservation priorities for all plant groups (Pharo and Zartman, 2007). Understanding the levels of genetic variation is also a way to understand the ability of a plant to respond evolutionary to environmental change (Hassel et al., 2005). The objective of this study is to determine the genetic variation of *Bryopteris filicina* (Sw.) Nees growing on tree trunks of the Selva Lacandona, Chiapas, Mexico, using RAPDs. The genetic variation of *B. filicina* was studied at three levels: 1) within trunks (i.e. patches growing along a tree trunk), 2) between tree trunks and 3) among three study sites in the Lacandona region (Fig. 1).

After flowering plants, bryophytes (mosses, liverworts and anthoceros) are the second most important group of plants in terms of number of species (Mishler, 2001). Also, it has been recognized the important role they play in some terrestrial ecosystems (e.g. Clark et al., 1998, 2005; Gradstein et al., 2001a; Stuntz et al., 2002; Hölscher et al., 2004; Holz and Gradstein, 2005). Nevertheless, few are the studies that focus on the biology of tropical species (but see León-Vargas, 2006; Zartman et al., 2006; Equihua and Equihua, 2007). Dispersal in liverworts is poorly studied (but see Longton and Schuster, 1983; Equihua, 1987; Parsons et al., 2007), but it is known that the production of asexual propagules as cladia, gemmae and brood branches are common in leafy liverworts. Cladia, brood branches or any other asexual propagule, are not likely to be effective for long-distance dispersal, but for maintaining local stands where sexual reproduction is impossible (Equihua, 1987; Longton and Schuster, 1983; Söderström and During, 2005; Pohjamo et al., 2006) or very reduced. On the other side, sexually produced spores are frequently associated with long-distance dispersal (During and van Tooren, 1987; Pohjamo et al., 2006). Spore dispersal is enhanced with the aid of elaters, that are hygrosopic structures within the sporophyte that help project spores into the air.

Studies to determine the genetical variation of bryophytes have increased in recent years (for reviews see Shaw, 1991, and 2000); but few of them focus on tropical species (but see Zartman et al., 2006). New molecular tools have opened the opportunity to increase the number of studies with these plants, because large amounts of material are no longer needed (Aagard et al., 1998; De Luna et al., 1999; Pedersen et al., 2006), and dry material can be used. Also, methods that use molecular markers



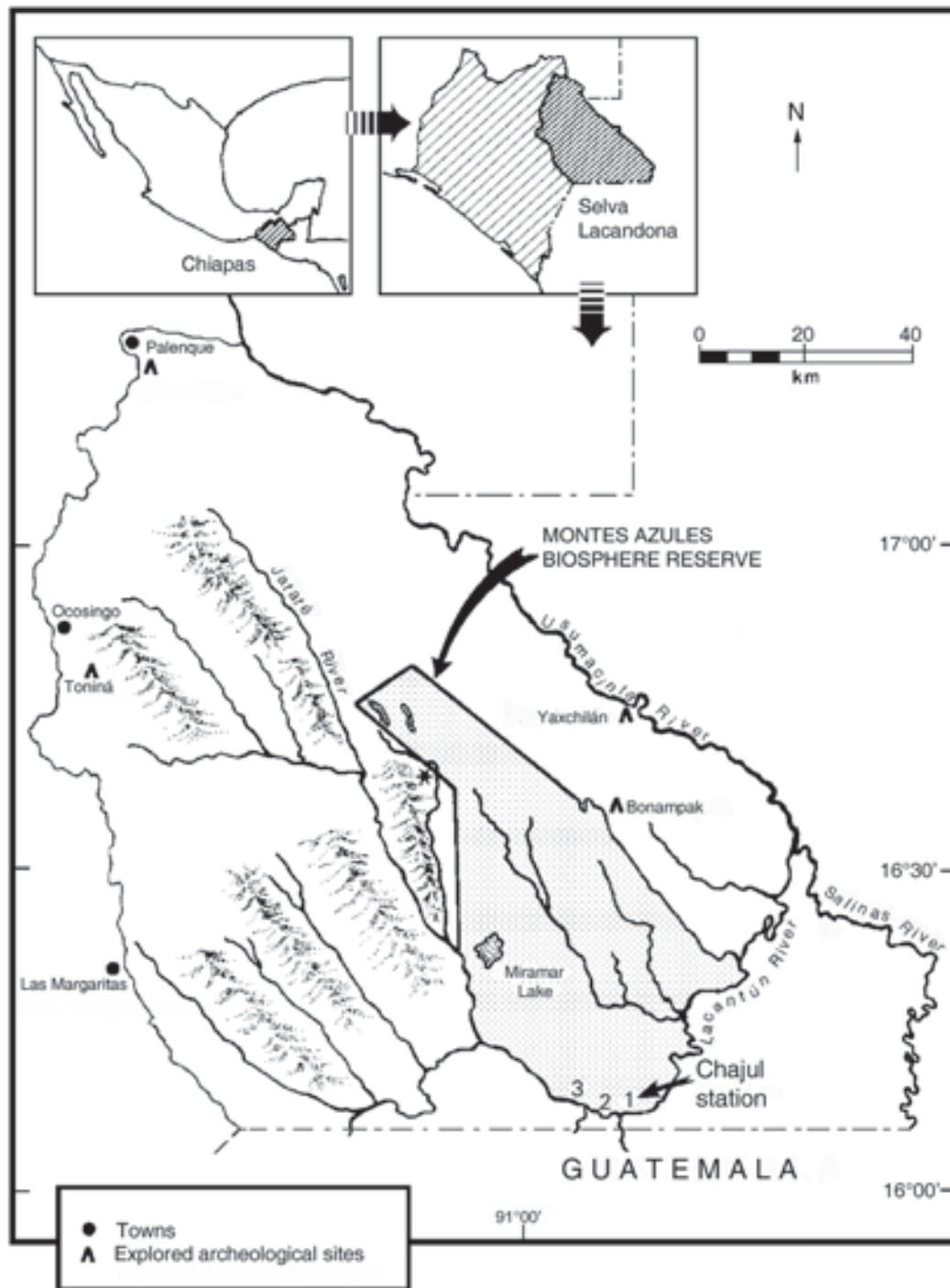


Figure 1. Study sites 1) Chajul Biological Station, 2) Loma Bonita Ruins and 3) Ixcán, in the Selva Lacandona, Chiapas, Mexico.



like the random amplified polymorphic DNA, or RAPDs, are useful to assess genetic diversity within and between populations (Williams et al., 1990). RAPDs are good tools also because they tend to provide more diagnostics on populations, race or species-specific markers (Aagard et al., 1998). Besides, RAPDs are good markers for population studies of clonal plants (Otero-Arnaiz et al., 1997; Chen et al., 2006), and generally, are useful because they are more sensitive indicators of genetic variation than allozymes (Aagard et al., 1998; Sun and Wong, 2001). The use of RAPD markers has become a good technique to analyze bryophyte populations (e.g. Skotnicki et al., 1999; Scott and Crandall-Stotler, 2002; Chen et al., 2006, and Zhu et al., 2007, among others), in part because their haploid generation is dominant and the expression masking heterozygotes is avoided (Boisselier-Dubayle et al., 1995).

Several studies have demonstrated that bryophytes have as much genetic variation as angiosperms (for reviews see Wyatt, 1982 y 1994; Shaw, 2000). But, comparing between mosses and liverworts, the first group has more variation than the second one (Shaw, 2000). *Bryopteris filicina* is a dioecious species that frequently reproduces vegetatively (Gradstein, 1994). It is a good indicator of humidity conditions and of the quality of the forest where it lives (Equihua and Equihua, 2007). There is no information on the population genetics of *B. filicina*, but considering that it is a species that probably relays on recruitment of clonal individuals to maintain its local populations (i.e. along a tree trunk), we expected to find little or no genetic variation between gametophytes growing on the same trunk (Wyatt, 1994). Because *B. filicina* is a species that propagates asexually (Gradstein, 1994), all the gametophytes covering the same tree trunk should come from the same plant. Also we expected to find a small amount of genetic structure among the patches growing on different tree trunks and among the three studied sites, as it has been reported in other studies of bryophytes (Wyatt, 1994; Zartman et al., 2006). This small genetic structuring of the populations will be due to an increase in genetic variation because plants are established from spores on each tree trunk.

Methods

Study site

The Selva Lacandona is in the east portion of the state of Chiapas, Mexico. It includes the largest remnant of tropical rain forest in the country, stretching into Guatemala and Belize and is the most extensive



tract of this biome in Mesoamerica (Mendoza and Dirzo, 1999). The Montes Azules Biosphere Reserve has 331 200 ha of the Lacandona region. The area is estimated to contain approximately 20% of Mexico's total species diversity (Medellín, 1996, Mendoza and Dirzo, 1999). Despite its richness and biological importance, the Selva Lacandona suffers one of the highest deforestation rates in Mexico (O'Brien, 1998; Mendoza and Dirzo, 1999). This study was conducted in the areas surrounding the Chajul Biological Station (16° 6' N, 90° 56' W, 120 masl), the Loma Bonita Archaeological site (16° 6' N, 91° 0' W, 130 masl; Loma Bonita from now on) and Ixcán station (16° 7' N, 91° 5' W, 170 masl; Fig. 1, Equihua and Equihua, 2007). The area is covered with lowland tropical rain forest (Medellín, 1996) as part of the floristic province of the coast of the Gulf of Mexico (Rzedowski, 1978).

The rain forest in the Chajul, Ixcán and Loma Bonita sites is multilayered with emergent trees more than 25 m tall (Medellín and Equihua, 1998; Equihua and Equihua, 2007). Canopy trees include *Dialium guianense*, *Vatairea lundellii*, *Brosimum alicastrum*, *Ampelocera bottlei*, *Guarea glabra*, *Spondias mombin* and *Licania platypus*, among others. Understory taxa include several species of each *Heliconia*, *Chamaedorea*, *Geonoma*, and young trees of *Psychotria*, and *Quararibea*. Canopy closure is about 80%. Distance between Chajul and Loma Bonita is 7.1 km, between Chajul and Ixcán is 15.6 km, and Loma Bonita and Ixcán is 8.6 km (Fig. 1).

Bryopteris filicina

Is a foliose liverwort in the Lejeuneaceae. It is widely distributed in the Neotropics as an epiphyte in disturbed and non disturbed rain forests from sea level up to 2 500 masl (Gradstein, 1994). It is dioecious (occasionally monoecious; Gradstein, 1994) and can propagate through vegetative propagules such as cladia. Plants of *B. filicina* are up to 25 cm long and usually feather like. The species growth is dendroid, with a creeping rhizome and erect fronds (Gradstein, 1994, Gradstein et al., 2001b). For the purpose of this study gametophytes covering the same trunk are defined as a patch. Voucher specimens are deposited at the National herbarium of Mexico (MEXU).

Sampling

A total of 451 trees were examined for the presence of the species along trails surrounding the Chajul Biological Station, Loma Bonita and Ixcán (Fig 1, Equihua and Equihua, 2007), but the species was found on



142. To determine how *B. filicina* was distributed along the tree trunks a Canfield line method was used (Mueller-Dombois and Ellenberg, 1974) placing a measuring tape from the trunk base to 2 m of height over the *B. filicina* patch (Equihua and Equihua, 2007). We studied genetic variability of the *B. filicina* gametophytes found on a random sample of the 142 trees sampled for spatial distribution described in Equihua and Equihua (2007). Thirty trees from each site were chosen randomly for the collection of live material for genetic analysis. Samples of gametophytes were taken at three points along the Canfield line: one at the highest point, another in the middle and a third one on the lowest point of the *B. filicina* patch; no centimeter measurement was recorded for each of these collected specimens. A total of 270 samples were collected for genetic analysis. The material was air dried on paper envelopes as described for herbarium specimens (Delgadillo, 1986), to later work on the laboratory for DNA extraction and RAPD analyses.

Genetic analysis

Total DNA for was obtained using a modification from González and Vovides (2002). *B. filicina* gametophytes were checked under the microscope to eliminate any bark or other plant material, then they were cleaned with distilled water to eliminate dust. We obtained between 0.1 and 0.3 g of plant tissue that was then made into pulp with a pestle, mortar and liquid nitrogen. 700 µl CTAB 2x were added and grinding continued until the plant material was made into a pulp. This pulp was transferred to an Eppendorf tube and the mixture was incubated for 10 minutes at 65° C. Afterwards, 700 µl Chloroform-isoamidic alcohol were added to centrifugate (10 000 rpm, 10 minutes). About 200 µl of supernatant were recovered and then 500 µl of cold Isopropanol were added. The solution was stored at 20° C for 30 minutes. Precipitated DNA was recovered, then centrifuged for 10 min at 10 000 rpm. The supernatant was discarded and the DNA pellet was washed with 500 µl 70% ethanol and then centrifuged (7 000 rpm, 5 min). Ethanol was discarded and the DNA pellet was left to dry under sterile conditions. DNA extract was suspended in 100 µl bidistilled sterile water. After DNA was suspended 20 µl of RNAsa were added and incubated for 30 minutes.

We used Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD). Amplifications with polymerase chain reaction (PCR) were performed on the DNA extractions of 270 samples. We tested twenty-eight primers (operon kits A, C, F, and G), and selected two: OP-F10, and OP-F14, to



use with *B. filicina* samples from the Lacandon. The amplification was set with taq (GibcoBRL) and carried out in an automated PTC-100 MJ Research thermal cycler. Two ml of purified DNA were subjected to 35 PCR cycles in 25 μ l of reaction volume, of which 17 μ l were bidistilled water, 5.07 μ l of master stock (1.38 μ l purified water, 2.6 μ l of buffer (GibcoBRL; pH 8.4), 0.05 μ l of MgCl₂ (1 M); and 0.26 μ l (0.1 μ l (0.1 mM) of each dNTPs of Pharmacia), 2.0 μ l of primer, and 0.75 μ l of taq. Amplification reactions of the target DNA were conducted in the thermal cycle. To carry out the PCR, the solution was kept for 4 min at 94 C, and then 35 cycles, each of 45 sec at 93 C, 45 sec at 40 C and 1 min 30 sec at 72 C. Amplified fragments were then separated with electrophoresis in 1.4% agarose gel with 0.5 X TBE running buffer at 3.5 v/cm. We then stained the gels with ethidium bromide (EtBr) and these were viewed under UV light to be later photographed. Visualizing the amplified fragments was helpful to select those that were sufficiently amplified and had clearly identifiable bands. The software used was UPV v. 3.0.2 (LabWorks, 1999). Each polymorphic band was scored independently as present (1) or absent (0). With these data we then constructed a binary data matrix for subsequent analysis. Bands that could not be scored unambiguously were excluded. All bands that had the same mobility according to molecular weight (bp) were considered that represented the phenotype at homologous loci.

Statistical analyses

The binary matrix was analyzed using PopGene32 (Yeh et al., 1999) to calculate estimates of gene frequency, mean observed allele number, percentage of polymorphic loci (% PPL), estimates of Shannon's diversity index (I), coefficient of gene differentiation (G_{st}) calculated with F-statistics (Nei, 1978). TFPGA was used to construct a dendrogram to see overall tree and site similarity, with 1 000 bootstraps. The Analysis of Molecular Variance (AMOVA) was used to describe the genetic structure and variability within and among populations (Excoffier et al., 2005).

