



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE CIENCIAS

**COMPARACIÓN DE LA BIOLOGÍA
REPRODUCTIVA DE PLANTAS DE ALGODÓN
(*Gossypium hirsutum*) SILVESTRES Y
DOMESTICADAS**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

B I Ó L O G A

P R E S E N T A:

DIANA PAOLA PEÑA GONZÁLEZ



DIRECTOR DE TESIS:

DOCTORA ANA LAURA WEGIER BRIUOLO

México, D.F., 2015



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.

1. Datos del alumno

Peña

González

Diana Paola

56 71 66 86

Universidad Nacional Autónoma de
México

Facultad de Ciencias

Biología

306282126

2. Datos del tutor

Dra.

Ana Laura

Wegier

Brioulo

3. Datos del sinodal 1

Dr.

Alejandro

Ponce

Mendoza

4. Datos del sinodal 2

M. en C.

Héctor

Perdomo

Velázquez

5. Datos del sinodal 3

M. en C.

José Ignacio

Fernández

Méndez

6. Datos del sinodal 4

M. en C.

Violeta

Méndez

Solís

7. Datos del trabajo escrito

Comparación de la biología

Reproductiva de plantas de

algodón (*Gossypium hirsutum*)

silvestres y domesticadas

63 p

2015

Agradecimientos

Quiero agradecer a mi Universidad por darme la base y las herramientas para ser una profesional interesada en lo que realmente vale la pena. Me siento orgullosa de haber sido parte de la mejor Universidad de México, la UNAM y de la Facultad de Ciencias.

Agradezco el apoyo financiero y las facilidades otorgadas para hacer este trabajo por parte de la CONABIO y de la Dirección General del Sector Primario y Recursos Naturales Renovables (DGSPRNR), perteneciente a la SEMARNAT a través del “Programa para la conservación de las poblaciones silvestres del género *Gossypium* en México” del proyecto marco “Generación de elementos faltantes para la determinación de los centros de origen y diversidad genética”.

A mi tutora (en toda la extensión de la palabra) Ana Wegier por inspirarme en cada momento, por tu pasión y por ser una bióloga inigualable. Porque siempre creíste en mí y me mostraste los caminos y oportunidades que solo al conocerme podías saber. Muchas gracias por tu tiempo y enseñanza, es un honor trabajar a tu lado.

A mis sinodales, en especial a Alex por estar siempre presente y tenerme tanta paciencia para los números, siempre me animaste y corregiste. Gracias! Y a Héctor por tu apoyo y colaboración en esta tesis y por ser la persona tan especial que eres.

A los todos los chicos del laboratorio de Biotecnología quienes me acompañaron a campo y vivimos tantas aventuras: Fika, Marina, Adri, Luis, Nestor, Atsiri, Vale, Luis, Bruno, Joel y Jesús. Gracias por su apoyo.

A mis compañeros del trabajo, Lily por ser la vía de comunicación y a mi Wassa por acompañarme, alentarme e impulsarme en los pasos finales de este trabajo. Los quiero mucho.

Finalmente, doy gracias a Dios y a la vida por permitirme conocer, vivir y disfrutar tantos momentos, por las lecciones que me han dado y por las grandes personas que han puesto en mi camino.

Dedicatoria

Quiero dedicar esta tesis a mis padres por darme su apoyo absoluto e incondicional durante toda mi carrera y toda mi vida. Por confiar en mí y ser parte de todas mis alegrías y tristezas. Los amo y admiro por siempre tener fe, fortaleza y por enseñarme a luchar por mis sueños y a ser la persona que hoy soy.

A mis hermanos, a Gerar por siempre estar presente y a mi Vero calabaza por cada día darme una sonrisa cuando más la necesito, por seguir adelante y enseñarnos a que la vida es más de lo que parece. Gracias también a toda familia por su compañía, comprensión y por querer tanto a esta bióloga.

Contenido

RESUMEN

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Síndrome de Domesticación.....	1
1.2 Centros de Origen.....	2
1.3 Biotecnología y Bioseguridad.....	3
1.4 Biología reproductiva.....	5
1.5 Biología floral (morfología).....	7
1.6 Modelo de estudio.....	9
1.7 Antecedentes.....	12

2. JUSTIFICACIÓN y OBJETIVOS..... 14

3. MATERIALES Y MÉTODOS..... 16

3.1 Área e Individuos de estudio.....	16
3.2 Biología reproductiva.....	18
3.3 Biología floral (morfología).....	24

4. RESULTADOS..... 27

4.1 Biología Reproductiva.....	27
4.2 Biología floral (morfología).....	36

5. DISCUSIÓN..... 41

6. CONCLUSIONES..... 46

7. PERSPECTIVAS DE ESTUDIO..... 47

8. LITERATURA CITADA..... 49

Resumen

La planta de algodón *Gossypium hirsutum* tiene su centro de origen y de domesticación en México, en donde también se encuentran diferentes metapoblaciones silvestres y cultivos transgénicos de ésta especie. Debido a la baja eficacia de las medidas de bioseguridad, estudios anteriores han reportado transgenes en las poblaciones silvestres; con este trabajo se pretende aportar información para enriquecer los análisis de riesgo, estrategias de conservación, medidas de bioseguridad y monitoreos de plantas escapadas, a través de la diferenciación de las estrategias reproductivas de ambas poblaciones y de la identificación de las características morfológicas en la estructura floral que han sido moldeadas por el síndrome de domesticación.

Los resultados obtenidos demuestran que ambos grupos estudiados cuentan con un sistema de apareamiento mixto, ya que, tanto la autopolinización, como la polinización cruzada, tienen altos porcentajes de fructificación; en cuanto al periodo de germinación, se obtuvo una diferencia significativamente más larga en plantas silvestres.

En relación a la biología floral (morfología), el reagrupamiento de los datos distribuyó a ambos grupos de plantas (silvestres y domesticadas) de manera heterogénea en los clusters, sin embargo, se identificaron algunos traslapes, como probable resultado de la variación morfológica derivada de factores ambientales y/o genéticos. Así mismo, seis de los nueve caracteres estudiados mostraron diferencias significativas entre la metapoblación silvestre y la población cultivada.

1. INTRODUCCIÓN

El Reino Plantae cuenta con más de 300,000 especies descritas, de las cuales, 250,000 pertenecen al grupo de las angiospermas (división Magnoliophyta) caracterizándose por presentar estructuras especializadas llamadas flores que portan a los órganos reproductores masculinos y femeninos (Mauseth, 2009).

Las flores se han considerado como órganos con poca variación intraespecífica (Grant, 1949; Stebbins, 1974). Sin embargo, recientemente se ha demostrado la plasticidad fenotípica de caracteres florales, evaluando las consecuencias en la adecuación de dichas variaciones (Bawa, *et. al.*, 1983; Fenster, 1995; Herrera, 2004). Estos cambios pueden tener un significado evolutivo derivado de la selección que ejercen los polinizadores en determinados caracteres (Nilsson *et. al.*, 1988; Conner *et. al.*, 1993; Galen, 1999). Por el contrario, en otras especies se ha demostrado que la variación fenotípica de la flor no se explica necesariamente por la acción selectiva de los polinizadores, sino por la limitación de recursos (Lloyd, 1979) o por las presiones de selección derivadas de las actividades antropogénicas, las cuales pueden ir dirigidas a flores, frutos o semillas, mismas que derivan en el síndrome de domesticación (Changbao *et. al.*, 2006).

1.1 Síndrome de Domesticación

La domesticación es un proceso bastante complejo que involucra distintos tipos y umbrales de presiones de selección tanto naturales como artificiales.

El Síndrome de Domesticación (SD) se ha definido como el proceso en el que un organismo se vuelve genética y morfológicamente distinto a su ancestro silvestre y es dependiente del humano para su reproducción (Meyer, 2011). Generalmente el SD incluye un aumento en tamaño de los rasgos deseados tales como mayor succulencia, insensibilidad al fotoperiodo y cambios en el mecanismo de reproducción, dentro del cual se encuentran las estrategias de polinización, variabilidad floral, dispersión de semillas y tamaño de flores y frutos (Doebley *et. al.*, 2006; Raya *et. al.*, 2010).