Results

A total of 90 trees were sampled for collecting of live material for RAPD analyses in the areas of Chajul, Loma Bonita and Ixcán. DNA was extracted from 30 trees from each site (three samples from each tree for a total of 270). Samples ranged from 1 to 200 ng of DNA. Twenty six loci were resolved, 12 for OP-F10 and 14 for OP-F14 (Fig. 2), from



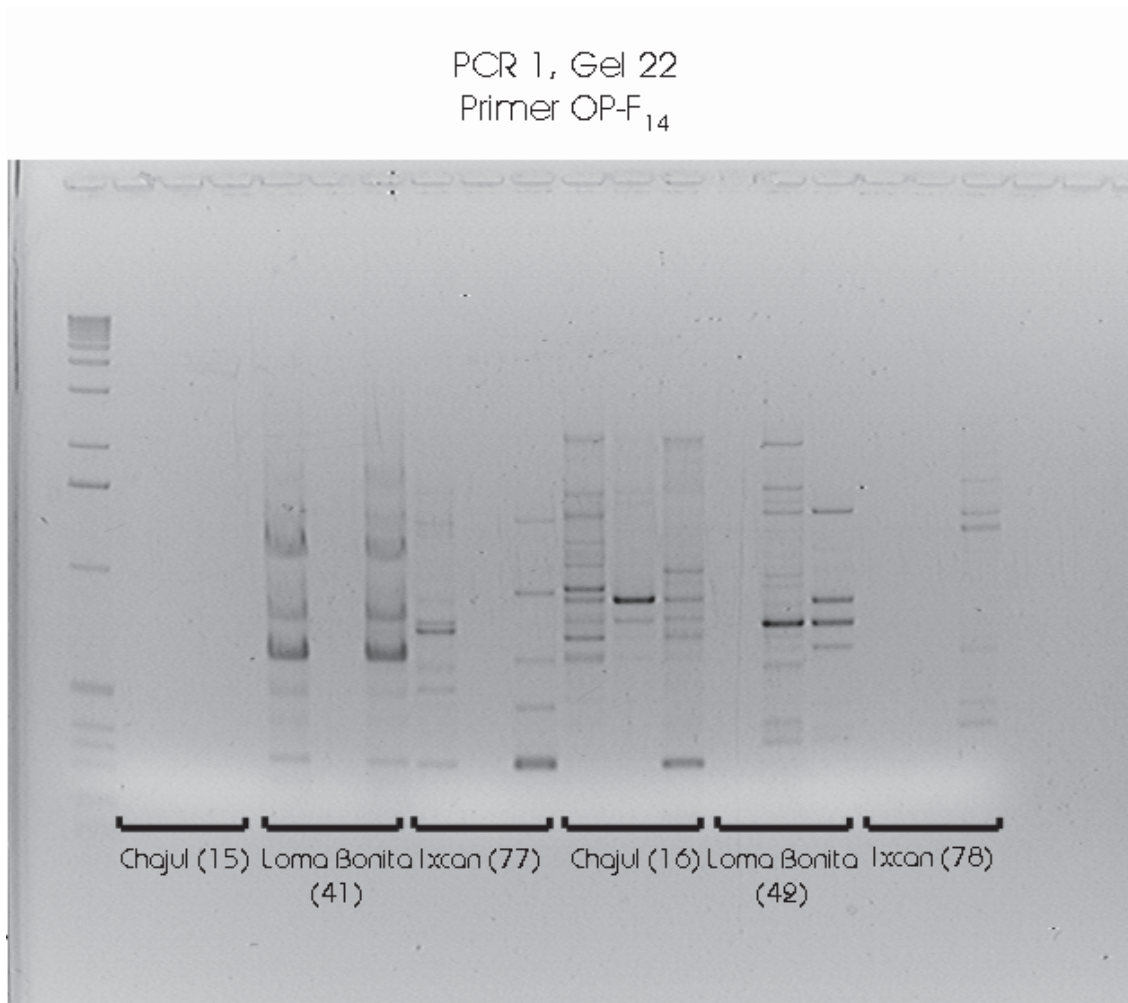


Figure 2. RAPD phenotypic patterns of *Bryopteris filicina* using primer OP-F14, from the Selva Lacandona, Chiapas, Mexico. Sample number is included and were run in series (enclosed by a brakett under each series) from collections done along a Canfield line: highest point (top, first sample), middle point (second sample), and lower point (third sample).

77 trees (a total of 172 samples: 39 from Chajul, 67 from Loma Bonita and 66 from Ixcán).

Genetic variation within and between trees in each site

A total of 156 RAPD phenotypes were found in the samples that amplified RAPD bands (37 in Chajul, 61 in Loma Bonita and 63 in Ixcán). The distribution of RAPD phenotypes at different heights in the different sites is in Table 1. The largest number of RAPD phenotypes was found on the bottom of the trees from Loma Bonita Ruins and on the middle

Table 1. *Bryopteris filicina* RAPD phenotypes found at different heights on the three studied sites in the Selva Lacandona Region, Mexico.

Site-height	Number of RAPD phenotypes
Chajul top (n=10)	10
Chajul middle (n=13)	13
Chajul bottom (n=16)	16
Loma Bonita Ruins top (n=20)	20
Loma Bonita Ruins middle (n=20)	20
Loma Bonita Ruins bottom (n=25)	24
Ixcán top (n=20)	20
Ixcán middle(n=23)	23
Ixcán bottom (n=23)	23

and bottom of the trees from Ixcán (24, 23, and 23 respectively). Almost every sample had its own RAPD phenotype.

Table 2 includes, for each tree, mean observed number of alleles (n_a), Shannon's Information index (I , Lewontin, 1972), number and percentage of polymorphic loci (PPL%). The mean observed number of alleles (n_a) ranged from 0 (for sets with one sample with amplified bands $n = 1$) to 1.69 in samples 17 and 42, both from Loma Bonita Ruins and that amplified bands on the sets of three samples ($n = 3$). Mean Shannon's Information index varied from 0 (in all trees with $n = 1$) to 0.44 from samples 17 and 42. The smallest percentage of polymorphic loci was found in tree 27 from the Ruins of Loma Bonita PPL% = 3.85 and trees 10, 49, 58, 61 and 75 from the three areas (PPL% = 7.69). The largest values were found on trees 17 and 42 (PPL% = 69.23). Gene diversity on those trees where only one of the three samples amplified bands was not estimated. A large percentage of polymorphic loci and large Shannon's index values indicate that there is more genetic variation in that set of samples.

The coefficient of gene differentiation (G_{st}) was calculated for all sets of two or three samples per tree and all of them showed a value of $G_{st} = 1$ (not included in Table 2), which means that there is a strong differentiation between gametophytes growing on a same tree. Exceptions were found on trees number 4 and 21 from Chajul and 61 from Ixcán, because their genetic identity (Nei 1978) was 1, meaning that the gametophytes analysed in that set of samples are clonal. General similarity among trees is shown in Figure 3. Trees did not group by site.



Table 2. Mean genetic diversity found in samples of *Bryopteris filicina* growing on trees from Chajul, Loma Bonita Ruins (LB Ruins), and Ixcán, in the Selva Lacandona region, Chiapas, Mexico. Samples were taken along a Canfield line on the highest point (top), on the middle and on the bottom of the area covered by *B. filicina* gametophytes. We only show samples with amplified bands. n = number of samples per tree with amplified bands, na = Mean observed number of alleles, I = Mean Shannon's Information index [Lewontin (1972)], PPL% = Percentage of polymorphic loci.

Site	Tree #	Placement of samples with bands	n	na (sd)	I (sd)	PPL%
	1	middle	1	1.00 (0.00)	0.00 (0.00)	0.00
	2	bottom	1	1.00 (0.00)	0.00 (0.00)	0.00
	3	middle	1	1.00 (0.00)	0.00 (0.00)	0.00
	4	middle, bottom	2	1.00 (0.00)	0.00 (0.00)	0.00
	5	bottom	1	1.00 (0.00)	0.00 (0.00)	0.00
	6	top, bottom	2	1.38 (0.50)	0.27 (0.34)	38.46
C	7	top, middle, bottom	3	1.65 (0.49)	0.42 (0.31)	65.38
H	8	top	1	1.00 (0.00)	0.00 (0.00)	0.00
A	9	top, middle, bottom	3	1.62 (0.50)	0.39 (0.32)	61.54
J	10	top, middle	2	1.08 (0.27)	0.05 (0.19)	7.69
U	11	middle, bottom	2	1.27 (0.45)	0.19 (0.31)	26.92
L	12	top, middle, bottom	3	1.27 (0.45)	0.17 (0.29)	26.92
	13	middle	1	1.00 (0.00)	0.00 (0.00)	0.00
	14	bottom	1	1.00 (0.00)	0.00 (0.00)	0.00
	15	bottom	1	1.00 (0.00)	0.00 (0.00)	0.00
	16	bottom	1	1.00 (0.00)	0.00 (0.00)	0.00
	17	top, middle, bottom	3	1.69 (0.47)	0.44 (0.30)	69.23
	18	top, middle, bottom	3	1.65 (0.49)	0.42 (0.31)	65.38
	19	top, middle, bottom	3	1.38 (0.50)	0.24 (0.32)	38.46
	20	bottom	1	1.00 (0.00)	0.00 (0.00)	0.00
	21	top, middle, bottom	3	1.27 (0.45)	0.17 (0.29)	26.92
	22	middle, bottom	2	1.15 (0.37)	0.11 (0.26)	15.38
	23	bottom	1	1.00 (0.00)	0.00 (0.00)	0.00
	24	top, bottom	2	1.31 (0.47)	0.21 (0.33)	30.77
	25	bottom	1	1.00 (0.00)	0.00 (0.00)	0.00
L	26	top, middle, bottom	3	1.46 (0.51)	0.29 (0.32)	46.15
B	27	top, middle	2	1.04 (0.20)	0.03 (0.14)	3.85
	28	top, middle, bottom	3	1.38 (0.50)	0.24 (0.32)	38.46
R	29	top, middle, bottom	3	1.23 (0.43)	0.15 (0.27)	23.08
U	30	top, middle, bottom	3	1.42 (0.50)	0.27 (0.32)	42.31
I	31	top, middle, bottom	3	1.58 (0.50)	0.37 (0.32)	57.69
N	32	middle	1	1.00 (0.00)	0.00 (0.00)	0.00
S	33	top, middle, bottom	3	1.42 (0.50)	0.27 (0.32)	42.31
	34	top	1	1.00 (0.00)	0.00 (0.00)	0.00
	35	top, middle, bottom	3	1.38 (0.50)	0.24 (0.32)	38.46
	36	top, bottom	2	1.50 (0.51)	0.35 (0.35)	50.00
	37	top, middle, bottom	3	1.31 (0.47)	0.20 (0.30)	30.77
	38	bottom	1	1.00 (0.00)	0.00 (0.00)	0.00
	39	top, middle, bottom	3	1.58 (0.50)	0.37 (0.32)	57.69
	40	middle, bottom	2	1.35 (0.49)	0.24 (0.34)	34.62
	41	top, middle, bottom	3	1.12 (0.33)	0.07 (0.21)	11.54

Table 2. Cont...

Site	Tree #	Placement of samples with bands	n	na (sd)	I (sd)	PPL%
	42	top, middle, bottom	3	1.69 (0.47)	0.44 (0.30)	69.23
L	43	middle	1	1.00 (0.00)	0.00 (0.00)	0.00
B	44	top, bottom	2	1.42 (0.50)	0.29 (0.35)	42.31
	45	top, middle, bottom	3	1.54 (0.51)	0.34 (0.32)	53.85
R	46	top, bottom	2	1.38 (0.50)	0.27 (0.34)	38.46
U	47	bottom	1	1.00 (0.00)	0.00 (0.00)	0.00
I	48	top, middle, bottom	3	1.35 (0.49)	0.22 (0.31)	34.62
N	49	top, middle, bottom	3	1.08 (0.27)	0.05 (0.17)	7.69
S	50	bottom	1	1.00 (0.00)	0.00 (0.00)	0.00
	51	top, middle, bottom	3	1.23 (0.43)	0.15 (0.27)	23.08
	52	top, middle, bottom	3	1.35 (0.49)	0.22 (0.31)	34.62
	53	top, middle	2	1.31 (0.47)	0.21 (0.33)	30.77
	54	top, middle, bottom	3	1.19 (0.40)	0.12 (0.26)	19.23
	55	top, middle, bottom	3	1.54 (0.51)	0.34 (0.32)	53.85
	56	top, middle, bottom	3	1.12 (0.33)	0.07 (0.21)	11.54
	57	top, middle, bottom	3	1.46 (0.51)	0.29 (0.32)	46.15
	58	middle, bottom	2	1.08 (0.27)	0.05 (0.19)	7.69
	59	top, middle, bottom	3	1.23 (0.43)	0.15 (0.27)	23.08
	60	top, middle, bottom	3	1.35 (0.49)	0.22 (0.31)	34.62
	61	top, middle, bottom	3	1.08 (0.27)	0.05 (0.17)	7.69
	62	top, middle, bottom	3	1.58 (0.50)	0.37 (0.32)	57.69
	63	top, bottom	2	1.12 (0.33)	0.08 (0.23)	11.54
I	64	bottom	1	1.00 (0.00)	0.00 (0.00)	0.00
X	65	top, middle, bottom	3	1.54 (0.51)	0.34 (0.32)	53.85
C	66	top, middle, bottom	3	1.58 (0.50)	0.37 (0.32)	57.69
Á	67	top, middle, bottom	3	1.54 (0.51)	0.34 (0.32)	53.85
N	68	middle, bottom	2	1.19 (0.40)	0.13 (0.28)	19.23
	69	top, middle, bottom	3	1.42 (0.50)	0.27 (0.32)	42.31
	70	top, middle, bottom	3	1.46 (0.51)	0.29 (0.32)	46.15
	71	top, middle, bottom	3	1.50 (0.51)	0.32 (0.32)	50.00
	72	top, middle, bottom	3	1.54 (0.51)	0.34 (0.32)	53.85
	73	top, middle, bottom	3	1.15 (0.37)	0.10 (0.23)	15.38
	74	middle	1	1.00 (0.00)	0.00 (0.00)	0.00
	75	top, middle, bottom	3	1.08 (0.27)	0.05 (0.17)	7.69
	76	bottom	1	1.00 (0.00)	0.00 (0.00)	0.00
	77	middle	1	1.00 (0.00)	0.00 (0.00)	0.00
	TOTAL		172	2.00 (0.00)	0.57 (0.11)	100.00



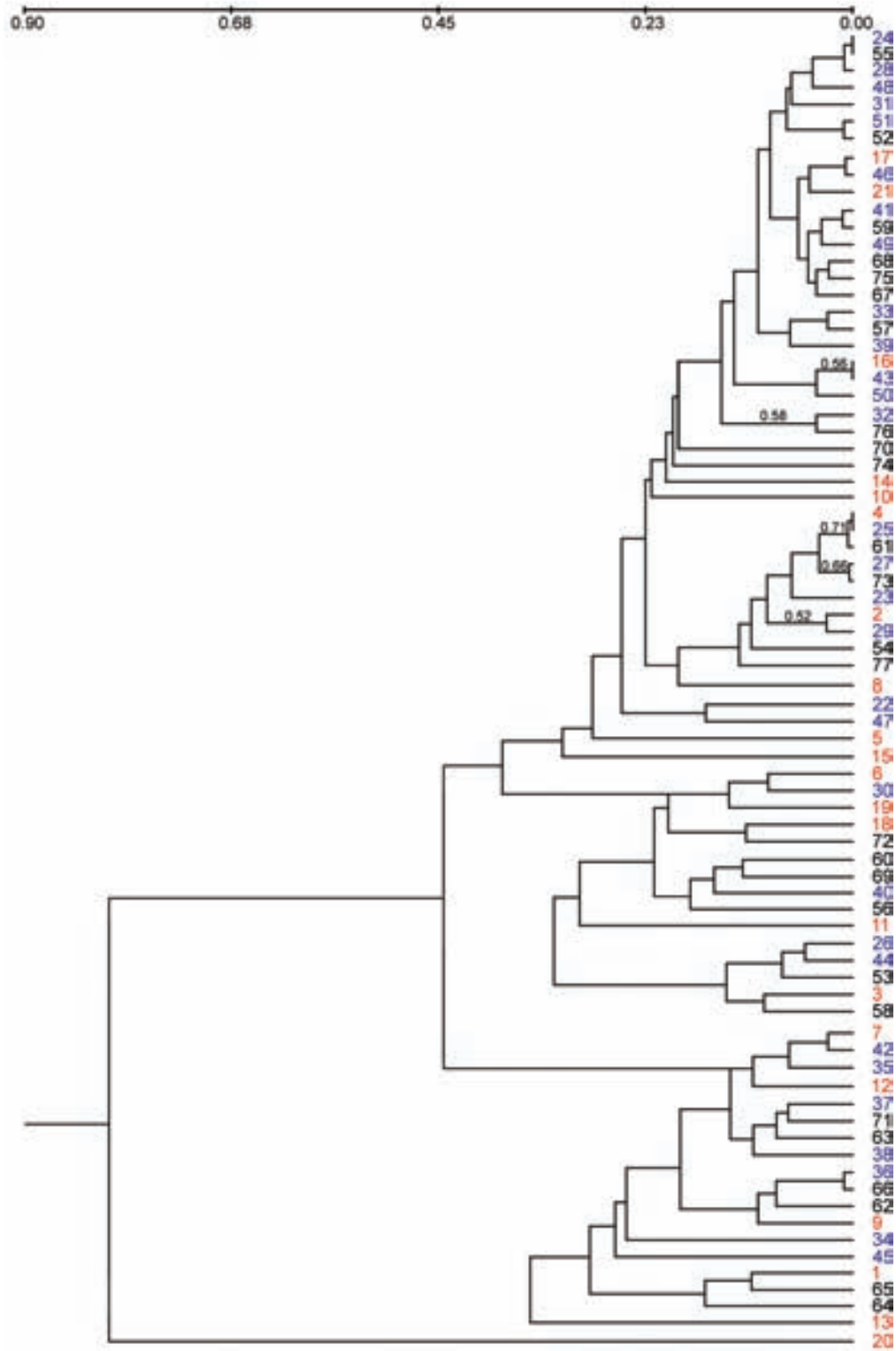
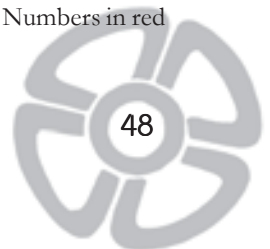


Figure 3. Dendrogram based Nei's (1978) genetic distance. UPGMA obtained from TFPGA. Data are from *Bryopteris filicina* RAPD phenotypes from each tree from the Lacandon Forest, Chiapas, Mexico. Numbers in red are from Chajul, blue from Loma Bonita Ruins and black from Ixcán.



Genetic variation between sites

From the 156 RAPD phenotypes 34 were specific to Chajul, 57 to Loma Bonita and 61 to Ixcán. The overall percentage of polymorphic loci for Chajul, Loma Bonita and Ixcán is 100%. The population with the largest variation was Chajul ($I = 0.60$; Table 3). Chajul also had the largest coefficient of differentiation ($G_{st} = 0.77$), but G_{st} is also large in Loma Bonita and Ixcán (0.67 and 0.65, respectively). This value indicates that there is a strong differentiation between *B. filicina* gametophytes growing between trunks of each Chajul, Loma Bonita and Ixcán.