Un ejemplo de lo anterior son los cambios identificados en *G. hirsutum* derivados de éste síndrome: reducción en la latencia de la semilla, compactación en la arquitectura de la planta, pérdida de la sensibilidad del fotoperiodo y aumento en la longitud, fineza y fuerza de los tricomas de las semillas los cuales generan la fibra (Gross, 2010).

Otro suceso derivado del Síndrome de Domesticación es la pérdida de diversidad genética de las plantas con respecto a sus parientes silvestres, por ejemplo se estima que la domesticación en la soya redujo su diversidad genética en un 50% y eliminó el 81% de los alelos raros presentes en *Glycine soja* (Kovach *et. al.*, 2008; Hyten *et. al.*, 2006).

Debido a ello y al aumento en la actividad agrícola con plantas domesticadas y/o genéticamente modificadas (GM), es importante conocer las características que determinan el SD, con la finalidad de generar estrategias de bioseguridad, las cuales eviten el flujo génico de estos cultivos con las poblaciones silvestres y de esta forma se logre reducir el riesgo de homogenización, la pérdida de la diversidad en plantas silvestres y se preserve el pool genético. (Wegier, 2013; García, 2004).

1.2 Centros de origen

Los centros de origen y de diversidad genética son sitios en donde se localizan los parientes silvestres de las plantas cultivadas y donde además se encuentran los organismos con los que éstas especies han mantenido interacciones por millones de años, conservando complejas redes de interacciones bióticas (Wegier, 2013).

De Candolle en 1882 fue el primer autor en tratar los Centros de Origen mediante la revisión de evidencias botánicas, arqueobotánica, paleontológicas y filológicas, identificando que donde una especie fue abundante, no necesariamente es su centro de origen.

Posteriormente entre 1920 y 1940, Vavilov realizó uno de los trabajos más extensos en la materia, recabando gran cantidad de información sobre la variación de las diferentes especies cultivadas. Éste autor llegó a la conclusión de que el grado de diversidad es un indicador del tiempo que una especie se ha cultivado en determinada región: los cultivos presentan mayor diversidad en aquellas áreas en donde se han cultivado por más tiempo. Así, al encontrar el centro de mayor diversidad genética de un cultivo, se ubica también su centro de origen. En 1951 reconoció la diferencia entre centro de diversidad y centro de origen a través de los patrones de variación y su clasificación dentro de los cultivos, con lo cual logró establecer las regiones de máxima diversidad; con ello, propuso ocho centros de origen de plantas cultivadas y centros básicos de la agricultura en el mundo.

Uno de éstos ocho centros es el Mesoamericano, dentro del cual se encuentra México, en donde numerosas plantas como el maíz, jitomate, papaya, cacao, tomate y algodón fueron domesticadas (Raya et. al., 2010).

Para el caso del algodón, Wegier en 2013 identificó la diversidad y estructura genética de las metapoblaciones silvestres de *G. hirsutum*, para conocer los patrones históricos que la moldearon, ya que actualmente es la especie de algodón más utilizada a nivel mundial.

1.3 Biotecnología y Bioseguridad

La variación genética en productos de la agricultura no es un fenómeno nuevo; eventos como plagas y sequías han influenciado la composición genética a través del proceso de selección natural, sin embargo, los agricultores han modificado este proceso distinguiendo caracteres específicos de las plantas a fin de adecuarlas para beneficio humano; actualmente las herramientas disponibles para perfeccionar las plantas de interés agrícola han evolucionado hasta llegar a la ingeniería genética (Vaughan, et. al., 2007).

La transformación del algodón, a través de la ingeniería genética es un proceso durante el cual un fragmento identificado de ADN es insertado al cromosoma de la planta, el cual puede o no ser transcrito activamente, lo que permite altear la expresión genética y mejorar características agronómicas o rasgos específicos en la fibra. Las características que han sido manipuladas en el algodón son: la resistencia a nematodos y a microorganismos patógenos, la tolerancia a herbicidas y al estrés producido por factores ambientales y la modificación de los niveles de ciertas hormonas. (Stewart, et. al., 2010).

Cabe señalar que en 2013, la producción mundial de algodón fue de 24.5 millones de Toneladas, de las cuales México reportó 172 mil Toneladas de algodón genéticamente modificado, en una extensión de 113 mil hectáreas, la cual representa el 90% del total de algodón nacional cultivado (FAOSTAT, 2014). Derivado del aumento en la extensión de estos cultivos, se han realizado estudios en donde se demuestra que la liberación de Organismos Genéticamente Modificados (OGM) al ambiente puede ocasionar diversos efectos al entorno (Nodari, et al, 2001; Conner et al. 2003; Ellstrand 2003; Rissler, et. al., 1996; Sharma, et. al, 2000; Snow 2002; Stewart et al. 2005).

Uno de estos daños es el intercambio genético entre poblaciones cultivadas y poblaciones silvestres de la misma especie el cual moldea y homogeniza las poblaciones y puede tener como consecuencia la rápida disminución de la diversidad genética y modificación de sistemas reproductivos y estrategias para afrontar los factores bióticos y abióticos del medio (García, 2004). Este evento ha sido identificado en México a través de la dispersión de las semillas provenientes de poblaciones cultivadas motivado por diversas causas: responsabilidad legal (falta de medidas y rigor en la custodia durante el transporte de las semillas), actores desinformados (utilización de “semillas huérfanas” para cultivo o alimento de ganado por personas que desconocen el origen de estas), causas biológicas (capacidad de dispersión de la especie) y vía ilegal (uso de semillas GM para el cultivo sin los permisos y registros requeridos) (Wegier, 2013). Por este y por otros daños al ambiente es importante

realizar exhaustivos análisis de riesgos y protocolos de bioseguridad antes de cada liberación de OGMs (García, 2004).

1.4 Biología reproductiva

Se ha identificado que la biología reproductiva es una rama importante para la evaluación de las medidas de adecuación a través de la producción de frutos y semillas, el número de óvulos y polen y de la tasa y tipo de polinización, las cuales ayudan a la comprensión de los mecanismos de flujo génico dentro y entre poblaciones (Barrett, *et. al.*, 1990; Dafni, 1992 en Flores *et. al.*, 2013).

Esta rama implica el conocimiento de los aspectos morfológicos, fisiológicos y genéticos que determinan el comportamiento reproductivo de una especie vegetal, permitiendo determinar la estructura floral y el sistema de apareamiento (Muñoz, 2002; Jiménez, *et. al.*, 2009).

Éste última, se define como los caracteres reproductivos que determinan los patrones de polinización en los organismos, es decir, quien se aparea con quien y como lo hacen (Abarca *et. al.*, 2007). Éste sistema da origen a que las especies se clasifiquen de la siguiente manera: a) autógamias, cuando la progenie se produce por autopolinización, b) alógamas, cuando la fecundación de los óvulos requiere del polen de otros individuos (xenogamas o polinización cruzada) y c) cleistogamas, cuando la reproducción se presenta sin apertura de flores (apomixis o automixis) (Cruden, 1977). Cada uno de estos sistemas presenta ventajas y desventajas evolutivas y determinan en gran medida las características genéticas de las poblaciones (Eguiarte *et. al.*, 2003, en Jiménez, *et. al.*, 2009).

La autogamia (autopolinización) es una de las principales estrategias de la reproducción sexual, en donde la fertilización de los óvulos se realiza cuando el polen llega al gineceo de la misma flor y fertiliza sus óvulos, asegurando la descendencia del individuo a pesar de la disminución de la variabilidad genética del mismo; esta

estrategia se puede evitar con dos tipos de autoincompatibilidades: la esporofítica y la gametofítica. Además de éstas incompatibilidades, existen estrategias que disminuyen el riesgo de la autofertilización como la hercogamia refiriéndose a la separación espacial entre las funciones masculinas y femeninas en una flor perfecta; se puede esperar que el grado de autofertilización disminuya mientras mayor sea la distancia entre la parte femenina y la masculina (Eguiarte *et. al.*, 2008)

Según la ley Darwin-Knight, los sistemas reproductivos de las plantas han evolucionado de manera desfavorable a la autopolinización, ya que cuando se cruzan entre parientes muestran una menor adecuación, la cual se ha llamado depresión por endogamia (Eguiarte, 2008; Falconer, 1996; Crow, 1999). El término endogamia es usado para describir varios fenómenos relacionados, todos ellos referentes a situaciones en donde los apareamientos ocurren entre parientes llegando a la conclusión de que los eventos que tienen como consecuencia apareamientos endogámicos, incrementan los niveles de homocigosis en una población (Hartl, 1980, en Abarca, *et. al.*, 2007).

La segunda estrategia de reproducción es la polinización cruzada (alogamia), en donde el paso del polen a los estambres va de una flor a otra en plantas distintas de la misma especie. Este tipo de reproducción produce una descendencia más variada y mejor equipada para afrontar los cambios del medio. Los vectores que pueden realizar la transferencia de polen van desde el viento (polinización anemófila) hasta una gran variedad de insectos (polinización entomófila) y otros organismos (Reyes, *et. al.*, 2000).

Finalmente, la cleistogamia es una estrategia de las plantas para producir semillas sin abrir las flores, por lo que la reproducción es por autopolinización. La principal ventaja de esta estrategia es que requiere menos recursos debido a que no necesita desarrollar pétalos, néctar ni grandes cantidades de polen, es particularmente útil en sitios desfavorables o con condiciones adversas.

Si bien la mayoría de las especies no pueden clasificarse como estrictamente autógamas o alógamas, estas dos posibilidades están asociadas con una gran variedad

de factores ecológicos, morfológicos, fisiológicos y genéticos que, combinados, determinan y caracterizan el sistema reproductivo, pudiendo generar además plantas con sistema de apareamiento mixto (sistema en el cual las plantas hermafroditas se pueden reproducir por autopolinización o por polinización cruzada) como estrategia para asegurar descendencia en caso de que haya escases de polinizadores o condiciones ambientales desfavorables. (Jain, 1976; Raimúndez, 1998).

1.5 Variación morfológica floral

Los caracteres reproductivos generalmente muestran cierto grado de variación morfológica como producto de la variabilidad genética de cada especie o de las limitaciones intrínsecas del desarrollo (Cheverud, 1984) sobre las cuales actúa la selección natural como principal fuerza de especiación (Cronquist, 1968; Proctor, *et al.*, 1996).

Las dimensiones florales son los caracteres morfológicos con mayor variación en las plantas (Cronquist, 1968). Las flores con la misma organización estructural pueden diferir en varios órdenes de magnitud de tamaño en la misma especie (Endress, 1996; Armbruster, 1988; Cresswell, 1998; Sakai, *et al.*, 1999). Muchas de estas variaciones (genotípicas o fenotípicas) están asociadas a la amplia distribución geográfica y a variaciones bióticas y abióticas del ambiente. (Ramírez, *et al.*, 2010). Uno de los factores bióticos de variación son los polinizadores, los cuales han sido reconocidos como los agentes principales de presión de selección en los rasgos florales de muchas especies (Darwin, 1877; Campbell, 1997; Schemske, 1989), esta selección actúa sobre la variación fenotípica entre los individuos de una población.

Otro factor que puede influir en la falta de correlación entre caracteres florales en una especie es la presencia de un sistema mixto de polinización, el cual no está sujeto a presiones selectivas direccionales, lo que permite el acceso de una amplia gama de polinizadores a las recompensas ofrecidas en las flores (Berg 1960; Navarro *et al.* 2007 en Ramírez, *et al.* 2010).

Sin embargo, independiente a los factores bióticos y abióticos con los que las plantas interactúan de manera cotidiana, pueden existir otras fuerzas de selección en las que no necesariamente las flores son el órgano blanco de selección, tal es el caso del síndrome de domesticación, en donde de manera indirecta (por modificaciones al sistema reproductivo, tiempo de floración, etc), la estructura floral se ve modificada. Estas alteraciones pueden ayudar a identificar a las poblaciones silvestres de las cultivadas por medio de su fenotipo sin importar el ambiente en el que estén (Carmona, 2002).

1.6 Modelo de Estudio

El género *Gossypium* se originó en África hace aproximadamente 25 millones de años y debido a la alta tolerancia de las semillas a la salinidad logró tener una dispersión oceánica, generando diversificación alrededor del mundo. El género se compone de casi 45 especies diploides y 5 tetraploides (Fryxell, 1986), pertenecientes a la familia Malvaceae. Principalmente cuatro especies han sido cultivadas: *Gossypium arboreum* L. y *G. herbaceum* L. (Diploides) utilizadas en Asia y Europa antes del descubrimiento de América y *G. hirsutum* y *G. barbadense* (Tetraploides), las cuales actualmente ocupan el 95% y 4.5% respectivamente de los cultivos de algodón del mundo (Wendel, 2003).

Especie de estudio: *Gossypium hirsutum* L.

La especie de estudio *G. hirsutum* L. fue descrita por Carl Linneaus a mediados del siglo XVIII (Phillips, 1974).

Tabla 1. Clasificación Taxonómica de *Gossypium hirsutum*

REINO	Plantae
DIVISIÓN	Magnoliophyta
CLASE	Magnoliopsida
ORDEN	Malvales
FAMILIA	Malvaceae
GÉNERO	<i>Gossypium</i> L. 1753
ESPECIE	<i>hirsutum</i> L. 1763

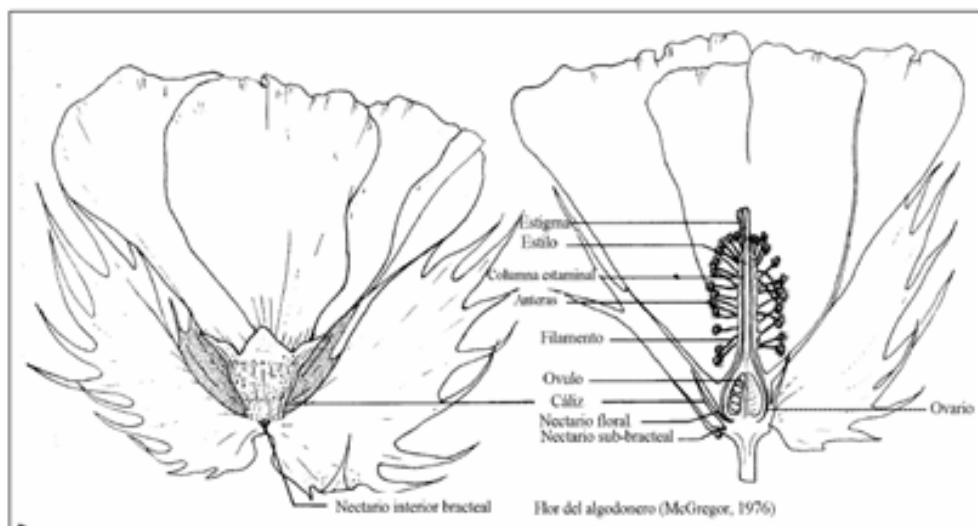


Figura 1. Esquema de la flor de *Gossypium hirsutum* (McGregor, 1976)

El algodón fue una de las primeras plantas domesticadas por los habitantes de América, la evidencia más antigua de *G. hirsutum* se encuentra en el Valle de Tehuacán en Puebla, México, datado entre 3,400 y 2,300 años A.C. (Smith, et. al., 1971; Ulloa, et. al., 2006). Estudios genéticos han revelado dos centros de diversidad genética: el Caribe y el sur de México-Guatemala, siendo este último en donde se ha encontrado a los individuos silvestres más parecidos, específicamente en la península de Yucatán, México, donde los individuos silvestres son dominantes en la constitución de la vegetación (Barubaker et. al., 1994).