Table 3. Mean genetic diversity found in *Bryopteris filicina* growing on different trees from three sites from the Selva Lacandona region, Chiapas, Mexico. Mean observed number of alleles = na; mean Shannon's Information index [Lewontin (1972)] = I; mean coefficient of gene differentiation G_{st} .

	n	na* (sd)	I (sd)	G_{st}
Chajul	39	2.00 (0.00)	0.60 (0.10)	0.77
Loma Bonita Ruins	67	2.00 (0.00)	0.56 (0.13)	0.67
Ixcán	66	2.00 (0.00)	0.56 (0.13)	0.65
Total	172	2.00 (0.00)	0.57 (0.11)	0.01

Overall similarity within the three sites is presented in a dendrogram (Figure 4): Chajul and Loma Bonita are clustered together. Both sites are also closer geographically. The three studied sites have small genetic distances (< 0.02) and they are not significant.

An AMOVA was performed in order to establish the significance between the genetic variation of *Bryopteris filicina* gametophytes within and between sites (Table 4). AMOVA results showed that most of the variation is within trees (98.69%), this means a patch covering a single trunk is not from clonal propagation. Whereas the percentage of variance between sites and among trees within sites is non significant (0.04% and 3.07%, respectively).

Discussion

In this study RAPD markers, in general, gave good results with little material, but sometimes it was impossible to determine if the lack of amplification in some gels was because DNA was of bad quality or because gel resolution was poor (Scott and Crandall-Stotler, 2002). There were large differences in the amount of DNA produced from the collected



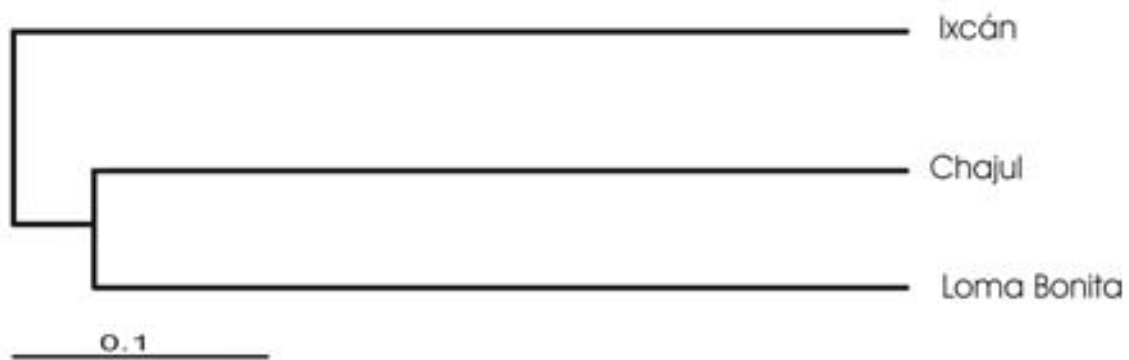


Figure 4. Dendrogram based Nei's (1978), genetic distance: Method = UPGMA obtained from PopGene32. Data from *Bryopteris filicina* RAPD phenotypes from each site from the Lacandon Forest, Chiapas, Mexico.

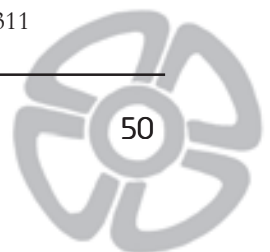
material (from 1 to 200 ng), that then reduced the possibilities to test more primers. Only OP-F10 and OP-F14 showed strongly amplified bands, representing a total of 26 loci. Nevertheless, in this case, these 26 loci were used to calculate the genetic variation in *Bryopteris filicina*, because the sample size is within the levels of adequate variance needed to perform robust statistical analysis of the data (Aagaard et al., 1998). Therefore our amount of RAPD phenotypes (156 for a total of 171 samples) found in our study is appropriate for this analysis (Fisher et al., 2000).

Genetic variation within and between trees in each site

Results on the genetic variation of *Bryopteris filicina* presented in this paper demonstrate that there is high genetic variation within each trunk (Table 2). Contrary to what has been reported in other dioecious species (Gunnarson et al., 2005), *Bryopteris filicina*, in general, has large genetic variability on a single tree trunk. These results suggest that the species varies within a trunk either because each patch is established from different spores (or propagules from different origin) landing on the same tree (Shaw,

Table 4. Results of AMOVA analysis of 172 *Bryopteris filicina* samples collected from trees from Selva lacandona Region, Chiapas, México.

Source of variation	d.f.	Sum of squares	Variance components	% variation	Fixation index p < 0
Among sites	2	1.06	0.00017	0.04	0.0004
Among trees within sites	74	38.3	0.015	3.07	0.0308
Within trees	93	45	0.483	96.89	0.0311
Total	169	84.365	0.499		



2000), because there is somatic mutation (Sutherland and Watkinson, 1986; Chen et al., 2006) or due to homoplasy (Angers et al., 2000).

The largest variation of 96.89% was found within trees as the source of variation in the AMOVA analysis. This percentage shows that there is an important source of variation within a patch (i.e. homoplasy and/or mutation). Due to the dominance of the haploid gametophytic phase in *B. filicina*, mutation accumulation inherited via sexual reproduction may be absent (Wyatt, 1992); nevertheless somatic mutations may play an important role as a source of variation in mosses (Skotnicki et al., 1998 and 1999; Chen et al., 2006) and other bryophytes. None of the specimens collected for this project or during a bryofloristic inventory of the area turned out any sporophytes (C. Equihua pers. obs.). Detailed observations are needed in order to determine if *B. filicina* gamete and spore production is frequent, as well as experiments to see how successfully they establish on tree trunks. It has been mentioned that *B. filicina* frequently produces cladia that propagate vegetatively (Gradstein, 1994), but the results presented here do not indicate that the species strongly depends on this reproductive system to maintain itself on a trunk.

Somatic mutation refers to mutations arising in tissues not involved in gamete production. In plants, they can be expressed in gametes for sexual reproduction or independently in clonal propagation. These mutations represent a source of genetic variation for the population as well as a source of within-individual variation (Orive, 2001). Demographic studies will also help understand *B. filicina* gametophyte establishment and growth within a single trunk. In order to determine the role that somatic mutations play in increasing the variability within a gametophyte, experiments establishing cultures can be a good option. Later it can be tested if there is differential gametophytic growth, and the possibility of genetic variation within an individual, to then determine if this variability may be inherited sexually or asexually (Sutherland and Watkinson, 1986).

We refer to homoplasy in populations that have alleles of the same size (they are identical in state) but that are not identical by descent (Angers et al., 2000; Selkoe and Toonen, 2006). In order to detect if the variation found in *Bryopteris filicina* within trees is due to homoplasy, further research is needed by sequencing alleles (Selkoe and Toonen, 2006) or using the single-strand conformation polymorphism method suggested by Angers et al. (2000). Also, the use of other molecular markers as microsatellites, can be a good alternative to answer some of these questions (Selkoe y Toonen 2006).



Genetic variation between sites

In the Lacandon region *Bryopteris filicina* grows on trees that are long lived and, in general, the species is more frequently found growing on forests in good conservation conditions (Equihua and Equihua, 2007). AMOVA results showed little differentiation between groups and among populations within groups (0.04% and 3%, respectively). Hassel et al. (2005) and Zartman et al. (2006) found also small values of genetic variability between populations of bryophytes in temperate and tropical ecosystems, respectively. Hassel et al. (2005), found little differentiation between geographical areas where the moss *Pogonatum dentatum* is distributed. They think that their findings are related to population accumulated history rather than to the present population size. In order to determine how much of the *Bryopteris filicina* populations' genetic structuring in the Lacandona it is due to historical or local colonization and extinction events a phylogeographical analysis may be the adequate approach (Knowles and Maddison, 2002).

For Harrison and Hastings (1996), however, low levels of genetic differentiation between populations that live naturally in fragmented conditions (i.e., metapopulations) depend on the turnover rates of the species. Thus, for them high rates of dispersal and gene flow will show little population differentiation. Our experimental design and marker choice, were not the appropriate tools to define which historical events are affecting the characteristics of *B. filicina* populations today. McCauley (1991) and McCauley et al. (1995) have suggested that the genetic variation of a species that depends on extinction and colonization events to maintain its population in an ecosystem will vary. This genetic variation will depend on the size of the colonizing structure (in the case of *B. filicina* spores vs vegetative propagules), the number of places where the propagules are colonizing and their age (McCauley et al. 1995). In the case of *B. filicina* in the Lacandon area, this may be true, and this will explain why there is such a variation in the percentage of polymorphic loci. We agree with Wade and McCauley (1988) and Pannell and Charlesworth (2000) in the sense that these are open questions that still need to be tested empirically.

In order to understand the role that founder and extinction events have on the genetic variation of *Bryopteris filicina* populations, it would be relevant to study the successional process involved in its colonization and its maintenance on tree trunks in the Lacandon area. To date we don't know how much *B. filicina* depends on spores or cladia to disperse



around the forest, or the dispersal distance of each kind of propagule. In general there is little information on all the mechanisms involved to keep a population living on a tree or in a patch of forest.

We also need to know to what extent habitat reduction affects patch occupancy (Pharo and Zartman, 2007). All the arguments stated above, are key elements in the understanding of the process associated to the genetic variation and evolutionary potential of the species (Wade and McCauley, 1988), and probably of many of the epiphytes living in the Lacandon area.

Bryopteris filicina is a good indicator of high humidity microenvironmental conditions (Equihua and Equihua, 2007) and is a plant that is easily recognized, making it, in general a good study subject. No previous studies on the genetics of a liverwort has been done in the area (or in any Mexican rain forest) before, nor can we conclude in the sense of how is forest fragmentation affecting it. But this is the first step in helping understand genetic variation of the species and, in general, its evolutionary capacity. Besides, *B. filicina* (as well as other vascular and non vascular epiphytes) is a species that depends on other plants for its survival, this is: it depends on the three dimensional structure of the forest. All epiphytes are key structural components of what it means to be a tropical rain forest. Understanding the evolutionary forces that maintain healthy epiphytic populations may also help develop general conservation priorities for all plant groups in tropical ecosystems.

Acknowledgments

Thanks to R. Esteban for her help and training of the first author to perform lab work. Her patience and knowledge was fundamental in improving DNA extraction technique and in completing this work. To M. Villalobos (El Buho), M. and R. Lombera, A. Soler and E. Huerta for their assistance in the field. Laboratory help was also received from O. Rodríguez Ávila, and K. Sánchez. This research was partially funded by the Mc Arthur Foundation and the Laboratorio de Genética y Evolución at the Instituto de Ecología, UNAM.

Literature

Aagaard, J. E., K. V. Krtovskii, and S. H. Strauss. 1998. RAPDs and allozymes exhibit similar levels of diversity and differentiation among populations and races of Douglas-fir. *Heredity* 81: 69-78.



- Aldhous, P. 1993. Tropical deforestation: not just a problem in Amazonia. *Science* 259: 1390.
- Angers, B. A. Estoup, and P. Jarne. 2000. Microsatellite size homoplasy, SSCP, and population structure: a case study in the freshwater snail *Bulinus truncatus*. *Molecular Biology and Evolution* 17: 1926-1932.
- Ayala, F. J. 1977. The genetic structure of species. In T. Dobzhansky, F. J. Ayala, G. L. Stebbins, and J. W. Valentine [eds.], *Evolution*, 60-82. Freeman, San Francisco, USA.
- Bierregaard, R. O. Jr., T. E. Lovejoy, V. Kapos, A. A. dos Santos, and R. W. Hutchings. 1992. The biological dynamics of tropical rainforest fragments. A prospective comparison of fragments and continuous forest. *BioScience* 42: 859-866.
- Boisselier-Dubayle, M. C., M. F. Jubier, B. Lejeune, and H. Bischler. 1995. Genetic variability in three subspecies of *Marchantia polymorpha* (Hepaticae) : isozymes, RFLP and RAPD markers. *Taxon* 44, 363-376.
- Cayuela, L. D. J. Golicher, J. M. Rey-Benayas, M. González-Espinosa, and N. Ramírez-Marcial. 2006. Fragmentation, disturbance and tree diversity conservation in tropical montane forests. *Journal of Applied Ecology* 43: 1172-1181.
- Chen, J-M, W. R. Gituru, Y-H. Wang, and Q-F. Wang. 2006. The extent of clonality and genetic diversity in the rare *Caldesia grandis* (Alismataceae): comparative results for RAPD and ISSR markers. *Aquatic Botany* 84: 301-307.
- Clark, K. L., N. M. Nadkarni, D. Schaefer, and H. L. Gohlz. 1998. Atmospheric deposition and net retention of ions by the canopy in a tropical montane forest, Monteverde, Costa Rica. *Journal of Tropical Ecology* 14: 27-45.
- Clark, K. L., N. M. Nadkarni, and H. L. Gholz. 2005. Retention of inorganic nitrogen by epiphytic bryophytes in a tropical montane forest. *Biotropica* 37: 328-336.
- De Luna, E. A., E. Newton, A. Whitley, D. González, and B.D. Mishler. 1999. The transition to pleurocarpy: a phylogenetic analysis of the main Diplolepidous lineales based on *rbcL* sequences and morphology. *The Bryologist* 102: 534-650.
- Delgadillo M., C. 1986. Briófitas. In A. Lot and F. Chiang [eds.]. *Manual de herbario. Administración y manejo de colecciones, técnicas de recolección y preparación de ejemplares botánicos*, 77-82. Consejo Nacional de la Flora de México, A.C. Mexico.
- During, H. J., and B. F. van Tooren. 1987. Recent developments in bryophyte population ecology. *Trends in Ecology and Evolution* 2: 89-93.



- Equihua, C. 1987. Diseminación de yemas en *Marchantia polymorpha* L. (Hepaticae). *Cryptogamie Bryologie Lichenologie* 8: 199-217.
- Equihua, C., and M. Equihua. 2007. Spatial distribution of *Bryopteris filicina* on three trunks in the Selva Lacandona, Chiapas, Mexico. *The Bryologist* 110: 766-775.
- Excoffier, L. G., L. G. Laval, and S. Schneider. 2005. Arlequin ver. 3.0: an integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics Online* 1: 47-50.
- Fisher, M., R. Husi, D. Prati, M. Peintinger, M. van Kleunen, and B. Schmid. 2000. RAPD variation among and within small and large populations of the rare clonal plant *Ranunculus reptans* (Ranunculaceae). *American Journal of Botany* 87: 1128-1137.
- González D., and A. P. Vovides. 2002. Low Intralinear Divergence in *Ceratozamia* (Zamiaceae) Detected with Nuclear Ribosomal DNA ITS and Chloroplast DNA *trnL-F* Non-coding Region. *Systematic Botany* 27: 654-661.
- Gradstein, S.R. 1994. Lejeuneaceae: Ptychantheae, Brachiolejeuneae. Organization for Flora Neotropica. The New York Botanical Garden, Bronx, NY. USA.
- Gradstein, S. P., D. G. Griffin III, M. I. Morales, and N. M. Nadkarni. 2001a. Diversity and habitat differentiation of mosses and liverworts in the cloud forest of Monte Verde, Costa Rica. *Caldasia* 23: 203-212.
- Gradstein, S. P. Churchill, and N. Salazar-Allen. 2001b. Guide to the bryophytes of Tropical America. Memoirs of The New York Botanical Garden. Volume 86. Bronx, NY. USA.
- Gunnarson, U., K. Hassel, and L. Söderström. 2005. Genetic structure of the endangered peat moss *Sphagnum angermanicum* in Sweden: a result of historic or contemporary processes? *The Bryologist* 108: 194-203.
- Harrison, S., and A. Hastings. 1996. Genetic and evolutionary consequences of metapopulation structure. *Trends in Ecology and Evolution* 11: 180-183.
- Hamrick, J. L., and J. D. Nason. 1996. Consequences of dispersal in plants. In O. E. Rhodes, R. K. Chesser, and M. H. Smith [eds.], Population dynamics in ecological space and time, 203-236. University of Chicago Press. Chicago, IL. USA.
- Hassel, K., S. M. Sastad, U. Gunnarsson, and L. Söderström. 2005. Genetic variation and structure in the expanding moss *Pogonatum dentatum* (Polytrichaceae) in its area of origin and in a recently colonized area. *American Journal of Botany* 92: 1684-1690.
- Herben, T. 1994. The role of reproduction for persistence of bryophyte populations in transient and stable habitats. *Journal of the Hattori Botanical Laboratory* 76: 115-126.