La importancia de ser el centro de origen, radica en que actualmente el cultivo del algodón representa una de las actividades fundamentales de la agricultura e industria a nivel mundial (Aramendiz, 2010), de las cuatro especies de algodón domesticadas, *G. hirsutum* ocupa el 95% de la producción, por lo que identificar el centro de origen y mantener las poblaciones silvestres sin flujo génico por parte de las poblaciones cultivadas, es vital para conservar la gran diversidad genética que existe en la especie. Debido a su alto interés económico y social, se han realizado numerosos estudios sobre la biología, ecología y genética de la especie, sin embargo, la mayoría ha sido con plantas domesticadas y fuera de su distribución natural, por lo que no se deben extrapolar los resultados al resto de la especie.

Morfológicamente, las flores de plantas cultivadas de *G. hirsutum* están formadas por tres, cuatro o cinco brácteas verdes que simulan pequeñas estructuras piramidales que encierran completamente el desarrollo de la flor (Fig. 1). Normalmente transcurren 25 días desde la aparición del cuerpo floral hasta la antesis (Stewart, 1996). La flor va de 5 a 9 cm de largo, es pentámera, perfecta (estructura masculina y femenina en la misma flor) y cuenta con nectarios florales y extra florales. Se generan aproximadamente 20,000 granos de polen por flor y su viabilidad decrece rápidamente después de 8 horas de antesis (Pérez, 2010). El polen germina después de 30 minutos de su deposición en el estigma, mientras que la fertilización del ovulo ocurre de 24 a 48 horas después de la polinización (Pundir, 1972). En las flores de algodón la antesis se presenta durante el amanecer con el aumento de la temperatura, cambiando de color crema o amarillo claro a rosado o morado cuando disminuye la temperatura por la tarde.

En relación al sistema de apareamiento, según la mayoría de los estudios en campos de cultivo de *G. hirsutum* la autopolinización es la principal forma de reproducción y la polinización cruzada disminuye entre más distante se encuentre la fuente de polen, McGregor en 1976 rastreó el movimiento del polen utilizando partículas fluorescentes en un campo de algodón, encontrando que incluso a una distancia de 45 a 60 m del campo de algodón se detectaron partículas fluorescentes en 1.6% de las flores, lo que significa que la tasa de entrecruzamiento disminuye cuando se incrementa la distancia.

Es importante mencionar que estudios indirectos por genética de poblaciones demuestran que la distancia no es una medida que evite la dispersión, ya que ésta es principalmente vía semillas, las cuales se mueven por factores bióticos y abióticos (Wendel, 2010).

1.7 Antecedentes

Existen pocos estudios sobre de la biología reproductiva de *G. hirsutum*, sin embargo los que se han realizado han sido en plantas domesticadas y fuera del centro de origen y domesticación.

- McGregor, 1976 rastreó el movimiento del polen utilizando partículas fluorescentes en un campo de algodón en EEUU, el cual estaba rodeado por un gran número de colonias de abejas para garantizar una amplia oportunidad de transferencia de polen, encontró que incluso a una distancia de 45 a 60 m del campo de algodón se detectaron partículas fluorescentes en 1.6% de las flores.
- Llewellyn, 1996 realizó un estudio durante dos estaciones en Australia en donde determinó la dispersión de polen de una parcela de ensayo de algodón transgénico a través de la frecuencia del marcador neomicina fosfotransferasa (NptII). La dispersión de polen fue baja en ambos años. En el primer año la fecundación cruzada promedio fue de 0,15% de la progenie a 1 m y por debajo de 0,08% a 4 m de la parcela. Los resultados obtenidos indicaron que 20 m de zonas de amortiguamiento servirían para limitar la dispersión del polen transgénico.
- Zhang y colaboradores en 2005 utilizaron dos tipos de algodones genéticamente modificados (de t_{fd} A y genes de Bt) para evaluar la frecuencia y distancia de dispersión de polen en una parcela transgénica de 6 x 6 metros rodeada por un campo no transgénico de 210 x 210 metros en China. La frecuencia de flujo y la distancia entre ambos tipos de algodones GM fue similar, obteniendo 8.16% de polinización cruzada a 1 m y 0.08% a 20 m de las plantas transgénicas. La distancia más lejana de la dispersión del polen de algodón transgénico fue de 50 m, concluyendo que una zona de protección de 60 m podría servir para limitar la dispersión del polen transgénico.

- Van Daynze, 2005 encontró que el flujo genético declinó exponencialmente entre más alejado se encontraba de la parcela de partida, de 7.65% a 0.3 metros a > de 1% después de 9 metros, contando con una elevada actividad de polinizadores. Sin embargo se detectó 0.04% de polen a 1 milla (1.6 km).
- Wegier et. al., 2011 mostraron que los transgenes provenientes del algodón GM se han dispersado a plantas silvestres de *G. hirsutum*. Realizaron un mapa de México señalando ocho metapoblaciones de plantas silvestres, en donde una de cada cuatro muestras contenía por lo menos un transgen de los utilizados en los campos de cultivo de algodón OGM en el norte del país (Cry1Ab, cry2A, CP4 EPSPS, Pat/bar), afectando por lo menos a la mitad de las metapoblaciones silvestres, tanto en las cercanas a los cultivos como a las lejanas (más de 750 km). En este estudio se encontraron combinaciones de transgenes que no se encuentran en semillas comerciales, pudiéndose tratar de segregación independiente, agregamiento de transgenes o silenciamiento. Según este autor, después de las causas biológicas, las principales fuentes de dispersión del algodón transgénico en México son: la pérdida de la responsabilidad legal en la cadena productiva, actores desinformados y el transporte de las semillas en vehículos inadecuados.
- Bourgou et. al. en 2013 identificaron, a través de los kits de detección Bollgard II, la presencia de transgenes en Burkina Faso (África Occidental). El estudio se realizó en una parcela con algodón transgénico rodeado por otra con algodón sin transgenes, la aplicación de pesticida fue un factor de control. El flujo genético en los lugares donde no se aplicó insecticida fue de 4.63% a 2 metros, mientras que con insecticida no se detectó ningún flujo genético a más de 25 metros de distancia de los campos con transgénicos.

2. JUSTIFICACIÓN

Debido a que México es considerado centro de origen, de diversidad genética y es también un sitio en donde se cultivan plantas genéticamente modificadas (GM) de algodón *Gossypium hirsutum*, se realiza el presente estudio, el cual tiene la finalidad de determinar las características que han sido moldeadas por el síndrome de domesticación, además de identificar el sistema de apareamiento más exitoso tanto en plantas silvestres como en las cultivadas. Con lo anterior, se aportará información para robustecer las estrategias de bioseguridad en campos GM y el manejo de las poblaciones silvestres, así como apoyar en la identificación de las posibles zonas de entrecruzamiento entre plantas escapadas y silvestres.

OBJETIVO GENERAL

- Diferenciar características del sistema reproductivo de plantas cultivadas y silvestres de la especie *Gossypium hirsutum* L. en México.

OBJETIVOS PARTICULARES

- Caracterizar el sistema de apareamiento de plantas cultivadas y silvestres de la especie *Gossypium hirsutum*.
- Evaluar el porcentaje y duración del periodo de germinación de los frutos producidos en diferentes tratamientos reproductivos por plantas cultivadas y silvestres de la especie *G. hirsutum*.
- Analizar las diferencias entre el peso de la fibra y el tratamiento reproductivo en plantas silvestres y cultivadas.
- Identificar diferencias en el tamaño de los caracteres florales de plantas cultivadas y silvestres de la especie *G. hirsutum*.

3. MÉTODOS

3.1. Área e Individuos de estudio

Plantas silvestres

México cuenta con ocho metapoblaciones de plantas de algodón silvestre (Wegier *et al.*, 2011). Las localidades trabajadas en este estudio pertenecen a la metapoblación Pacífico Sur, la cual se encuentra en los estados de Oaxaca y Chiapas (Tabla 2).

Tabla 2. Localidades trabajadas en este estudio de la metapoblación Pacífico Sur.

Estado	Localidad*	Coordenadas	No. de Individuos**
Oaxaca	Zapote (A)		4
Oaxaca	Entronque Pochutla-Huatulco (B)	15° 43' 33.58'' N 96° 27' 58.75'' O	1
Oaxaca	Pochutla (C)	15° 45' 43.05'' N 96° 27' 51.15'' O	2
Oaxaca	Morro Ayuta (D)	16° 01' 43.30'' N 95° 40' 02.45'' O	7
Oaxaca	La Ventosa (E)	16° 33' 08.96'' N 94° 56' 08.96'' O	8

* Las letras corresponden a las marcas de la Figura 2.

**El número de individuos representa al número de plantas que se encontraban dentro de cada localidad.



Figura 2. Mapa con las localidades trabajadas en Oaxaca, México. (A= Zapote, B=Entronque Pochutla-Huatulco, C=Pochutla, D= Morro Ayuta, E= La Ventosa)

Plantas domesticadas (cultivadas)

Los individuos domesticados que se usaron en este estudio fueron adquiridos en el mercado de plantas de Nativitas llamado “Madreselva”, ubicado en Xochimilco, DF. Según lo explicado por el vendedor fueron traídas de Cuernavaca, Morelos, siendo cultivadas en un vivero de esa localidad. Se utilizaron 30 individuos de aproximadamente 80 cm de alto, con hojas de 8 a 20 cm, en etapa reproductiva.

Las plantas se colocaron en un invernadero de estructura metálica, recubierto de polietileno con un área de 7 m². Las características con las que se mantuvieron fueron: riego fue por goteo cada tercer día, temperatura controlada con calentador de aceite durante los meses de diciembre-febrero a 26°C, y un tratamiento con el insecticida orgánico “Contracar” para controlar la presencia de áfidos. En esta investigación la clave de los individuos domesticados fue Cult_XX, en donde “Cult” hace referencia a los organismos cultivados y XX al número distintivo de cada individuo.



Figura 3. Plantas cultivadas ubicadas dentro del invernadero. Algunas presentan flores embolsadas y cinchos que indican el color de los tratamientos.

3.2. Biología Reproductiva

La determinación del sistema de apareamiento de la especie *G. hirsutum* se llevó a cabo de forma experimental aplicando cinco tratamientos los cuales tienen el objetivo de direccionar el tipo de sistema reproductivo de la planta. Además de un grupo control (Kearns e Inouye, 2003), completando mínimo 20 flores por tratamiento (Figura 4).

Tratamientos:

a) Agamospermia. Consiste en la emasculación (quitar las anteras) de botones maduros antes de la antesis (apertura de la flor). Posteriormente, las flores se embolsaron hasta la senescencia (cuando la flor se marchita). Este tratamiento evalúa si la especie es capaz de producir semillas en ausencia de polen.

b) Autopolinización manual. Los botones fueron embolsados antes de la antesis con la finalidad de evitar la visita de polinizadores; una vez expuesto el polen, se depositó

abundante polen en el estigma de la misma flor con ayuda de un pincel. Posteriormente las flores se embolsaron nuevamente. Este tratamiento determina si existe un mecanismo de incompatibilidad en la especie.

c) Autopolinización automática. Las flores se mantuvieron embolsadas hasta la senescencia, sin manipulación. Este tratamiento ayuda a comprobar si la planta es capaz de autopolinizarse de manera espontánea en ausencia de los polinizadores.

d) Polinización cruzada. Los botones fueron embolsados antes de la antesis con la finalidad de evitar la visita de polinizadores; posteriormente cuando las flores abrían se emasculaban antes de que las anteras expusieran el polen. Se hizo una mezcla de polen proveniente de flores de diferentes individuos que hayan abierto el mismo día y con estos gametos se polinizaba la flor, finalmente se volvían a embolsar. Este tratamiento determina la capacidad para producir semillas con polen de otras plantas.

e) Control emasculado. Las flores se emascularon y se dejarán expuestas. Este control ayuda a comprobar si el proceso de emasculación afecta a la capacidad de la planta para producir semillas.

f) Control. Flores sin manipulación

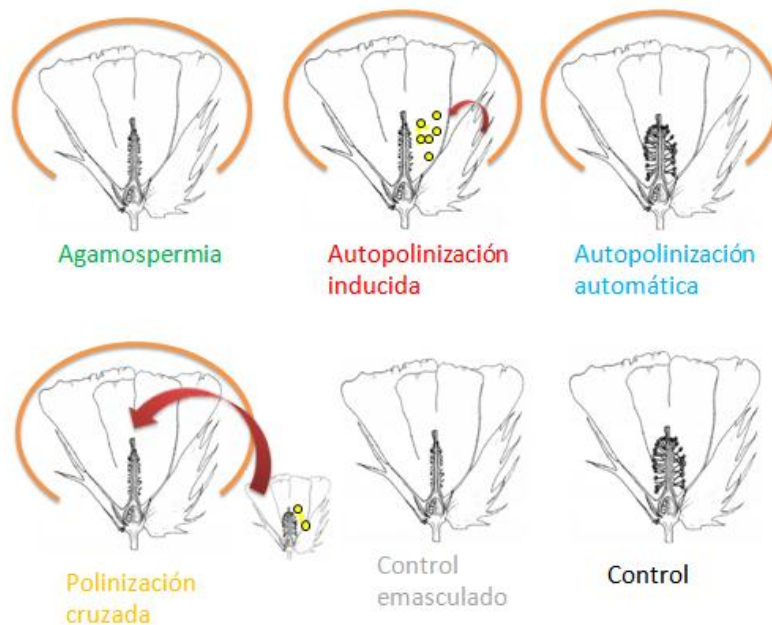


Figura 4. Diagrama de los 5 tratamientos y el control para estudiar la biología reproductiva de la especie *G. hirsutum* domesticada y silvestre.



Figura 5. Fotos de flores de *Gossypium hirsutum*. Izquierda sin emasculación, Derecha emasculada.

Para evitar efectos de la manipulación durante el emasculado de las flores, se utilizaron botones maduros con anteras cerradas (estado de *white Bloom*) (Ritchie *et al.* 2007). La emasculación se realizó retirando las anteras con pinzas entomológicas del número 0.5 mm. Para el marcaje de cada tratamiento se colocaron cinchos de diferentes colores en el pedicelo. Para el aislamiento de las flores se usaron bolsas de tul de 10 x 10 cm color beige, procurando similar el tono de la flor; a dichas bolsas se les engraparon etiquetas de acetato indicando la fecha y tipo de tratamiento, así como el número de individuo al que pertenecía la flor. Las bolsas de tul con los tratamientos fueron colectados hasta la madurez de los frutos.

Posterior a la colecta, los datos registrados fueron: Número total de semillas, número de semillas vanas (semillas abortadas), número de semillas sembradas, peso de semillas, peso del fruto y peso de la fibra.

Finalmente, se germinaron las semillas por lo cual se llevó a cabo un proceso de desinfección (Tabla 3) (Fuente personal).

Tabla 3. Proceso de lavado para germinación de semillas.

Proceso	Solución	Tiempo
Hidratación	Agua potable	3 minutos
Desinfección	Captan	5 minutos
Enjuague	Agua potable	3 veces x 1 minuto
Desinfección	Hipoclorito de Sodio 70%	15 minutos
Enjuague	Agua potable	5 veces x 1 minuto

Para el proceso de germinación, las semillas se colocaron en domos de plástico con una base de fieltro húmedo en un cuarto de cultivo con la temperatura controlada a 26°C y con iluminación 12 x 12. Se puso un máximo de 35 semillas por caja (Figura 6).