- Hölscher, D., L. Köhler, A. I. J. M. van Dijk, and L. A. Bruijnzeel. 2004. The importance of epiphytes to total rainfall interception by a tropical montane rainforest in Costa Rica. *Journal of Hydrology* 292, 308-322.
- Holz, I., and S. R. Gradstein. 2005. Cryptogamic epiphytes in primary and recovering upper montane oak forest of Costa Rica - species richness, community composition and Ecology. *Plant Ecology* 178: 89-109.
- Knowles, L. L., and W. P. Maddison. 2002. Statistical phylogeography. *Molecular Ecology* 11: 2623-2635.
- LabWorks. 1999. UPV: Ultraviolet-products Ltd. (Version 3.2).
- Laube, S., and G. Zotz. 2007. A metapopulation approach to the analysis of long-term changes in the epiphyte vegetation on the host tree *Annona glabra*. *Journal of Vegetation Science* 18: 613-624.
- Laurance, W. F. 2001. Synergistic effects in fragmented landscapes. Introduction. *Conservation Biology* 15: 1488-1489.
- Laurance, W. F. 2004. Forest-climate interactions in fragmented tropical landscapes. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Biology* 359, 345-352
- Laurance, W. F. 2007. Have we overstated the tropical biodiversity crisis? *Trends in Ecology and Evolution* 22: 65-70.
- León-Vargas, Y., S. Engwald, and M. C. F. Proctor. 2006. Microclimate, light adaptation and desiccation tolerance of epiphytic bryophytes in two Venezuelan cloud forests. *Journal of Biogeography* 33: 901-913.
- Lewontin, R. C. 1972. The apportionment of human diversity. *Evolutionary Biology* 6: 381-398.
- Longton, R.E., and R. M. Schuster. 1983. Reproductive biology. In R. M. Schuster [ed.], *New Manual of Bryology*, 386-462. Hattori Botanical Laboratory, Nichinan, Japan.
- Loveless, M. D., and J. L. Hamrick. 1984. Ecological determinants of genetic structure in plant populations. *Annual Review of Ecology and Systematics* 15: 65-95.
- McCauley, D. E. 1991. Genetic consequences of local population extinction and recolonization. *Trends in Ecology and Evolution* 6: 5-8.
- McCauley, D. E. 1995. Local founding events as determinants of genetic structure in a plant metapopulation. *Heredity* 75: 630-636.
- Medellín, R. A. 1996. La Selva Lacandona. *Arqueología Mexicana* 4:64-69.
- Medellín, R. A., and M. Equihua. 1998. Mammal species richness and habitat use in rainforest and abandoned agricultural fields in Chiapas, Mexico. *Journal of Applied Ecology* 35: 13-23.
- Mendoza, E., and R. Dirzo. 1999. Deforestation in Lacandonia (southeast Mexico): evidence for the declaration of the northernmost tropical hot-spot. *Biodiversity and Conservation* 8: 1621-1641.



- Millenium Ecosystem Assessment Board. 2005. Ecosystems and human Well-Being: current state and trends. Vol. 1. Island press. USA.
- Mishler, B. D. 2001. Book review. The biology of bryophytes. Bryophytes aren't just small tracheophytes. *American Journal of Botany* 88: 2129–2131.
- Mueller-Dombois, D., and H. Ellenberg. 1974. Aims and methods of vegetation ecology. John Wiley and Sons, New York. USA.
- Murcia, C. 1995. Edge effects in fragmented forests: implications for conservation. *Trends in Ecology and Evolution* 10: 58-62.
- Nei, M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics* 89: 583-590.
- Orive, M. E. 2001. Somatic mutations in organisms with complex life histories. *Theoretical Population Biology* 59: 235-249.
- Otero-Arnaiz, A., M. de la Cruz, and K. Oyama. 1997. El uso de los RAPDs como marcadores moleculares en plantas. *Boletín de la Sociedad Botánica de México* 60: 85-117.
- Pannell, J. R., and B. Charlesworth. 2000. Effects of metapopulation process on measures of genetic diversity. *Philosophical Transactions Biological Sciences* 355: 1851-1864
- Parsons, J. G., A. Cairns, C. N. Johnson, S. K. A. Robson, L. A. Shilton, and D. A. Westcott. 2007. Bryophyte dispersal by flying foxes: a novel discovery. *Oecologia* 152: 112-114.
- Pedersen, N., S. J. Russell, A. E. Newton, and S. W. Ansell. 2006. A novel molecular protocol for the rapid extraction of DNA from bryophytes and the utility of direct amplification of DNA from a single dwarf male. *The Bryologist* 109: 257–264.
- Pharo, E., and C. E. Zartman. 2007. Bryophytes in a changing landscape: the hierarchical effects of habitat fragmentation on ecological and evolutionary processes. *Biological Conservation* 135: 315-325.
- Pohjamo, M., S. Laaka-Lindberg, O. Ovaskainen, and H. Korpelainen. 2006. Dispersal potential of spores and asexual propagules in the epixylic hepatic *Anastrophyllum hellerianum*. *Evolutionary Ecology* 20: 415-430
- Rzedowski, J. 1978. Vegetación de Mexico. Limusa, Mexico.
- Saunders, D. A., R. J. Hobbs, and C. R. Margules. 1991. Biological consequences of ecosystem fragmentation: a review. *Conservation Biology* 5: 18-32.
- Scott, K. M., and B. Crandall-Stotler. 2002. RAPD polymorphism as an indicator of population structure, breeding system, and speciation of *Fossombronia*. *The Bryologist* 105: 225-232.
- Selkoe, K. A., and R. J. Toonen. 2006. Microsatellites for ecologists: a practical guide to using and evaluating microsatellite markers. *Ecology Letters* 9: 615-629.



- Shaw, A. J. 1991. Ecological genetics, evolutionary constraints, and the systematics of bryophytes. *Advances in Bryology* 4: 29-74.
- Shaw, A.J. 2000. Population Ecology, population genetics, and microevolution. In A. J. Shaw, and B. Goffinet [eds.], *Bryophyte biology*, 369-402. Cambridge University Press, United Kingdom.
- Sih, A., B. G. Jonsson, and G. Luikart. 2000. Habitat loss: ecological, evolutionary and genetic consequences. *Trends in Ecology and Evolution* 15: 132-134.
- Skotnicki, M. L., J. A. Ninham, and P. M. Selkirk. 1998. High levels of RAPD diversity in the moss *Bryum argenteum* in Australia, New Zealand, and Antarctica. *The Bryologist* 101: 412-421.
- Skotnicki, M. L., J. A. Ninham, and P. M. Selkirk. 1999. Genetic diversity and dispersal of the moss *Sarconeuron glaciale* on Ross Island, East Antarctica. *Molecular Ecology* 8: 753-762.
- Söderström, L., and H. J. During. 2005. Bryophyte rarity viewed from the perspectives of life history strategy and metapopulation dynamics. *Journal of Bryology* 27: 261-268.
- Stuntz, S., U. Simon and G. Zotz. 2002. Rain forest air-conditioning: the moderating influence of epiphytes on the microclimate in tropical tree crowns. *International Journal of Biometeorology* 46:53-59.
- Sun, M., and K. C. Wong. 2001. Genetic structure of three orchid species with contrasting breeding systems using RAPD and allozyme markers. *American Journal of Botany* 88: 2180-2188.
- Sutherland, W. J., and A. R. Watkinson. 1986. Somatic mutation. Do plants evolve differently? *Natura* 320: 305.
- Vida, G., 1994. Global issues of genetic diversity. In V. Loeschcke, J. Tomiuk, and S. K. Jain [eds.], *Conservation Genetics*, 9-19. Timber Press, Portland, Oregon, USA.
- Wade, M. J., and D. E. McCauley. 1988. Extinction and recolonization: their effects on the genetic differentiation of local populations. *Evolution* 42: 995-1005.
- Williams, J. G. K., A. R. Kubelik, K. J. Livak, J. A. Rafalski, and S. V. Tingey. 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Research* 18: 6531-6535.
- Wyatt, R. 1992. Conservation of rare and endangered bryophytes: input from population genetics. *Biological Conservation* 59: 99-107.
- Wyatt, R. 1994. Population genetics of bryophytes in relation to their reproductive biology. *Journal of the Hattori Botanical Laboratory* 76: 147-157.
- Yeh, F. C., R-C. Yang, and T. Boyle. 1999. PopGene32. Microsoft Window-based Freeware for Population Genetic Analysis. Software distributed by author.



- Young, A., T. Boyle, and T. Brown. 1996 The population genetic consequences of habitat fragmentation for plants. *Trends in Ecology and Evolution* 11: 413-418
- Zartman, C. E., S. F. McDaniel, and J. Shaw. 2006. Experimental forest fragmentation increases linkage disequilibrium but does not affect genetic diversity or population structure in the Amazonian liverwort *Radula flaccida*. *Molecular Ecology* 15: 2305-2315.
- Zhu, Y-Q., L. Liu, Y-F. Wang, and X-M. Shao. 2007. Genetic diversity and population structure of *Brachithecium rivulare* Schimp. (Brachithecaceae) from Foping Nature Reserve, Shaanxi, China, detected by RAPD markers. *Journal of Bryology* 29: 104-110.



Discusión general

Las selvas tropicales se están talando rápidamente (Bierregaard et al. 1992; Aldhous 1993; Millenium Ecosystem Assessment Board 2005; Laurance 2004 y 2007), y las mexicanas no son la excepción. Los estudios que se han hecho a la fecha, muestran claramente que las condiciones del hábitat se están encaminando a convertirse en sitios con “islas” de vegetación original embebidas en grandes extensiones de hábitat modificado de diversas maneras (Saunders et al. 1991; Mendoza et al. 2005). Se ha documentado ampliamente que bajo estas condiciones de fragmentación, el número de especies disminuye y las que sobreviven tienen posibilidades reducidas de completar sus ciclos de vida, puesto que las condiciones del hábitat remanente no son las originales (Bierregaard et al. 1992; Laurance 2004; Mendoza et al. 2005). En el caso de la hepática foliosa *Bryopteris filicina* esto es cierto sin lugar a dudas, ya que no solamente necesita condiciones microambientales que permitan su desarrollo, sino que además requiere de un sustrato adecuado, en forma de árboles grandes, característicos de selvas en buen estado de conservación, que garanticen la permanencia de la especie a largo plazo.

Como he dicho con anterioridad, los briófitos en general son plantas indicadoras de la salud de las condiciones microclimáticas del ecosistema (e. g. Bates 2000; Mishler 2001), por ejemplo, pueden ayudar a detectar cambios en las concentraciones de contaminantes en el ambiente (Rao 1982; Shaw 1988 y 1991; Durán et al. 1992), y modificaciones en las cantidades de humedad en la atmósfera (Bates 2000). También juegan un papel muy importante en la captura de nutrientes de la atmósfera que, de otra manera no estarían disponibles para otros miembros del ecosistema (Nadkarni y Solano 2002). Gignac (2001) sugiere que los briófitos, que son buenas especies indicadoras, también pueden ser útiles en la detección cambios climáticos a mayor escala. En este trabajo se demuestra que



Bryopteris filicina, una hepática común y de distribución Neotropical, crece en la Selva Lacandona, preferentemente en sitios de mayor humedad, por lo que es una buena especie indicadora de condiciones microambientales de humedad en la región (Equihua y Equihua 2007). Esto quiere decir que habita en sitios donde recibe mayores cantidades de humedad, ya sea la acarreada por los vientos del norte la transporten, o que viene de los ríos y arroyos cercanos. Desafortunadamente, la disminución (y en algunos casos hasta la desaparición) de especies como *B. filicina*, y otras briofitas, en otras selvas del país como la Sierra de los Tuxtlas, en el estado de Veracruz y en algunos lugares de la propia Lacandona (C. Equihua obs. pers.) refleja condiciones microambientales que no representan lo que existió hace años en esas porciones de selva, específicamente la humedad ha disminuído. Gignac (2001) sugiere que la desaparición de diversas especies de briofitas epífitas en ciertas condiciones de hábitat, puede ser un indicio de que la selva como tal, está en camino de desaparecer. Es importante desarrollar investigación futura que permita entender las posibilidades de que especies como *B. filicina* (así como de muchas otras plantas epífitas) se mantengan vivas en condiciones de fragmentación, que existan las condiciones adecuadas para que la especie pueda mantenerse en el espacio y tiempo. Además, que procesos como la dispersión, establecimiento, sucesión, y todos los relacionados con su ciclo de vida, le permitan a sus poblaciones permanecer viables en los troncos de árboles de las selvas Neotropicales a largo plazo.

Esta tesis describe dos aspectos generales de la biología de *Bryopteris filicina*: la distribución espacial sobre troncos de árboles y su variación genética, sin embargo todavía hay mucha investigación por hacer utilizando esta especie. Por ejemplo, se desconocen los mecanismos de extinción y colonización de sus poblaciones sobre troncos de árboles, o los procesos de sucesión de que depende para mantenerlas. El fenómeno de colonización-extinción se ha descrito con la teoría de las metapoblaciones para diversas especies de musgos (Herben y Söderström. 1992; Söderström y Herben. 1997, Nadkarni 2000), y se ha demostrado que muchas especies de este grupo de plantas dependen de este mecanismo para mantener a sus poblaciones en los ecosistemas (Herben y Söderström 1992; Söderström y Herben 1997; Zartman y Shaw 2006). En la Lacandona *B. filicina* depende de sitios en buenas condiciones de conservación (Equihua y Equihua, 2007). Además es necesario realizar estudios demográficos a largo plazo que ayuden a esclarecer cómo se



desarrolla la planta desde el momento que se establece en los troncos de los árboles, cómo se extienden los gametófitos sobre estos y cuándo es que se producen esporófitos o cuerpos reproductivos de tipo vegetativo. En la medida de lo posible también sería relevante determinar el tiempo de duración de un parche en un sustrato determinado y los procesos de dispersión de esta especie. Son pocos los trabajos que se han hecho sobre demografía de musgos o hepáticas (pero véase por ejemplo a Okland 1995; Pohjamo y Laaka-Lindberg 2004), muchas veces por las dificultades que representa distinguir a las especies en el campo, por su tamaño o porque son de crecimiento muy lento, entre otras razones. Sin embargo, *B. filicina*, que es fácil de reconocer en el campo es un buen sujeto de estudio para realizar este tipo de investigación en zonas tropicales. Por ser una especie tropical es posible que esta hepática sea menos longeva que briófitos de zonas templadas (Pharo y Zartman 2007), lo que también sería útil para realizar estudios demográficos.

Desde el punto de vista morfológico se considera que plantas como *B. filicina*, que tienen tallos que se yergen perpendicularmente con respecto al tronco, son higromórficas (Richards 1988; Bates 1998), pero no se ha estudiado la ventaja que esta forma de vida también le puede representar a la planta para dispersar sus esporas más eficientemente que si creciera completamente adherida al sustrato como sucede en otras especies de la misma familia. Existe incertidumbre en cuanto a la sexualidad de plantas del género *Bryopteris* ya que Gradstein (1994) dice que esta hepática es una especie dióica y a veces monóica, sin embargo no explica bajo qué condiciones ambientales se encuentran ambas formas, ni en qué proporciones se encuentran distribuidas en el ecosistema. En un estudio reciente de Hartmann et al. (2006) para delimitar la validez taxonómica de las especies del género *Bryopteris* utilizando ADN nuclear y de los cloroplastos, no se discute ningún aspecto relacionado con las condiciones monóicas o dióicas en las especies que reconoce. Además, Gradstein (1994) explica que *B. filicina* es una especie que se propaga vegetativamente por medio de cladia (ramas caducas) y fragmentos de hojas. Se necesitan estudios que ayuden a explicar la importancia de esta condición reproductiva para mantener a las poblaciones de la especie sobre cada tronco de árbol o para favorecer su establecimiento en árboles aledaños o a mayores distancias. Estableciendo cultivos de especímenes de *Bryopteris filicina* será posible tener material para estudiar diversos aspectos sobre la sexualidad de la especie, o para ayudar en estudios fenológicos (Duckett et al. 2004).



Con el modelo presentado en Equihua y Equihua (2007) se puede predecir la presencia de *Bryopteris filicina* en el campo, sin embargo no fue posible desarrollar un modelo en relación con los porcentajes de árboles (y especies) de un sitio determinado, debido a que no se contaba con censos de árboles en los tres sitios estudiados. Se deben realizar estudios comparativos que permitan extender el alcance de este trabajo a otros sitios a lo largo de su distribución, así como para determinar experimentalmente las posibilidades de sobrevivencia de la especie bajo condiciones de fragmentación. Estudios como este, en los que además se abunde sobre generalidades de su biología, se deben extender a otros miembros de este grupo de plantas ya que en general, permitirán determinar su utilidad específica como indicadores de otras características microambientales de las selvas. Una vez que se detecten especies indicadoras, será posible desarrollar metodologías para apoyar proyectos para decidir si un sitio puede ser útil para su conservación o no.

Este trabajo es el primero que analiza las condiciones genéticas de una hepática mexicana, *Bryopteris filicina* que, como cualquier organismo que habite en las selvas del país, está sujeto a cambios ambientales debido a la fragmentación de su hábitat. Por el tipo de sustrato en el que vive, *B. filicina* es una especie que vive en condiciones naturalmente fragmentadas y, como otras plantas epífitas, podría estar gobernada por una dinámica de tipo metapoblacional (Laube y Zotz 2007). Por esta razón, es una especie útil para realizar investigaciones que permitan hacer inferencias a una mayor escala dentro de los ecosistemas que se están fragmentando, especialmente porque existe el debate de que, bajo condiciones de fragmentación del hábitat, las poblaciones de especies sobrevivientes podrían convertirse en metapoblaciones (Pharo y Zartman 2007).