Posterior al surgimiento de las primeras hojas foliares, las plántulas se trasladaron a sustrato sólido compuesto de arena, perlita y *peatmoss* en proporción 1:1:6

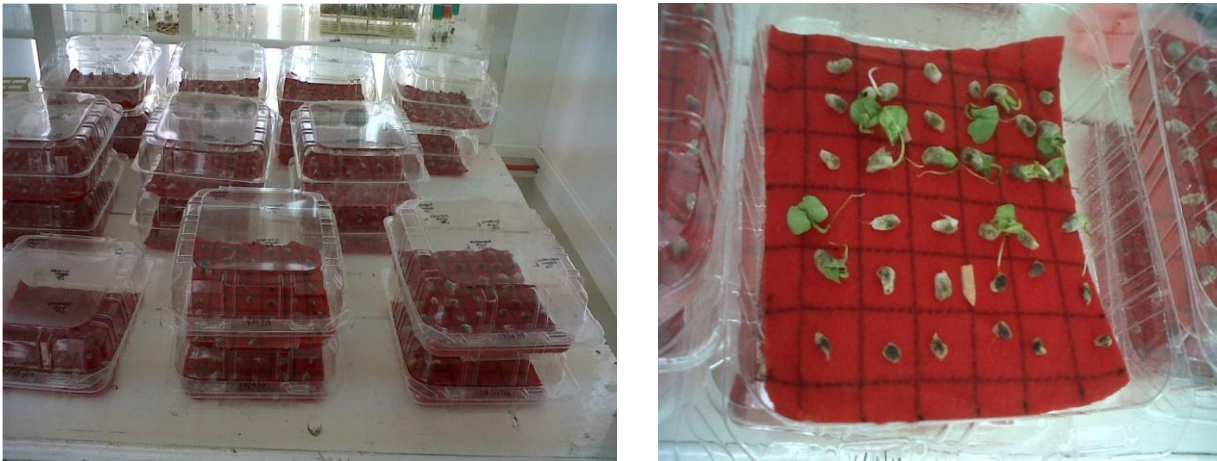


Figura 6. Fotografías de domos de plástico en donde se germinaron las semillas.

Análisis estadísticos

Los análisis se reportan en tres partes: comparación entre tratamientos de las plantas silvestres, comparación entre tratamientos de las plantas cultivadas y comparación por tratamientos entre ambos grupos.

Se calcularon diferentes indicadores para determinar el éxito reproductivo. Los índices base fueron el **Fruit-set** (relación del número de frutos producidos sobre el número de flores tratadas por cien ($n \text{ frutos}/n \text{ flores} * 100$)) y el **Seed-set** (total de semillas sembradas entre el número promedio de óvulos por el total de flores tratadas por cien ($n \text{ semillas} / (\text{promedio de óvulos} * n \text{ flores}) * 100$)) (Musicante, 2008). Para obtener el número promedio de óvulos por flor, fueron seccionados 20 ovarios bajo una lupa esteroscópica Zeiss (40 x), los cuales fueron tomados al azar de distintos individuos.

Porcentaje de germinación: (número de semillas germinadas/número de semillas sembradas) x 100

Germinación acumulada: Este factor se obtuvo de manera acumulada por tratamiento, con la finalidad de obtener comparaciones entre los diferentes sistemas de reproducción.

Éxito Reproductivo: [(número de frutos obtenidos / número de flores tratadas) x (número promedio de semillas obtenidas por fruto / número promedio de óvulos por flor)], Dafni, 1992

Índice de autoincompatibilidad (ISI) y el índice de autogamia (IAS):

$$IAS = \frac{\% PF_{AA}}{\% PF_{AM}} \quad ISI = \frac{N \bar{S}_{AM}}{N \bar{S}_{PC}}$$

Donde: Ns = número de semillas por fruto promedio para el tratamiento indicado como subíndice (AA: Autopolinización Automática, AM: Autopolinización Manual y PC: Polinización Cruzada) y % PF = Porcentaje de formación de frutos.

Los valores de ISI iguales a 1 indican autocompatibilidad; valores entre 0.2 y 1 indican autoincompatibilidad incompleta y valores menores a 0.2 indican autoincompatibilidad.

Los valores de IAS iguales a 1 indican autogamia completa mientras que valores entre 0 y 1 indican autogamia parcial (Suárez, *et. al.*, 2004).




3.3 Biología floral (Morfología)

Para el estudio de morfología se tomaron medidas tanto en campo de flores frescas (Tabla 4) como en el laboratorio de flores colectadas (Tabla 5) y conservadas en alcohol, ambas mediciones se llevaron a cabo utilizando un vernier digital.

3.3.1 Medidas obtenidas de flores frescas en campo

Las flores medidas en fresco, fueron utilizadas posteriormente para los tratamientos de biología reproductiva, por lo que es importante resaltar que muchas de ellas estaban cerradas, lo cual evitó alterar la disposición natural y organización de los órganos florales:

Tabla 4. Ejemplos y descripción de caracteres medidos en flores frescas de ambas poblaciones.

Nombre del caracter medido	Descripción	Ejemplo
Caracter largo del pedúnculo (LP)	Distancia de la base del cáliz hasta la primer intersección de un tallo secundario	
Caracter sujeción al tallo (ST)	Distancia del último extremo del pedúnculo al tallo de la rama principal	
Caracter Largo de la flor (LF)	Distancia desde la base del ovario hasta el extremo más alto del pétalo	

3.2.2 Medidas obtenidas en laboratorio de flores conservadas en alcohol

Estas medidas se tomaron de flores que fueron colectadas y conservadas en etanol al 70%. Es importante mencionar que las flores colectadas ya habían abierto.

Tabla 5. Ejemplos y descripción de caracteres medidos en flores colectadas y conservadas en alcohol.

Nombre del caracter medido	Descripción	Ejemplo
Caracter largo de las Brácteas (LBr)	Distancia de la base hasta la punta de la bráctea más larga	
Caracter largo de los Pétalo (LPet)	Distancia de la base del pétalo hasta su punto más alto	
Caracter tamaño del Gineceo (TG)	Distancia de la base del ovario hasta la punta del estigma	
Caracter tamaño del estigma (TE)	Distancia de la base del estigma hasta su punta	
Caracter largo de la antera (LA)	Distancia del primer filamento a la última antera.	
Caracter Hecogamia (Her)	Distancia de la antera más alta a la punta del estigma	

Análisis de estadísticos

Para el reagrupamiento de los datos se utilizó un índice de disimilitud para agrupar las variables: Caracter largo del pedúnculo (LP), Caracter sujeción al tallo (ST) y Largo de la flor (LF) para los caracteres medidos en campo, con las variables: Caracter largo de las Brácteas (LBr), Caracter largo de los Pétalo (LPet), Caracter tamaño del Gineceo (TG), Caracter tamaño del estigma (TE), Caracter largo de la antera (LA) y Caracter Hecogamia (Her) para obtenidas en laboratorio de flores conservadas en alcohol .

Se determinaron las K-medias para obtener el número óptimo de reagrupamiento con el índice de Calinski y Harabasz (Gordon, 1999) en la función 'cascadeKM' del paquete 'vegan' (Oksanen et al., 2015) en R (R Development Core Team, 2014). Se evaluó si se tiene diferencia significativa entre los grupos creados, entre el sitio y el lugar con una prueba de MANOVA con la función 'adonis' del paquete 'vegan' (Oksanen, et al., 2015) en R (R Core Team, 2014).

Las variables de las flores en campo y en laboratorio fueron estudiados con un análisis de varianza (Anova) con la función 'aov' y la prueba post-hoc Tukey con la función TukeyHSD en R (R Core Team, 2014). Se realizó un análisis de Tukey post-hoc para ver si había diferencias significativas entre los individuos de poblaciones cultivadas y silvestres, y los grupos formados por el *cluster*.

Finalmente, se realizó un análisis de varianza para la estimación de la diferencia de dos medias las cuales establecieron criterios básicos en la identificación de los dos grupos (cultivadas y silvestres) (Araméndiz, 2009)

4. RESULTADOS

4.1 Biología Reproductiva

Plantas Silvestres

El resultado del *Fruit-set* tuvo gran variación en los diferentes tratamientos, siendo el menor de 13.6% para Agamospermia y el mayor de 91.3% en el control (Tabla 6). A pesar de estas variaciones, no se encontró una diferencia significativa ($P=0.1253$ $F=1.84$). Se registraron 18.6 ± 1.30 óvulos por flor ($n= 21$), cantidad con la cual se obtuvo el *Seed-set* por tratamiento (Tabla 6); en esta variable si se encontraron diferencias significativas entre tratamientos ($P=0.0021$ $F=4.56$), de igual manera Agamospermia obtuvo el menor porcentaje con 16.9% y el control el más alto con el 70.3% (Figura 7)

Tabla 6. *Fruit-set* y *Seed-set* registrado en cada tratamiento de reproducción sobre *Gossypium hirsutum* en poblaciones silvestres.