Durante este estudio se utilizaron los RAPDs para determinar la variación genética de *Bryopteris filicina* porque se pueden obtener buenos resultados a partir de poco material vegetal. Además la técnica es relativamente sencilla y de bajo costo (Fischer et al. 2000). Sin embargo se presentaron problemas para la selección de los marcadores, ya que había poca repetibilidad. Aún así se encontró que *Bryopteris filicina* tiene mayor variación genética de la esperada, ya que sobre cada tronco de árbol se encontró más de un haplotipo, probablemente debido a que los gametófitos se establecen a partir de más de una espora en cada tronco, o por diversos eventos de colonización de propágulos vegetativos. No hay que descartar la posible existencia de homoplasia (que en poblaciones se refiere a aquellas que tienen alelos del mismo tamaño pero que no son



idénticos por descendencia (Angers et al., 2000; Selkoe and Toonen, 2006)), o de mutaciones (incluso somáticas) como posibles fuentes de esta variación genética (Skotnicki et al. 1998 y 1999; Chen et al. 2006). Para ayudar a resolver esta interrogante, en primer lugar sería necesario evitar los posibles errores de este trabajo en el diseño de muestreo y en el uso de marcadores moleculares, por lo que se puede hacer uso de otras herramientas. Por ejemplo, se puede ubicar en el espacio a los árboles que tengan parches de *B. filicina* y medir la distancia entre estos, intensificando el análisis genético sobre cada parche. Además sería relevante realizar estudios que permitan identificar el origen de cada gametófito y, en la medida de lo posible, su edad, ya que de acuerdo con McCauley et al. (1995) la dinámica de colonización-extinción incrementa la estructura genética de una metapoblación. El uso de microsatélites puede ser una herramienta útil para contestar algunas de estas preguntas. Los microsatélites proporcionan más información del genoma de las plantas porque combinan los resultados de muchos loci lo que hace que estadísticamente sean más poderosos para comparar poblaciones e individuos (Selkoe y Toonen 2006). Además se puede hacer uso de secuenciación de alelos (Selkoe y Toonen, 2006) o utilizando el método de polimorfismo que sugieren Angers et al. (2000).

Este estudio no se enfoca directamente en el fenómeno de colonización-extinción, sin embargo la presencia de la mayor variación genética encontrada sobre cada árbol, indica que sí existe éste fenómeno. Por otra parte, la menor variación genética de cada sitio de estudio con respecto a la variación encontrada en cada tronco, es también un indicio de que la especie desaparece de ciertos troncos y se establece en otros, como se ha sugerido pasa en plantas con metapoblaciones (véase Slatkin 1985; Harrison y Hastings 1996; Zartman et al. 2006). Para Harrison y Hastings (1996) una alta tasa de dispersión y flujo génico mostrarían poblaciones con poca diferenciación. Con el fin de entender el proceso de colonización-extinción pueden ser muy útiles los estudios demográficos y la realización de experimentos para observar cómo se establecen las plantas nuevas. Por ejemplo se puede medir el establecimiento y crecimiento de fragmentos de gametófitos de *Bryopteris* pegados con alguna sustancia gelatinosa al tronco.

No es posible saber si la variación genética encontrada entre las poblaciones de *Bryopteris filicina* creciendo en diferentes troncos de árboles y en los tres sitios de la Lacandona se debe a eventos históricos acumulados más que al tamaño de la población actual. Un estudio filogeográfico sería



el método a seguir para poder establecer si la estructura genética de *B. filicina* de la Lacandona se debe a eventos históricos o de colonización-extinción local (Knowles and Maddison, 2002).

In the Lacandon region *Bryopteris filicina* grows on trees that are long lived and, in general, the species is more frequently found growing on forests in good conservation conditions (Equihua and Equihua, 2007). AMOVA results showed little differentiation between groups and among populations within groups (0.04% and 3%, respectively). Hassel et al. (2005) and Zartman et al. (2006) found also small values of genetic variability between populations of bryophytes in temperate and tropical ecosystems, respectively. Hassel et al. (2005), found little differentiation between geographical areas where the moss *Pogonatum dentatum* is distributed. They think that their findings are related to population accumulated history rather than to the present population size. In order to determine how much of the *Bryopteris filicina* populations' genetic structuring in the Lacandona it is due to historical or local colonization and extinction events a phylogeographical analysis may be the adequate approach (Knowles and Maddison, 2002).

Desafortunadamente, debido al poco conocimiento que todavía hay sobre la biología de hepáticas de regiones tropicales, en general, y de México, en particular, no es posible saber con exactitud si la variación genética encontrada en *Bryopteris filicina* es reflejo de una estructura metapoblacional (Slatkin 1985; Harrison y Hastings 1996) o si se debe a patrones históricos como extensión del área de distribución, migración, etcétera (Knowles y Maddison 2002). Para entender el papel que juega el establecimiento de gametófitos a partir de esporas o cuerpos vegetativos (i. e. tallos fragmentados y hojas) habría que entender la distancia a la que se mueve cada uno de éstos, si provienen de troncos aledaños o si se mantiene algún banco de esporas sobre un tronco (McCauley et al. 1995).

Por otra parte, el diseño experimental de este trabajo no resultó ser lo suficientemente detallado para abastecer de información que permitiera detectar si se trata de una planta que está sujeta a algún tipo de mutación somática, que también se manifestaría en la alta variabilidad obtenida en cada tronco de árbol, con los marcadores estudiados (Skotnicki et al 1999; Chen et al. 2006). La mutaciones somáticas surgen en tejidos que no están involucrados en la producción de gametos, en plantas se pueden expresar en la propagación clonal. Este tipo de mutaciones pueden representar una fuente de variación genética dentro de la población pero también dentro de un mismo individuo (Orive 2001). Investigación futura



permitirá determinar si efectivamente, este tipo de mutaciones pueden ser una fuente de variación genética de la especie y si son importantes para entender la variación encontrada en los gametófitos de *B. filicina* de los árboles de la región de la Selva Lacandona estudiada. Estudios demográficos y cultivos de *Bryopteris filicina* también pueden ser buenas herramientas para entender el establecimiento y desarrollo de un parche de esta hepática. El uso de marcadores como los microsatélites permitirán establecer si hay crecimiento diferenciado del gametófito y si hay variación genética en el individuo. Posteriormente se podrá determinar si esta variación se puede transferir a la siguiente generación (Sutherland and Watkinson, 1986).

Como se mencionó, este estudio da indicios de la dinámica poblacional de *Bryopteris filicina*. Pero es cierto que es necesario desarrollar más trabajos de este tipo que permitan determinar el impacto de la fragmentación de las selvas tropicales en los procesos demográficos a nivel local y regional sobre otras especies de plantas (Pharo y Zartman 2007). También sería importante entender el efecto que esta fragmentación tendría sobre la diversidad genética de las poblaciones de las especies sobrevivientes. En este sentido, una especie como *B. filicina* puede ser útil para entender procesos como el flujo génico en condiciones de fragmentación (Honnay y Jacquemyn 2006), y quizá ayude a extrapolar sobre otros procesos evolutivos de la flora sobreviviente después de que se ha modificado el hábitat (Pharo y Zartman 2007).

Además es importante promover la realización de estudios detallados de más especies indicadoras. Sin embargo es poco el conocimiento de la flora de musgos y hepáticas que, en primer lugar, ayude a determinar con mayor precisión, el número de especies que habitan en la región tropical de México (pero véanse los trabajos de C. Delgadillo M. para musgos). Específicamente, es necesario que se incrementen los estudios de hepáticas, ya que actualmente en el país no hay especialistas que trabajen con este grupo de plantas, a pesar de que se trata de un grupo diverso y presente en la mayoría de los ecosistemas del país. Con un conocimiento más amplio de la diversidad de las hepáticas en particular, y de los briófitos en general, será posible fomentar el uso de estas plantas como sujetos experimentales (Pharo y Zartman 2007) que, a mayor escala, nos puedan ser útiles para entender más sobre otras plantas y el papel que desempeñan en los ecosistemas mexicanos.

Los ecosistemas tropicales están cambiando a una tasa muy rápida, y nuestro conocimiento sobre el papel que juegan especies como *Bryopteris*



filicina y otros briofitos en estos ecosistemas sigue siendo insuficiente. Prácticamente, no tenemos idea de la biología de estas plantas de nuestro territorio, ni de cómo serán afectadas por los procesos relacionados con la fragmentación del hábitat (insularidad, efecto de borde, erosión de la variación genética, etc.). Los briófitos posiblemente no sean plantas tan carismáticas como las orquídeas, por lo que es difícil hablar sobre su conservación *per se*, pero entender su función ecológica (por ejemplo su papel en los ciclos de CO₂ y nitrógeno) en nuestros ecosistemas, nos dará mejores razones para proteger porciones de bosque con condiciones más cercanas a los sitios sin perturbar. Lo que se presenta en este trabajo solamente es una pequeña contribución para entender el funcionamiento de uno de los ecosistemas más complejos en la tierra. Entenderlo ayudará a su conservación de una manera más integral.



Conclusiones generales

- *Bryopteris filicina* es una especie que depende de una selva en buen estado de conservación para sobrevivir, ya que necesita de árboles grandes (dbh > 50 cm, h > 20 m) en su mayoría de corteza lisa, donde vivir.
- *Bryopteris filicina* es una especie indicadora de humedad, porque crece en zonas con condiciones en las que hay una mayor concentración de esta: vientos que transportan más humedad por la cercanía a ríos y arroyos, o porque los vientos dominantes transportan agua en forma de rocío.
- Contrario a lo que se esperaba, un parche de *Bryopteris filicina* creciendo sobre un mismo árbol no pertenece a un mismo clon, más bien se trata de gametófitos que se establecieron por diferentes esporas o por diferentes eventos de establecimiento de propágulos de origen asexual. La variación genética encontrada puede demostrar la existencia de un fenómeno de mutación somática o la presencia de homoplasia.
- La poca variación genética de *Bryopteris filicina* encontrada entre Chajul, Loma Bonita e Ixcán, demuestra que hay una marcada estructura genética entre las poblaciones de diferentes sitios. Es posible que se trate de un sistema de tipo metapoblacional.



Literatura citada

- Acebey, A., S. R. Gradstein y T. Krömer. 2003. Species richness and habitat diversification of bryophytes in submontane rain fores and fallows of Bolivia. *Journal of Tropical Ecology* 19: 9-18.
- Aagaard, J. E., K. V. Krutovskii y S. H. Strauss. 1998. RAPDs and allozymes exhibit similar levels of diversity and races of Douglas.fir. *Heredity* 81: 69-78.
- Akiyama, H. 1994. Allozyme variability within and among populations of the epiphytic moss *Leucodon* (Leucodontaceae: Musci). *American Journal of Botany* 81: 1280-1287.
- Aldhous, P. 1993. Tropical deforestation: not just a problem in Amazonia. *Science* 259: 1390.
- Allen, C. E. 1917. A chromosome difference correlated with sex differences in *Sphaerocarpos*. *Science* 9: 467-468.
- Alvarenga, L. D. P. y K. C. Porto. 2007. Patch size and isolation effects on epiphytic and epiphyllous bryophytes in the fragmented Brazilian Atlantic forest. *Biological Conservation* 134: 415-427.
- Bardakci, F. 2001. Random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers. *Turkish Journal of Biology* 25: 185-196.
- Bates, J. W. 1998. Is “life form” a useful concept in bryophyte ecology? *Oikos* 82: 223-237.
- Bates, J. W. 2000. Mineral nutrition, substratum ecology, and pollution. Pp. 248-311. *In* *Bryophyte biology* (A. J. Shaw y B. Goffinet, eds.). Cambridge University Press. UK. 476 pp.
- Bates, J. W., J. N. B. Bell y A. M. Farmer. 1990. Epiphyte recolonization of oaks along a gradient of air pollution in South-east England, 1979-1990. *Environmental Pollution* 68: 81-99.
- Benavides, J. C., A. J. Duque, J. F. Duivenvoorden y A. M. Cleef. 2006. Species richness and distribution of understory bryophytes in different forest types in Columbian Amazonia. *Journal of Bryology* 28: 182-189.



- Benzing, D.H. 1987. Vascular epiphytism: taxonomic participation and adaptive diversity. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 74: 183-204.
- Benzing, D. H. 1990. *Vascular epiphytes*. Cambridge University Press, Cambridge. 354 pp.
- Benzing, D. H. 1995. Vascular epiphytes. Pp. 225-254. *In forest canopies* (M. D. Lowman y N. M. Nadkarni, eds.). Academic Press, San Diego California.
- Benzing, D. H. 1998. Vulnerabilities of tropical forest to climate change: the significance of of resident epiphytes. *Climatic Change* 39: 519-540.
- Bischler, H. y M. C. Boisselier-Dubayle. 1997. Population genetics and variation in liverworts. *Advances in Bryology* 6: 1-34.
- Bierregaard, R. O. Jr., T. E. Lovejoy, V. Kapos, A. A. Dos Santos y R. W. Hutchings. 1992. The biological dynamics of tropical rainforest fragments. *BioScience* 42: 859-866.
- Bold, H. C., C. J. Alexopoulos y T. Delevoryas. 1980. *Morphology of plants and fungi*. Harper y Row, publishers. New York. 819 pp.
- Boisselier-Dubayle, M. C. y H. Bischler. 1994. A Combination of Molecular and Morphological Characters for Delimitation of Taxa in European *Porella*. *Journal of Bryology* 18: 1-11.
- Boisselier-Dubayle, M. C. M. F. Jubier, B. Lejeune y H. Bischler. 1995. Genetic variability in three subspecies of *Marchantis polymorpha* (Hepaticae): isozymes, RFLP and RAPD markers. *Taxon* 44: 363-374.
- Cayuela, L., D. J. Golicher, J. M. Rey-Benayas, M. González-Espinosa y N. Ramírez-Marcial. 2006. Fragmentation, disturbance and tree diversity conservation in tropical montane forests. *Journal of Applied Ecology* 43: 1172-1181.
- Chase, M. R., D. H. Boshier y K. S. Bawa. 1995. Population genetics of *Cordia alliodora* (Boraginaceae, a Neotropical tree. 1. Genetic variation in natural populations. *American Journal of Botany* 82: 468-475.
- Chen, J-M, W. R. Gituru, Y-H. Wang y Q-F. Wang. 2006. The extent of clonality and genetic diversity in the rare *Caldesia grandis* (alismataceae): comparative results for RAPD and ISSR markers. *Aquatic Botany* 84: 301-307.
- Christianson, M. L. 2000. Control of morphogenesis in bryophytes. Pp. 199-224. *In Bryophyte biology* (A.J. Shaw y B. Goffinet, eds.). Cambridge University Press. UK. 476 pp.
- Clark, K. L. 1994. *The Role of Epiphytic Bryophytes in the Net and Cycling of Nitrogen in a Tropical Montane Cloud Forest*. Ph.D. dissertation, University of Florida, Gainesville, FL..



- Clark, A. G. y C. M. S. Lanigan. 1993. Prospects for estimating nucleotide divergence with RAPD's. *Molecular Biology and Evolution* 10: 1096-1111.
- Clark, K. L., N. M. Nadkarni, D. Schaefer y H. L. Gholz. 1998. Atmospheric deposition and net retention of ions by the canopy in a tropical montane forest, Monteverde, Costa Rica. *Journal of Tropical Ecology* 14: 27-45.
- Clark, K. L., N. M. Nadkarni y H. L. Gholz. 2005. Retention of inorganic nitrogen by epiphytic bryophytes in a tropical montane forest. *Biotropica* 37: 328-336.
- Coxson, D. S. 1991. Nutrient release from epiphytic bryophytes in tropical montane rain forest (Guadeloupe). *Canadian Journal of Botany* 69: 2122-2129.
- Coxson D.S. y N.M. Nadkarni. 1995 Ecological roles of epiphytes in nutrient cycles in forest ecosystems. Pp 495-543. *In* Forest canopies (M.D. Lowman y N.M. Nadkarni, eds. Academic Press. USA. 624 pp.
- Cornelissen, J. H. C. y H. Ter Steege. 1989. Distribution and ecology of bryophytes and lichens in dry evergreen forest of Guyana. *Journal of Tropical Ecology* 5: 131-150.
- Cronberg, N. 2002. Colonization dynamics of the clonal moss *Hylocomium splendens* on islands in a Baltic land uplift area: reproduction, genet distribution and genetic variation. *Journal of Ecology* 90: 925-935.
- Cronberg, N., U. Molau y M. Sonesson. 1997. Genetic variation in the clonal bryophyte *Hylocomium splendens* at hierarchical geographical scales in Scandinavia. *Heredity* 78: 293-301.
- Crum, H. 1972. The geographic origins of the mosses of North America's eastern deciduous forest. *Journal of the Hattori Botanical Laboratory* 35: 269-298.
- Crandall-Stotler, B. y R. E. Stotler. 2000. Morphology and classification of the Marchantiophyta. Pp.21-70. *In* Bryophyte biology (A. J. Shaw y B. Goffinet, eds.). Cambridge University Press. UK. 476 pp.
- Cummings, H. y R. Wyatt. 1981. Genetic Variability in Natural Populations of the Moss *Atrichum angustatum*. *The Bryologist* 84: 30-38.
- De Luna, Efrain, Angela E. Newton, and Brent D. Mishler. 2004. Bryopsida. Mosses with arthrodontous peristome. Version 04 October 2004. <http://tolweb.org/Bryopsida/21587/2004.10.04> *in* The Tree of Life Web Project, <http://tolweb.org/>
- Delgadillo M., C. 1997. Mexican mosses: a flora of transition in the Americas. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*. 61: 79-83.
- Delgadillo M., C. y A. Cárdenas S. 1990. Manual de briofitas. Cuadernos del Instituto de Biología 8: 1-135.



- Delgadillo M., C. y A. Cárdenas S. 2002. The Lacandon forest (chiapas, Mexico): a benchmark area for tropical mosses. *The Bryologist* 105: 327-333.
- Delgadillo M., C., J. L. Villaseñor Ríos y P. Dávila Aranda. 2003. Endemism in the Mexican flora: a comparative study in three plant groups. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 90: 25-34.
- Dewey, R. M. 1989. Genetic variation in the Liverwort *Riccia dictyospora* (Ricciaceae, Hepaticopsida). *Systematic Botany* 14: 155-167.
- Díaz, O., G-L. Sun, B. Salomon y R. von Bothmer. 2000. Levels and distribution of allozyme and RAPD variation in populations of *Elymus fibrosus* (Schrenk) Tzvel. (Poaceae). *Genetic Resources and Crop Evolution* 47: 11-24.
- Duckett, J. G., J. Burch, P. W. Fletcher, H. W. Matcham, D. J. Read, A. J. Russell y S. Pressel. 2004. *In vitro* cultivation of bryophytes: a review of practicalities, problems, progress and promise. *Journal of Bryology* 26: 3-20.
- Durán D., A., A. E. Cisneros C. y A. Vargas V. 1992. Evaluación briológica de los efectos de la contaminación atmosférica en la ciudad de México. *Tropical Bryology* 6: 71-82.
- Equihua, C. 1987. Diseminación de yemas en *Marchantia polymorpha* L. (Hepaticae). *Cryptogamie Bryologie Lichenologie* 8: 199-217.
- Equihua, C., A. E. Newton, D. García-Ávila, E. de Luna y S. R. Gradstein. 2001. New moss records from Mexico from the Lacandona Tropical Rain Forest, Chiapas. *The Bryologist* 104: 602-606.
- Equihua, C. y T. Pócs. 1999. Epiphyllous bryophytes from the Lacandon Forest, Chiapas, Mexico. *The Bryologist* 102: 747-752.
- Equihua, C. y M. Equihua. 2007. Spatial distribution of *Bryopteris filicina* on three trunks in the Selva Lacandona, Chiapas, Mexico. *Bryologist* 110: 766-775.
- Fazekas, A. J. y F. C. Yeh. 2001. Random amplified polymorphic DNA diversity of marginal and central populations in *Pinus contorta* subsp. *latifolia*. *Genome* 44: 13-22.
- Fischer, M., R. Husi, D. Prati, M. Peintinger, M. Van Kleunen y B. Schmid. 2000. RAPD variation among and within small and large populations of the rare clonal plant *Ranunculus reptans* (Ranunculaceae). *American Journal of Botany* 87: 1128-1137.
- Forrest, L. L., E. C. Davis, D. G. Long, B. J. Crandall-Stotler, A. Clark y M. L. Hollingsworth. 2006. Unraveling the evolutionary history of the liverworts (Marchantiophyta): multiple taxa, genomes and analyses. *The Bryologist* 109: 303-334.



- Frahm, J-P. 2003. Climatic habitat differences of epiphytic lichens and bryophytes. *Cryptogamie, Bryologie* 24: 3-14.
- Frahm, J-P. y S. R. Gradstein. 1991. An altitudinal zonation of tropical rain forests using bryophytes. *Journal of Biogeography* 18: 669-678.
- Freeland, J. R. 2005. *Molecular ecology*. John Wiley & sons. Ltd. Great Britain. 388 pp.
- Freiberg, M. 2001. The influence of epiphyte cover on branch temperature in a tropical tree. *Plant Ecology* 153: 241-250, 2001.
- Freiberg, M. y E. Freiberg. 2000. Epiphyte diversity and biomass in the canopy of lowland and montane forests in Ecuador. *Journal of Tropical Ecology* 16: 673-688.
- Fulford, M. y A. J. Sharp. 1990. The leafy hepaticae of Mexico: one hundred and twenty-seven years after C. M. Gottsche. *Memoirs of the New York Botanical Garden* 63: 1-86.
- Gignac, D. 2001. Bryophytes as indicators of climate change. *The Bryologist* 104: 410-420.
- González, D. 1998. Marcadores moleculares para los estudios comparativos de la variación en ecología y sistemática. *Revista Mexicana de Micología* 14: 1-21.
- Gradstein, S.R. 1994. *Lejeuneaceae: Ptychantheae, Brachiolejeuneae*. Organization for Flora Neotropica. The New York Botanical Garden, Bronx, NY. 216 pp.
- Gradstein S. R. y C. Equihua. 1995. An epizoic bryophyte and algae growing on the lizard *Corytophanes cristatus* in Mexican rainforest. *Biotropica* 27: 265-268.
- Gradstein, S. R., T. Pocs y J. Vana. 1983. Disjunct hepaticae in tropical America and Africa. *Acta Botanica Hungarica* 29: 127-171.
- Gradstein, S. R., D. H. Vitt y R. S. Anderson. 1984. The epizoic occurrence of *Daltonia angustifolia* (Musci) in Papua New Guinea. *Cryptogamie, Bryologie, Lichenologie* 5: 47-50.
- Gradstein, S. R., S. Churchill y N. Salazar-Allen. 2001a. Guide to the bryophytes of Tropical America. *Memoirs of The New York Botanical Garden*. Volume 86. Bronx, NY. 377 pp.
- Gradstein, S. R., D. G. Griffin III, M. I. Morales y N. Nadkarni. 2001b. Diversity and habitat differentiation of mosses and liverworts in the cloud forest of Monte Verde, Costa Rica. *Caldasia* 23: 203-202.
- Gradstein, S. R., M. E. Reiner-Drehwald y H. Schneider. 2003a. A phylogenetic analysis of the genera of Lejeuneaceae (Hepaticae). *Botanical Journal of the Linnean Society* 143: 391-410.
- Gradstein, S. R., N. M. Nadkarni y T. Krömer. 2003b. A protocol for rapid and representative sampling of vascular and non-vascular epiphyte diversity of tropical rain forests. *Selbyana* 24: 105-111.



- Gunnarsson, U. A. J. Shaw y M. Lönn. 2007. Local-scale genetic structure in the peatmoss *Sphagnum fuscum*. *Molecular Ecology* 16: 305-312
- 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* 10: 173-200.
- Hamrick, J. L. y M. J. W. Godt. 1989. Allozyme diversity in plant species. Pp. 43-63. *In* Plant population genetics, breeding and genetic resources (A. H. D. Brown., M. T. Clegg., A. L. Kahler y B. S. Weir, eds.). Sinauer Associates, Sunderland Massachusetts.
- Harrison, S. y A. Hastings. 1996. Genetic and evolutionary consequences of metapopulation structure. *Trends in Ecology and Evolution* 11: 180-183.
- Hassel, K., S. M. Sastad, U. Gunnarsson y L. Soderstrom. 2005. Genetic variation and structure in the expanding moss *Pogonatum dentatum* (Polytrichaceae) in its area of origin and in recently colonized area. *American Journal of Botany* 92: 1684-1690.
- Hartmann, F. A., R. Wilson, S. R. Gradstein, H. Schneider y J. Heinrichs. 2006. Testing hypothesis on species delimitations and disjunctions in the Liverwort *Bryopteris* (Jungermanniopsida: Lejeuneaceae). *International Journal of Plant Sciences* 167: 1205-1214.
- Hedenäs, H., V. O. Bolyukh y B. G. Johnsson. 2003. Spatial distribution of epiphytes on *Populus tremula* in relation to dispersal mode. *Journal of Vegetation Science*, 14: 233-242.
- Herben, T. y L. Söderström. 1992. Which habitat parameters are most important for the persistence of a bryophyte species on a patchy, temporary substrates? *Biological Conservation* 59, 212-126.
- Herben, T., H. Rydin y L. Soderstrom. 1991. Spore establishment probability and the persistence of the fugitive invading moss, *Orthodontium lineare*: a spatial simulation model. *Oikos* 60: 215-221.
- Hofman A. 1988. A preliminary survey of allozyme variation in the genus *Plagiothecium* (Plagiotheciaceae, Bryopsida). *Journal of the Hattori Botanical Laboratory* 64: 143-150.
- Hofstede, R. G. M., J. D. H. Wolf, y D. H. Benzing. 1993. Epiphytic biomass and nutrient status of a Colombian upper montane rain forest. *Selbyana* 14: 37-45.
- Hölscher, D., L. Köhler, A. I. J. M. van Dijk y L. A. Bruijnzeel. 2004. The importance of epiphytes to total rainfall interception by a tropical montane rain forest in Costa Rica. *Journal of Hydrology* 292: 308-322.



- Holz, I. S. R. Gradstein. 2005. Cryptogamic epiphytes in primary and recovering upper montane oak forest of Costa Rica - Species richness, community composition and ecology. *Plant Ecology* 178: 89-109.
- Honnay, O y H. Jacquemyn. 2006. Susceptibility of common and rare plant species to genetic consequences of habitat fragmentation. *Conservation Biology* 21: 823-831.
- Jacobs, M. 1988. *The Tropical Rain Forest. A first encounter.* Springer-Verlag. Germany. 295 pp.
- Kapos, V. 1989. Effects of isolation on the water status of forest patches in the Brazilian Amazon. *Journal of Tropical Ecology* 5: 173-185.
- Kelly, D. L., G. O'Donovan, J. Feehan, S. Murphy, S. O. Drangeid y L. Marcato-Berti. 2004. The epiphyte communities of a montane rain forest in the Andes of Venezuela: patterns in the distribution of the flora. *Journal of Tropical Ecology* 20: 643-666.
- Kessler, M. 2000. Altitudinal zonation of Andean cryptogam communities. *Journal of Biogeography* 27: 275-282.
- Knowles, L. L. y W. P. Maddison. 2002. Statistical phylogeography. *Molecular Ecology* 11: 2623-2635.
- Korpelainen H. y N. Salazar-Allen. 1999. Genetic variation in three species of epiphytic *Octoblepharum* (Leucobryaceae). *Nova Hedwigia* 68: 281-290.
- Laube, S. y G. Zotz. 2007. A metapopulation approach to the analysis of long-term changes in the epiphyte vegetation on the host tree *Annona glabra*. *Journal of Vegetation Science* 18: 613-624.
- Laurance, W. F. 2004. Forest-climate interactions in fragmented tropical landscapes. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Biology* 359: 345-352.
- Laurance, W. F. 2007. Have we overstated the tropical biodiversity crisis? *Trends in Ecology and Evolution* 22: 65-70.
- Laurance, W. F. y R. Luizao. 2007. Driving a wedge into the Amazon. *Nature* 448: 409-410.
- Laurance, W. F., D. Pérez-Salicrup, P. Delamonica, P. M. Fearnside, S. D'Angelo, A. Jerozolinzki, L. Pohl y T. Lovejoy. 2001. Rainforest fragmentation and the structure of Amazonian liana communities. *Ecology* 82: 105-116.
- Löbel, S. T. Snäll y H. Rydin. 2006. Species richness patterns and metapopulation process – evidence from epiphyte communities in boreo-nemoral forests. *Ecography* 29: 169-182.
- Lowman, M. D. y P. K. Wittman. 1996. Forest Canopies: methods, hypothesis, and future directions. *Annual Review of Ecology and Systematics* 27: 55-81.



- Lynch M. Y B. G. Milligan. 1994. Analysis of population genetic structure with RAPD markers. *Molecular Ecology* 3: 91-99.
- McCauley, D. E., J. Raveill y J. Antonovics. 1995. Local founding events as determinants of genetic structure in a plant metapopulation. *Heredity* 75: 630-636.
- McLetchie, D. N. G. García-Ramos y P. H. Crowley. 2002. Local sex-ratio dynamics: a model for the dioecious liverwort *Marchantia inflexa*. *Evolutionary Ecology* 15: 231-254.
- Mendoza, E., J. Fay y R. Dirzo. 2005. Un análisis cuantitativo de la fragmentación de la selva de Los Tuxtlas en el sudeste de México: patrones e implicaciones para la conservación. *Revista Chilena de Historia Natural* 78: 451-467.
- Millenium Ecosystem Assessment Board. 2005. Ecosystems and human Well-Being: current state and trends. Vol. 1. Island press. USA.
- Montagnes, R. J. S., R. J. Bayer y D. H. Vitt. 1993. Isozyme variation in the moss *Meesia triquerea* (Meesiaceae). *Journal of the Hattori Botanical Laboratory* 74: 155-170.
- Mishler, B. D. 2001. The biology of Bryophytes. Bryophytes aren't just small tracheophytes. *American Journal of Botany* 88: 2129-2131.
- Myers, N., R. A. Mittermeier, C. G. Mittermeier, G. A. B. Da Fonseca y J. Kent. 2000. Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature* 403: 843-858.
- Nadkarni, N. M. 1981. Canopy roots: convergent evolution in rainforest nutrient cycles. *Science* 214: 1024-1025.
- Nadkarni, N. M. 1984. Epiphyte biomass and nutrient capital of a Neotropical elfin forest. *Biotropica* 16: 249-256.
- Nadkarni, N. M. 1994. Diversity of species and interactions in the upper tree canopy of forest ecosystems. *American Zoologist* 34: 70-78.
- Nadkarni, N. M. 2000. Colonization of striped branch surfaces by epiphytes in a lower montane cloud forest, Monteverde, Costa Rica. *Biotropica* 32: 358-363.
- Nadkarni, N. M. y T. J. Matelson. 1991. Fine litter dynamics within the tree canopy of a tropical cloud forest. *Ecology* 72: 2071-2082.
- Nadkarni, N. M., M. C. Merwin y J. Nieder. 2001. Forest Canopies, plant diversity. Pp. 27-40. In *Encyclopedia of Biodiversity*. Academic press. San Diego, California USA.
- Nadkarni, N. M. y R. Solano. 2002. Potential effects of climate change on canopy communities in a tropical cloud forest: an experimental approach. *Oecologia* 131: 580-586.
- Nadkarni, N. M., D. Schaefer, T. J. Matelson y R. Solano. 2004. Biomass and nutrient pools of canopy and terrestrial components in a primary



- and secondary montane cloud forest, Costa Rica. *Forest Ecology and Management* 198: 223-236.
- Newton, A. E., C. J. Cox, J. G. Duckett, J. A. Wheeler, B. Goffinet, T. A. J. Hedderson, B. D. Mishler. 2000. Evolution of the major moss lineages: phylogenetic analyses based on multiple gene sequences and morphology. *The Bryologist* 103: 187-211.
- Okada, S., M. Fujisawa, T. Sone, S. Nakayama, R. Nishiyama, M. Takenaka, S. Yamaoka, M. Sakaida, K. Kuno, M. Takahama, K. T. Yamato, H. Fukuzawa, A. Brennicke y K. Ohyama. 2000. Construction of male and female PAC genomic libraries suitable for identification of Y-chromosome-specific clones from liverwort, *Marchantia polymorpha*. *The Plant Journal* 24: 421-428.
- Okland, R. H. 1995. Population biology of the clonal moss *Hylocomium splendens* in Norwegian boreal spruce forest. I. Demography. *Journal of Ecology* 83: 697-712.
- Orive, M. E. 2001. Somatic mutations in organisms with complex life histories. *Theoretical Population Biology* 59: 235-249.
- Otero-Arnaiz, A., M. De la Cruz y K. Oyama. 1997. El uso de los RAPDs como marcadores moleculares en plantas. *Boletín de la Sociedad Botánica de México* 60: 85-117.
- Pharo, E. J. y C. E. Zartman 2007. Bryophytes in a changing landscape: the hierarchical effects of habitat fragmentation on ecological and evolutionary processes. *Biological Conservation* 135: 315-325.
- Pohjamo, M. y S. Laaka-Lindberg. 2004. Demographic population structure of a leafy epixylic hepatic *Anastrophyllum hellerianum* (nees ex Lindenb.) R. M. Schust. *Plant Ecology* 173: 73-81.
- Pócs, T. 1982. Tropical forest bryophytes. Pp. 59-104. *In* A. J. E. Smith (ed.) *Bryophyte Ecology*. Chapman and Hall. Great Britain. 511 pp.
- Rao, D. N. 1982. Responses of bryophytes to air pollution. Pp. 445-471. *In* *Bryophyte Ecology* (A. J. E. Smith, ed.) . Chapman and Hall. Great Britain. 511 pp.
- Renzaglia, K. S., S. Schutte, R. J. Duff, R. Ligrone, A. J. Shaw, B. D. Mishler y J. Duckett. 2007. Bryophyte phylogeny: advancing the molecular and morphological frontiers. *The Bryologist* 110: 179-213.
- Richards, P. W. 1998. *The Tropical Rain Forest: An Ecological Study*. 2nd ed. (with contributions by R. P. D. Walsh, I. C. Baillie y P. Greig-Smith). Cambridge University Press, UK.
- Rhoades, F. M. 1995. Non vascular epiphytes in forest canopies: worldwide distribution, abundance and ecological roles. Pp. 353-408. *In* *forest canopies* (M. D. Lowman y N. M. Nadkarni, eds.). Academic Press , San Diego California.