Tratamiento	<i>Fruit-set</i> % Media \pm e.e	<i>Seed-set</i> % Media \pm e.e	Media semillas no viabiles	No. de tratamientos colocados
Autopolinización automática (AA)	43.18 \pm 9.38	24.42 \pm 8.29	0.78	44
Autopolinización manual (AM)	55.00 \pm 19.04	38.15 \pm 11.70	2.4	20
Polinización cruzada (PC)	38.10 \pm 15.20	11.77 \pm 9.31	0	21
Agamospermia (Ag)	13.64 \pm 15.27	16.85 \pm 6.24	0.33	22
Control emasculado (CE)	45.00 \pm 18.33	38.42 \pm 17.54	1	20
Control (C)	91.30 \pm 4.78	70.32 \pm 9.17	0.7	23

* e.e. presenta el error estándar

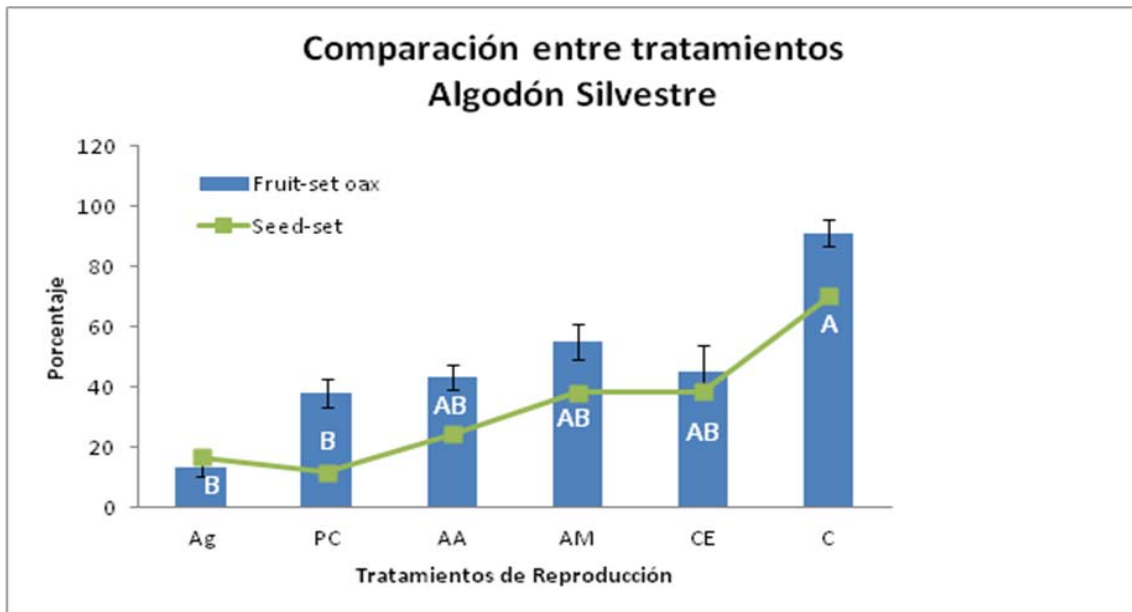


Figura 7. Comparación de *Fruit-set* y *Seed-set* entre cada tratamiento (barras y puntos respectivamente). Letras diferentes denotan diferencias significativas para el *Seed-set* con $P < 0.05$ obtenida por prueba de Tukey. (Ag- Agamospermia, PC- Polinización Cruzada, AA- Autopolinización Automática, AM- Autopolinización Manual, CE- Control Emasculado, C- Control).

Por otra parte, se obtuvieron diferencias significativas en el porcentaje de germinación de las semillas provenientes de los diferentes tipos de polinización ($F = 5.007$; $P = 0.001$) (Figura 8). Las flores sometidas a los tratamientos de Agamospermia (Ag) y Polinización Cruzada (PC) produjeron semillas que tuvieron un porcentaje de germinación significativamente más baja que el que obtenido por el Control (C).

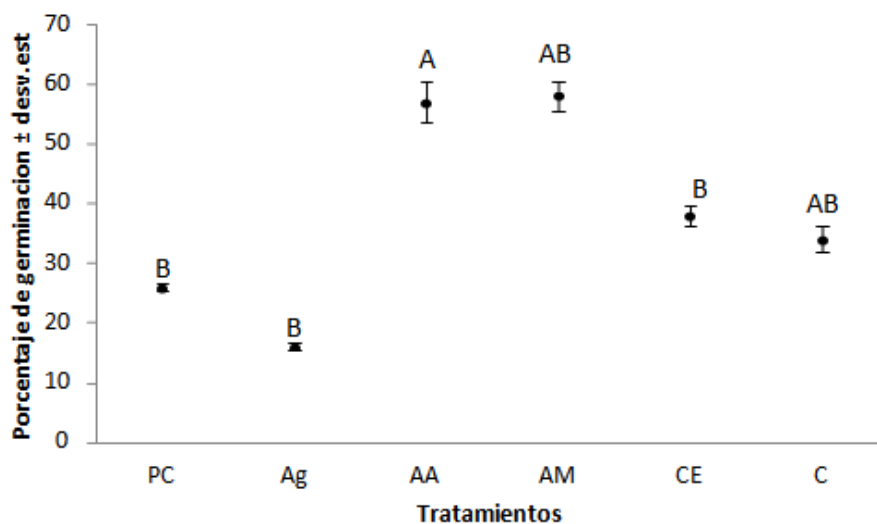


Figura 8. Gráfica del porcentaje de germinación de plantas silvestres sometidas a 5 sistemas de polinización y un control. Letras diferentes denotan diferencias significativas con $P < 0.05$ (prueba de Tukey). (PC- Polinización Cruzada, Ag- Agamospermia, AA- Autopolinización Automática, AM- Autopolinización Manual, CE- Control Emasculado, C- Control).

Durante el periodo de germinación de 42 días, se denotó un alto índice de brotes los primeros 15 días, el cual aumentó de manera constante. Los tratamientos que obtuvieron los valores más altos fueron Autopolinización Manual y Autopolinización Automática (Figura 9). A través de la prueba de Kruskal-Wallis se evaluó la diferencia entre cada tratamiento, puesto que el valor-P es menor que 0.05, se determinó que existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medianas con un nivel del 95,0% de confianza, para discriminar entre las medias se la prueba Anova Poisson, identificando 4 grupos (Figura 9).

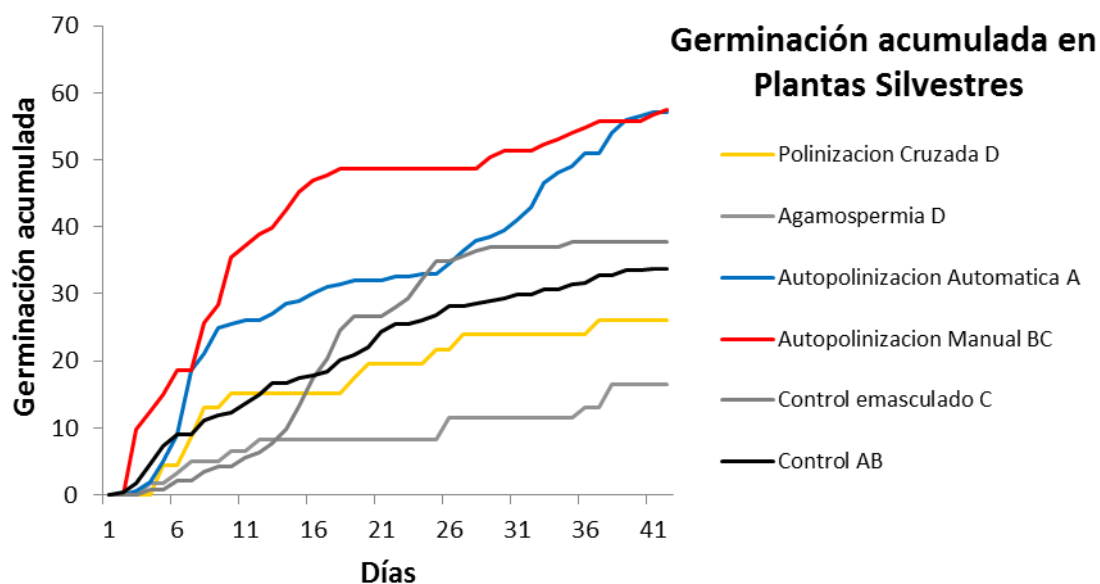


Figura 9. Germinación acumulada de semillas germinadas al día 42 provenientes de plantas silvestres sometidas a 5 tratamientos y un control para evaluar sistemas de polinización, letras distintas denotan diferencia significativa ($p < 0.05$).