- Romero, C., F. E. Putz y K. Kitajima. 2006. Ecophysiology in relation to exposure of pendant epiphytic bryophytes in the canopy of a tropical montane oak forest. *Biotropica* 38: 35-41.
- Salazar-Allen N., S. R. Gradstein y S. P. Churchill. 1996. Bryophytes as non-woody biodiversity indicators: a guide to the bryophytes of tropical America. A report. *Anales del instituto de Biología. Universidad Nacional Autónoma de México, Serie Botánica* 67: 59-65.
- Samecka-Cymerman, A., A.J. Kempers y B. Winter. 2002. Metal and macroelement concentration and effect of nutrient addition in terrestrial bryophytes growing on serpentine massifs in lower Silesia, Poland. *Environmental Geology* 43: 79-86.
- Saunders, D. A., R. J. Hobbs y C. R. Margules. 1991. Biological consequences of ecosystem fragmentation: a review. *Conservation Biology* 5: 18-32.
- Schofield, W. B. 1985. *Introduction to bryology*. Macmillan Publishing Company. USA. 431 pp.
- Scott, K. M. y B. Crandall-Stotler. 2002. RAPD polymorphism as an indicator of population structure, breeding system, and speciation of *Fossombronia*. *The Bryologist* 105: 225-232.
- Selkoe, K. A. y R. J. Toonen. 2006. Microsatellites for ecologists: a practical guide to using and evaluating microsatellite markers. *Ecology Letters* 9: 615-629.
- Shaw, J. 1988. Genetic variation for tolerance to copper and zinc within and among populations of the moss, *Funaria bigrometrica* Hedw. *New Phytologist* 10: 211-222.
- Shaw, A. J. 1990. Genetic and environmental effects on morphology and asexual reproduction in the moss, *Bryum bicolor*. *The Bryologist* 93: 1-6.
- Shaw, A. J. 1991. Ecological genetics of serpentine tolerance in the moss, *Funaria flavicans*: variation within and among haploid sib families. *American Journal of Botany* 78: 1487-1493.
- Shaw, A. J., S.C. Beer, y J. Lutz. 1989. Potential for the evolution of heavy metal tolerance in *Bryum argenteum*, a moss. *The Bryologist* 92: 73-80.
- Shaw, A. J. y J. F. Gaughan. 1993. Control of sex ratios in haploid populations of the moss, *Ceratodon purpureus*. *American Journal of Botany* 80: 584-591.
- Skotnicki, M. L., J. A. Ninham y P. M. Selkirk. 1998. High levels of RAPD diversity in the moss *Bryum argenteum* in Australia, New Zealand, and Antarctica. *The Bryologist* 101: 412-421.
- Skotnicki, M. L., J. A. Ninham y P. M. Selkirk. 1999. Genetic diversity and dispersal of the moss *Sacroneuron glaciale* on Ross Island, East Antarctica. *Molecular Ecology* 8: 753-762.



- Slatkin, M. 1985. Gene flow in natural populations. *Annual Review of Ecology and Systematics* 16: 393-430.
- Snäll, T., J. Fogelqvist, P. Ribeiro Jr. y M. Lascoux. 2004. Spatial genetic structure in two congeneric epiphytes with different dispersal strategies analyzed by three different methods. *Molecular Ecology* 13: 2109-2119.
- Söderström, L. 1993. Substrate preference in some forest bryophytes: a quantitative study. *Lindbergia* 18: 98-103.
- Söderström, L. 1998. Modeling the dynamics of bryophyte populations. Pp. 321-330. *In* J. W. Bates, N. W. Ashton y J. G. Duckett (eds.). *Bryology for the twenty-first century*. British Bryological Society, UK.
- Söderström, L. y H. J. During. 2005. Bryophyte rarity viewed from the perspectives of life history strategy and metapopulations dynamics. *Journal of Bryology* 27: 261-268.
- Söderström, L. y T. Herben. 1997. Dynamics of bryophyte metapopulations. *Advances in Bryology* 6: 205-240.
- Spagnuolo, V., L. Muscariello, S. Terrecciano y S. Giordano. 2007. Molecular biodiversity in the moss *Leptodon smithii* (Neckeraceae) in relation to habitat disturbance and fragmentation. *Journal of Plant Research* 120: 595-604.
- Stenøien, H. K. y S. M. Sæstad. 1999. Genetic structure in three haploid mosses (*Sphagnum*). *Heredity* 82: 391-400.
- Stenøien, H. K. y K. Flatberg. 2000. Genetic variability in the rare norwegian peat moss *Sphagnum troendelagicum*. *The Bryologist* 103: 794-801.
- Stotler, R. E. y B. Crandall-Stotler. 1974. A monograph of the genus *Bryopteris*. *Bryophytorum Bibliotheca* 3: 1-159.
- Stuntz, S., U. Simon y G. Zotz. 2002. Rainforest airconditioning: the moderating influence of epiphytes on the microclimate in tropical tree crowns. *International Journal of Biometereology* 46: 53-59.
- Sutherland, W. J. y A. R. Watkinson. 1986. Somatic mutation. Do plants evolve differently? *Natura* 320: 305.
- Tan, B. y T. Pócs. 2000. Bryogeography and conservation of bryophytes. Pp. 403-448. *In* *Bryophyte biology* (A. J. Shaw y B. Goffinet, eds.). Cambridge University Press. UK. 476 pp.
- Van der Velde, M., H. J. During, L. Van de Zande y R. Bijlsma. 2001. The reproductive biology of *Polytrichum formosum*: clonal structure and paternity reveled by microsateletes. *Molecular Ecology* 10: 2423-2434.
- Vital, D. y J. Prado. 2006. Moss and liverwort epiphytes on trunks of *Cyathea delgadii* in a fragment of tropical rain forest, Sao Paulo State, Brazil. *Tropical Bryology* 27: 51-54.
- Wang, Z., S. An, H. Liu, J. Feng, F. Zhang y X. Leng. 2006. Effect of stand age and management regime on genetic diversity of *Thuidium cymbifolium* in western China. *Biological Conservation* 129: 551-557.



- Waugh, R. y W. Powell. 1992. Using RAPD markers for crop improvement. *Trends in Biotechnology* 10: 186-191.
- Williams, J. G. K., A. R. Kubelik, K. J. Livak, J. A. Rafalski y S. V. Tingey. 1990. DNA polymorphism amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Research* 18: 6531-6535.
- Wilson, P. J. y J. Provan. 2003. Effect of habitat fragmentation on levels and patterns of genetic diversity in natural populations of the peat moss *Polytrichum commune*. *Proceedings Of The Royal Society of London Series B-biological Sciences* 270: 881-886.
- Wilson, R., S. R. Gradstein, H. Schneider y J. Heinrichs. 2006. Unravelling the phylogeny of Lejeuneaceae (Jungermanniopsida): evidence for four main lineages. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 43: 270-282.
- Wolf, J. H. D. 1993. Diversity patterns and biomass of epiphytic bryophytes and lichens along an altitudinal gradient in the northern Andes. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 80: 928-960.
- Wood, A. J., M. J. Oliver y D. J. Cove. 2000. Bryophytes as model systems. *The Bryologist* 103: 128-133.
- Wyatt, R. 1982. Population ecology of bryophytes. *Journal of the Hattori Botanical Laboratory* 52: 179-198.
- Wyatt, R. 1985. Species concepts in Bryophytes: input from population biology. *The Bryologist* 88: 182-189.
- Wyatt, R. 1992. Conservation of rare and endangered bryophytes: Input from population genetics. *Biological Conservation* 59: 99-107.
- Wyatt, R. 1994 Population genetics of bryophytes in relation to their reproductive biology. *Journal of the Hattori Botanical Laboratory* 76: 147-157.
- Wyatt R., A. Stoneburner. y I. J. Odrzykoski. 1989a. Bryophyte isozymes: systematic and evolutionary implications. Pp. 43-63. *In Plant population genetics, breeding and genetic resources* (A. H. D. Brown., M. T. Clegg, A. L. Kahler y B. S. Weir, eds.). Sinauer Associates, Sunderland Massachusetts.
- Wyatt R., I. J. Odrzykoski y A. Stoneburner. 1989b. High levels of genetic variability in the haploid moss *Plagiomnium ciliare*. *Evolution* 43: 1085-1096.
- Young, A., T. Boyle y T. Brown. 1996. The population genetic consequences of habitat fragmentation for plants. *Trends in Ecology and Evolution* 11: 413-418.
- Zambrano-García, A. 1991. Evaluación del contenido de plomo en el musgo *Leptodontium viticulosoides* (P. Beauv.) Wijk & Marg. De los bosques de oyamel de la Cuenca de México. Tesis de Maestría. Facultad de Ciencias, UNAM. México, D.F.



- Zartman, C. E. 2003. Habitat fragmentation impacts on epiphyllous bryophyte communities in central Amazonia. *Ecology* 84: 948-954.
- Zartman C. y A. J. Shaw. 2006. Metapopulation extinction thresholds in rain forest remnants. *The American Naturalist* 167: 177-189.
- Zartman, C. E., S. F. McDaniel, A. J. Shaw. 2006. Experimental habitat fragmentation increases linkage disequilibrium but does not affect genetic diversity or population structure in the Amazonian liverwort *Radula flaccida*. *Molecular Ecology* 15: 2305-2315.
- Zhu, Y. Q., L. Liu, Y. F. Wang y X. M. Shao. 2007. Genetic diversity and population structure of *Brachythecium rivulare* Schimp. (Brachytheciaceae) from Foping Nature Reserve, Shaanxi, China, detected by RAPD markers. *Journal of Bryology* (2007) 29: 104 - 110.
- Zouhair, R., P. Corradini, A. Defontaine y J.-N. Hallet. 2000. RAPD markers for genetic differentiation of species within *Polytrichum* (Polytrichaceae, Musci): a preliminary survey. *Taxon* 49: 217-229.
- Zotz, G. 2007. Johansson revisited: the spatial structure of epiphyte assemblages. *Journal of Vegetation Science* 18, 123-130.
- Zotz, G. y P. Heitz. 2001. The physiological ecology of vascular epiphytes: current knowledge, open questions. *Journal of Experimental Botany* 52, 2067-2078.



Apéndice

Apéndice 1

Especies de árboles con *Bryopteris filicina*

Especie de árbol	Chajul	Loma Bonita	Ixcán
Aff. <i>Genipa</i>			+
<i>Ampelocera hottlei</i> (Standl.) Standl.	+	+	+
<i>Amphitecna apiculata</i> A.H. Gentry		+	+
<i>Appunia guatemalensis</i> Donn. Sm.			+
<i>Astronium graveolens</i> Jacq.			+
<i>Bravaisia integerrima</i> (Spreng.) Standl.	+		
<i>Brosimum alicastrum</i> Sw.	+	+	+
<i>Casearia</i> sp		+	
<i>Cassipourea guianensis</i> Aubl.		+	
<i>Cecropia peltata</i> L.			+
<i>Cordia</i> sp			+
<i>Croton schiedeannus</i> Schltld.		+	+
<i>Desmopsis</i> sp.		+	
<i>Dialium guianense</i> (Aubl.) Sandwith	+	+	
<i>Eugenia</i> sp		+	
<i>Faramea occidentalis</i> (L.) A. Rich.	+	+	
<i>Ficus</i> sp		+	
<i>Geonoma mexicana</i> Liebm. ex Mart.		+	
<i>Guarea glabra</i> Vahl	+	+	+
<i>Guarea</i> sp	+	+	
<i>Hirtella americana</i> L.		+	
<i>Lonchocarpus cruentus</i> Lundell		+	
<i>Myrcia leptoclada</i> DC.	+		
<i>Nectandra reticulata</i>		+	
<i>Nectandra</i> sp	+		+
<i>Ocotea cernua</i> (Nees) Mez	+	+	
<i>Ouratea lucens</i> (Kunth) Engl.	+		
<i>Pachira aquatica</i> Aubl.			+
<i>Pleuranthodendron lindenii</i> (Turcz.) Sleumer			+
<i>Pouteria durlandii</i> (Standl.) Baehni	+	+	
<i>Protium copal</i> (Schltld. & Cham.) Engl.	+	+	
<i>Pseudolmedia oxyphyllaria</i> Donn. Sm.		+	

Apéndice 1. Continuación...

Espece de árbol	Chajul	Loma Bonita	Ixcán
<i>Psychotria chiapensis</i> Standl.	+		
<i>Psychotria</i> sp		+	
<i>Quararibea funebris</i> (La Llave) Vischer	+	+	+
<i>Rollinia jimenezii</i> Saff.			+
Sp1	+		
Sp2	+		
Sp3	+		
Sp4	+		
Sp5	+		
Sp6		+	
Sp7		+	
Sp8			+
Sp9			+
<i>Spondias mombin</i> L.	+		
<i>Stemmadenia donnell-smithii</i> (Rose) Woodson	+		
<i>Theobroma cacao</i>			+
<i>Thevetia abonai</i> (L.) A. DC.		+	
<i>Trichilia havanensis</i> Jacq.			+
<i>Vatairea lundellii</i> (Standl.) Killip ex Record	+	+	+
<i>Zanthoxylum kellermanii</i> P. Wilson	+		

Apéndice 2

Método de Extracción de ADN para *Bryopteris filicina*

Modificado de González , D. y A. P. Vovides. 2002. Low Intralineaage Divergence in *Ceratozamia* (Zamiaceae) Detected with Nuclear Ribosomal DNA ITS and Chloroplast DNA *trnL-F* Non-coding Region. Systematic Botany, 27: 654–661.

1. Pesar el tejido, una vez lavado y sin exceso de agua: entre 075 mg y 125 mg
2. Macerar en un mortero. Opcionalmente, picar con navajas en 50-100 µl de CTAB
3. Transferir la pulpa a un tubo ependorf, con 200-300 µl de CTAB Ix, durante 15 min (o secuencialmente hasta una hora) a temperatura ambiente; en algunos casos hasta una hora a 65° C (usar 100 µl de CTAB para enjuagar el mortero para llegar al total de 300)
4. Agregar: 150 µl de Cloroformo + Alcohol isoamilico, o 250 µl para 300 µl de CTAB; y agitar a temperatura ambiente durante 5-10 min.
-
5. Centrifugar a 13 000 rpm durante 10 min
6. Recuperar el sobre nadante: aproximadamente 200 µl y agregar 300 µl de etanol al 100%
7. Incubar entre 1 y 1:30 hrs a -80°C
-
8. Centrifugar a 13 000 rpm 10 min
9. Desechar el sobre nadante con cuidado de no perder el precipitado
10. Lavar con 200 µl de etanol al 70% y desechar el etanol.
11. Centrifugar 2 min
12. Secar al vacío a 50° C, 5 min
-
13. Resuspender en 20 o 30 µl de TE (Buffer TRIS-EDTA)
 - a) Etiquetar DNA's: género, fecha, nombre y número
 - b) Verificar extracciones en gel de agarosa 0.8% a 75 volts durante 35 mins
 - c) En cada celda agregar:
 - i 2 µl de loading buffer
 - ii 7 µl de una muestra de DNA



Apéndice 3

Método de PCR para RAPDs

Rocío Esteban Jiménez
Instituto de Ecología, UNAM.

PCR

Hacer mezcla de reacción mezclando los reactivos que se indican abajo. Los totales se multiplican por cada muestra de ADN que se va a correr. El volumen total es de 25 μ l que se pondrá a correr en el gel:

- 16.6 mM de Sulfato de amonio
- 67 mM de Tris-HCL, pH7.5
- 2 mM de MgCl₂
- 0.05% detergente aniónico
- 0.2% b-mercaptoetanol
- 4.4. μ M de BbA
- 100 μ M de cada dNTP
- 0.2 μ M de cada primer de 10 bases
- 10 ng de ADN molde
- 0.75 unidades de Taq polimerasa nativa (GIBCO)

Programa de termociclado

- Desnaturalización de 4 minutos a 94° C
- 35 ciclos de 45 segundos a 93° C, 45 segundos a 40° C y 1minuto 30 segundos a 72° C
- No hay extensión

Electroforesis

Gel de 1.4% de agarosa para correr la muestra de PCR para molde mediano (144 ml) y grande (288 ml):

	Gel mediano	Gel grande
Agarosa (g)	2.016	2.016
TBE 0.5x (ml)	144	288
Muestras por gel	22-40	12 a 40



Se pesa la agarosa, se vacía en un matraz y luego se agrega el TBE 0.5x. Se calienta la mezcla en el horno de microondas durante un minuto. Si no ebulle se pone otro minuto, cuidando de que no haya evaporación.

El gel se carga con: 25 μ l de muestra de PCR, 5 μ l de loading buffer. En el primer pozo se coloca una muestra con estándar más 10 μ l de loading buffer que sirve como referencia. Después de cargar todas las muestras se cubren con una gotita de aceite mineral para evitar que se evaporen. Las muestras se corren durante una hora a 120 voltios.

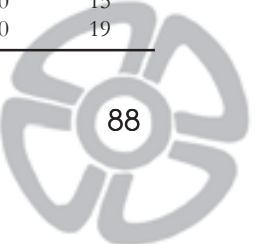
El gel se tiñe durante 20 minutos con bromuro de etidio (250 μ l de bromuro de etidio en 1,000 ml de agua destilada). Se enjuaga durante 20 minutos más en agua destilada.



Apéndice 4

Loci encontrados en *Bryopteris filicina* creciendo en árboles de la Selva Lacandona, Chiapas, México.

Sitio	Árbol	Posición	F10												F14												Total		
			1750	1650	1350	1150	1050	950	850	750	650	550	450	350	1650	1550	1450	1350	1250	1150	1050	950	850	750	650	550		450	350
Chajul	1	En medio	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	1	0	3
Chajul	2	Abajo	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
Chajul	3	En medio	0	1	0	1	1	1	0	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	9
Chajul	4	En medio	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
Chajul	4	Abajo	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
Chajul	5	Abajo	0	1	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	5
Chajul	6	Arriba	0	0	0	1	1	1	1	1	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	10
Chajul	6	Abajo	0	0	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	16
Chajul	7	En medio	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	0	0	0	4
Chajul	7	Arriba	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	1	4	
Chajul	7	Abajo	1	0	1	1	0	1	1	1	1	0	0	0	1	1	0	0	1	0	1	1	0	1	1	0	1	1	16
Chajul	8	Arriba	1	0	0	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4
Chajul	9	En medio	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	10
Chajul	9	Abajo	0	0	0	1	1	0	1	0	1	1	1	0	0	0	1	0	0	1	1	1	1	1	0	1	1	1	14
Chajul	9	Arriba	0	0	0	1	1	1	1	1	0	1	1	1	0	1	0	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	18
Chajul	10	Arriba	1	0	0	0	1	1	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6
Chajul	10	En medio	1	0	0	1	1	1	1	0	1	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8
Chajul	11	Abajo	0	0	0	0	1	1	0	1	1	0	1	0	1	0	0	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1	11
Chajul	11	En medio	0	0	0	0	1	1	0	1	1	0	1	0	0	1	0	0	1	0	1	0	1	1	0	1	1	1	12
Chajul	12	En medio	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	1	0	0	0	1	1	1	1	0	0	7
Chajul	12	Abajo	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	1	1	1	1	0	1	7	
Chajul	12	Arriba	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	1	1	1	1	1	0	0	9	
Chajul	13	En medio	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1	0	1	1	0	1	0	0	7
Chajul	14	Abajo	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	5
Chajul	15	Abajo	0	0	0	0	1	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	6
Chajul	16	Abajo	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3
Chajul	17	En medio	0	0	0	0	0	1	1	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5
Chajul	17	Abajo	0	1	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7
Chajul	17	Arriba	1	0	0	0	0	1	1	1	1	0	0	1	0	1	1	0	1	0	1	0	1	1	1	1	1	1	16
Chajul	18	Abajo	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3
Chajul	18	En medio	0	1	0	1	0	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	1	0	0	0	1	1	1	0	0	0	14
Chajul	18	Arriba	0	1	0	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	19
Chajul	19	Abajo	1	0	1	1	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	8	
Chajul	19	En medio	1	0	1	1	0	1	1	1	1	0	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	1	0	12	
Chajul	19	Arriba	1	0	0	1	0	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	1	1	1	1	0	15
Chajul	20	Abajo	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	0	1	1	1	0	1	0	1	0	19

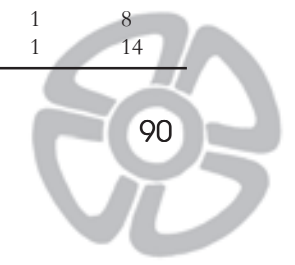


Apéndice 4. Continuación...

Sitio	Árbol	Posición	F10												F14												Total		
			1750	1650	1350	1150	1050	950	850	750	650	550	450	350	1650	1550	1450	1350	1250	1150	1050	950	850	750	650	550		450	350
Chajul	21	Arriba	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7
Chajul	21	Abajo	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7
Chajul	21	En medio	0	1	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	14	
Ruinas	22	En medio	0	0	0	1	1	0	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	6	
Ruinas	22	Abajo	0	0	0	1	1	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	1	1	0	8	
Ruinas	23	Abajo	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
Ruinas	24	Abajo	0	0	1	0	1	1	1	1	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8	
Ruinas	24	Arriba	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Ruinas	25	Abajo	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	
Ruinas	26	Arriba	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	12	
Ruinas	26	Abajo	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	1	0	0	1	0	1	1	0	0	1	16	
Ruinas	26	En medio	0	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	1	0	1	1	1	0	0	1	0	1	17	
Ruinas	27	Arriba	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	
Ruinas	27	En medio	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Ruinas	28	Arriba	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
Ruinas	28	En medio	1	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	5	
Ruinas	28	Abajo	0	0	0	0	1	1	1	1	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7	
Ruinas	29	Arriba	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
Ruinas	29	Abajo	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	
Ruinas	29	En medio	0	0	0	1	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	5	
Ruinas	30	Abajo	1	0	1	1	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	1	1	1	1	0	13	
Ruinas	30	En medio	1	0	1	1	0	1	0	1	1	0	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	1	1	1	15	
Ruinas	30	Arriba	0	0	0	1	1	1	1	1	1	0	1	1	0	0	1	0	1	1	0	0	1	1	1	1	1	16	
Ruinas	31	En medio	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1	5	
Ruinas	31	Arriba	0	1	0	0	1	1	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6	
Ruinas	31	Abajo	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1	12	
Ruinas	32	En medio	0	0	0	1	0	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7	
Ruinas	33	En medio	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	
Ruinas	33	Arriba	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	1	6	
Ruinas	33	Abajo	0	1	0	1	0	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	9	
Ruinas	34	Arriba	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	1	0	1	1	1	1	1	1	11	
Ruinas	35	Abajo	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1	0	1	1	1	1	1	8	
Ruinas	35	Arriba	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	0	0	1	0	9		
Ruinas	35	En medio	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	9		
Ruinas	36	Abajo	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	10	
Ruinas	36	Arriba	0	1	0	1	0	1	0	1	1	0	1	1	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	1	1	1	13	
Ruinas	37	Abajo	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	1	0	1	1	6	
Ruinas	37	Arriba	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1	1	1	1	6	
Ruinas	38	Abajo	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	1	1	0	1	1	6	
Ruinas	38	En medio	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	10	
Ruinas	39	Abajo	0	1	0	1	1	0	1	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7	
Ruinas	39	En medio	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1	0	0	0	1	0	1	0	1	0	1	1	0	0	0	8	
Ruinas	39	Arriba	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	1	0	0	1	9	
Ruinas	40	En medio	0	0	0	0	1	1	1	1	1	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0	1	1	1	1	0	12	
Ruinas	40	Abajo	0	1	0	0	0	1	1	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	13	
Ruinas	41	Arriba	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	
Ruinas	41	Abajo	0	0	0	1	0	1	0	1	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6	
Ruinas	41	En medio	0	0	0	0	0	1	0	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6	
Ruinas	42	En medio	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0	1	1	0	0	5	
Ruinas	42	Abajo	1	1	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	6	

Apéndice 4. Continuación...

Sitio	Árbol	Posición	F10												F14												Total	
			1750	1650	1350	1150	1050	950	850	750	650	550	450	350	1650	1550	1450	1350	1250	1150	1050	950	850	750	650	550		450
Ruinas	42	Arriba	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	1	1	0	1	1	1	1	1	0	0	1	11
Ruinas	43	En medio	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3
Ruinas	44	Arriba	0	1	0	1	0	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	9
Ruinas	44	Abajo	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1	0	0	1	1	1	1	0	1	1	18
Ruinas	45	Abajo	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	1	1	0	1	1	0	1	0	8
Ruinas	45	Arriba	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	0	0	1	1	0	1	1	0	0	0	1	1	0	9
Ruinas	45	En medio	0	0	0	1	1	1	0	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	0	1	0	1	18
Ruinas	46	En medio	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	8
Ruinas	46	Arriba	0	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10
Ruinas	47	Abajo	0	0	0	1	1	0	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6
Ruinas	48	Arriba	0	0	1	0	1	0	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	6
Ruinas	48	Abajo	0	0	0	0	1	1	1	1	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7
Ruinas	48	En medio	1	0	1	0	0	1	1	1	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8
Ruinas	49	Abajo	0	0	1	0	0	1	0	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7
Ruinas	49	Arriba	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7
Ruinas	49	En medio	0	0	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8
Ruinas	50	Abajo	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4
Ruinas	51	Arriba	1	0	1	0	1	0	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5
Ruinas	51	En medio	0	0	0	0	1	1	1	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6
Ruinas	51	Abajo	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7
Ixcán	52	En medio	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3
Ixcán	52	Arriba	0	0	0	0	0	1	1	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5
Ixcán	52	Abajo	0	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	10
Ixcán	53	Arriba	1	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0	14
Ixcán	53	En medio	0	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	1	14
Ixcán	54	En medio	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Ixcán	54	Arriba	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	4
Ixcán	54	Abajo	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	4
Ixcán	55	Arriba	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1	0	0	1	0	0	4
Ixcán	55	En medio	0	0	0	0	0	1	1	1	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6
Ixcán	55	Abajo	0	0	0	0	1	1	0	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	8
Ixcán	56	En medio	0	0	0	0	0	1	1	1	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	1	1	0	11
Ixcán	56	Abajo	1	0	0	0	0	1	1	1	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	12
Ixcán	56	Arriba	0	0	0	0	0	1	1	1	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	1	1	1	12
Ixcán	57	En medio	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	1	1	0	0	0	1	5
Ixcán	57	Abajo	0	0	0	1	0	1	1	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	7
Ixcán	57	Arriba	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	7
Ixcán	58	En medio	0	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10
Ixcán	58	Abajo	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10
Ixcán	59	Abajo	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	6
Ixcán	59	En medio	0	0	0	1	0	1	1	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7
Ixcán	59	Arriba	1	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8
Ixcán	60	Abajo	0	0	0	0	0	1	1	1	1	0	1	1	1	1	0	0	1	0	0	0	1	1	1	1	1	14
Ixcán	60	Arriba	1	0	0	0	1	1	1	1	1	0	1	1	0	0	1	0	0	0	1	0	1	1	1	1	1	15
Ixcán	60	En medio	0	0	0	0	0	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	1	1	1	15
Ixcán	61	Abajo	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Ixcán	61	Arriba	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
Ixcán	61	En medio	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
Ixcán	62	Arriba	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	8
Ixcán	62	En medio	0	1	0	1	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	14



Apéndice 4. Continuación...

Sitio	Árbol	Posición	F10											F14											Total				
			1750	1650	1350	1150	1050	950	850	750	650	550	450	350	1650	1550	1450	1350	1250	1150	1050	950	850	750		650	550	450	350
Ixcán	62	Abajo	0	1	1	1	0	0	0	1	1	1	1	1	0	1	0	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	19	
Ixcán	63	Abajo	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	1	1	5
Ixcán	63	Arriba	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	1	1	1	1	1	1	8
Ixcán	64	Abajo	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	1	1	1	6	
Ixcán	65	Arriba	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	2	
Ixcán	65	Abajo	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	1	0	1	1	1	0	1	0	9	
Ixcán	65	En medio	0	1	0	0	0	1	1	0	1	0	0	1	0	0	1	1	0	1	0	0	0	1	1	0	1	0	11
Ixcán	66	Abajo	0	1	0	0	0	1	1	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	1	1	0	1	12	
Ixcán	66	En medio	0	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0	1	0	1	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	0	13	
Ixcán	66	Arriba	0	0	0	1	1	0	0	0	1	0	1	1	0	0	0	1	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1	14
Ixcán	67	Arriba	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	
Ixcán	67	En medio	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	1	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	7	
Ixcán	67	Abajo	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	1	1	1	16	
Ixcán	68	Abajo	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	5	
Ixcán	68	En medio	1	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8	
Ixcán	69	Abajo	0	0	0	0	0	1	1	0	1	0	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	1	1	0	10	
Ixcán	69	En medio	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	1	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	1	1	0	1	11	
Ixcán	69	Arriba	0	0	0	0	0	1	1	1	1	0	1	1	1	0	1	0	1	1	0	1	1	1	1	1	0	16	
Ixcán	70	Abajo	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	4	
Ixcán	70	En medio	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	9	
Ixcán	70	Arriba	0	0	0	0	0	1	1	1	1	0	0	1	1	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	10	
Ixcán	71	Arriba	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	1	1	1	6	
Ixcán	71	Abajo	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	0	8	
Ixcán	71	En medio	0	0	1	0	1	1	0	1	0	0	1	1	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	16	
Ixcán	72	Arriba	0	0	0	1	0	1	1	1	1	0	1	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	9	
Ixcán	72	Abajo	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	18	
Ixcán	72	En medio	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	0	19	
Ixcán	73	Abajo	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
Ixcán	73	Arriba	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	2	
Ixcán	73	En medio	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	2	
Ixcán	74	En medio	0	0	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	
Ixcán	75	Arriba	0	0	0	0	0	1	0	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6	
Ixcán	75	En medio	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6	
Ixcán	75	Abajo	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6	
Ixcán	76	Abajo	0	0	0	1	0	1	1	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6	
Ixcán	77	En medio	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	

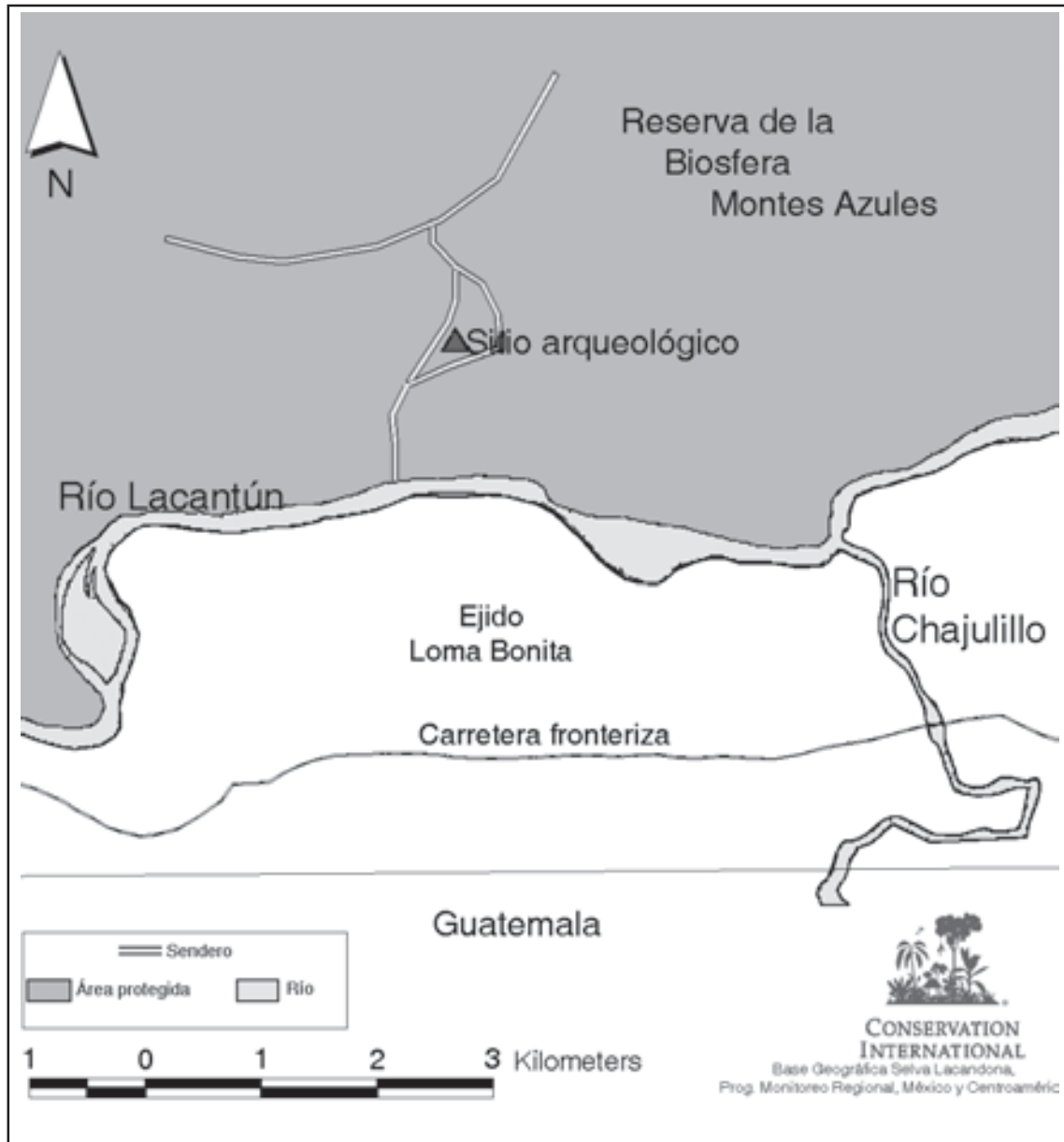


Apéndice 5

Red de senderos de la Estación Biológica Chajul, Selva Lacandona, Chiapas, México.



Red de senderos de las Ruinas de Loma Bonita, Selva Lacandona, Chiapas, México.



Equihua : *Bryopteris filicina*, una hepática de la Selva Lacandona, Chiapas.

Red de senderos de la Estación Ixcán, Selva Lacandona, Chiapas, México.