Plantas Cultivadas

En la población de plantas cultivadas, la variable de *Fruit-set* presentó diferencias significativas entre tratamientos con ($P= 0.0001$ y $F=5.24$), siendo el menor de 3% para Agamospermia y el mayor de 36.2% en la Autopolinización Manual (Tabla 7). Se registraron 28.84 ± 1.06 óvulos por flor ($n= 25$), con el cual se obtuvo el *Seed-set* por tratamiento (Tabla 7). En esta variable también se encontraron diferencias significativas ($P=0.0001$ $F=5.148$); siendo Agamospermia el de menor porcentaje 2.2% y la Autopolinización Manual con el mayor 29.4%. A través de la prueba de Tukey se obtuvieron las diferencias entre tratamientos (Figura. 10).

Tabla 7. *Fruit-set* y *Seed-set* registrado en cada tratamiento de polinización sobre *Gossypium hirsutum* en poblaciones cultivadas.

Tratamiento	<i>Fruit-set</i> % Media \pm e.e	<i>Seed-set</i> % Media \pm e.e	Media semillas no viables	No. de tratamientos colocados
Autopolinización automática (AA)	32.00 \pm 7.78	20.53 \pm 4.27	3.3	50
Autopolinización manual (AM)	36.17 \pm 9.09	29.36 \pm 4.73	9.7	47
Polinización cruzada (PC)	10.71 \pm 5.11	5.94 \pm 1.86	3	28
Agamospermia (Ag)	3.03 \pm 2.26	2.21 \pm 3.46	2	33
Control emasculado (CE)	8.00 \pm 8.33	3.19 \pm 1.61	4	25
Control (C)	17.91 \pm 6.05	9.57 \pm 1.73	7.5	67

*e.e. presenta el error estándar.

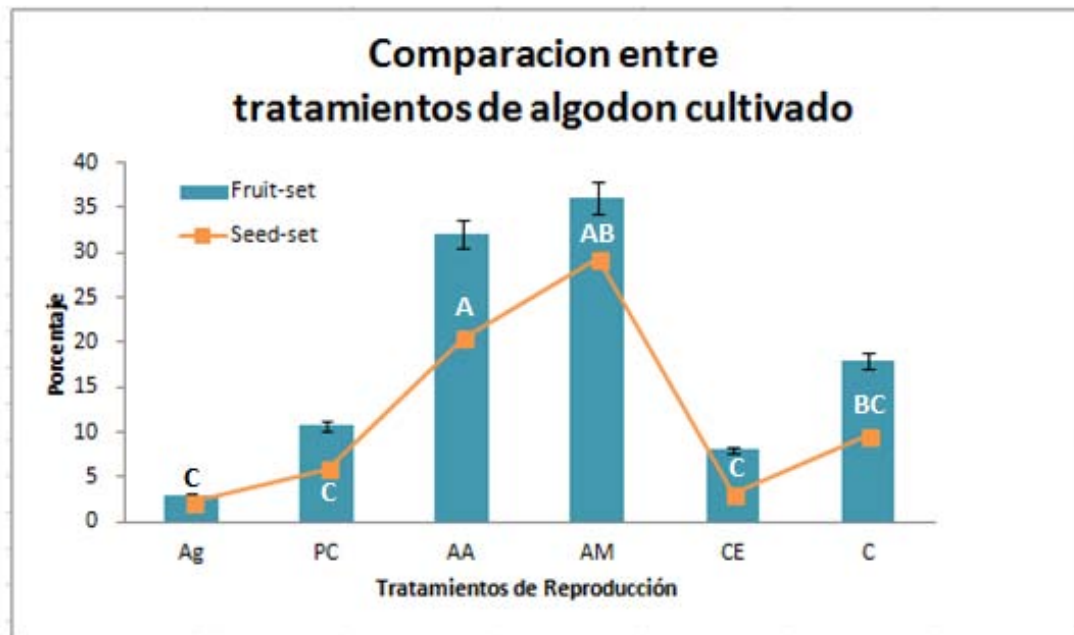


Figura 10. Comparación de *Fruit-set* y *Seed-set* entre cada tratamiento (barras y puntos respectivamente). Letras diferentes denotan diferencias significativas con $P < 0.05$ para *Seed-set* obtenido por la prueba de Tukey. (Ag- Agamospermia, PC- Polinización Cruzada, AA- Autopolinización Automática, AM- Autopolinización Manual, CE- Control Emasculado, C- Control).

Se obtuvieron diferencias significativas en la capacidad de germinación de las semillas provenientes de los diferentes tipos de polinización ($P = 0.038$ $F = 2.746$) (Figura 11). Las flores sometidas a los tratamientos de Agamospermia y Polinización Cruzada al igual que en las poblaciones silvestres produjeron semillas que tuvieron un porcentaje de germinación significativamente más bajo que los demás.

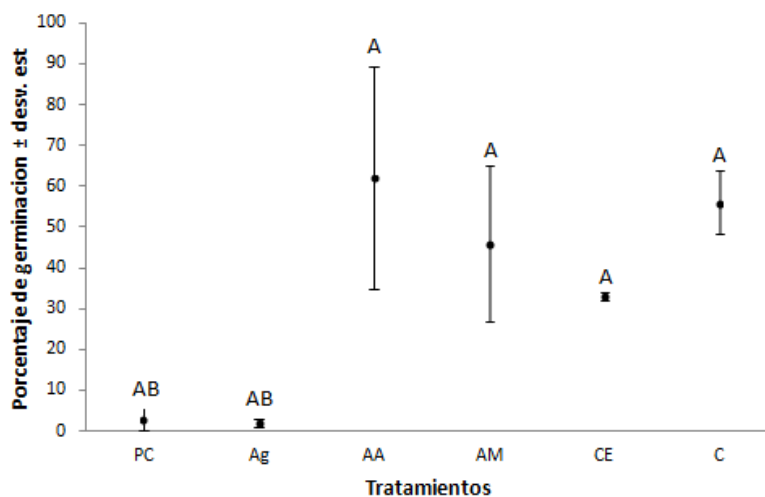


Figura 11. Porcentaje de semillas germinadas al día 6 provenientes de flores de *Gossypium hirsutum* cultivadas sometidas a 5 tratamientos y un control para evaluar sistemas de polinización. Letras diferentes denotan diferencias significativas con $P < 0.05$ (prueba de Tukey). (Ag- Agamospermia, PC- Polinización Cruzada, AA- Autopolinización Automática, AM- Autopolinización Manual, CE- Control Emasculado, C- Control).

El periodo de germinación para la población cultivadas fue de 6 días, debido a la presencia de un hongo patógeno que afectó a las semillas, a pesar del proceso de esterilización; durante este lapso, el tratamiento de Autopolinización Automática fue el que alcanzó un mayor porcentaje de germinación, mientras que el tratamiento de Agamospermia obtuvo el menor porcentaje de germinación. A través de la prueba de Kruskal-Wallis se evaluó la hipótesis nula de que las medianas dentro de cada una de las 6 columnas es la misma. Puesto que el valor-P es menor que 0,05 (Valor-P = 0,00819653), se determinó que existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medianas con un nivel del 95% de confianza, para discriminar entre las medias se utilizó la prueba paramétrica Anova Poisson, identificando 4 grupos.

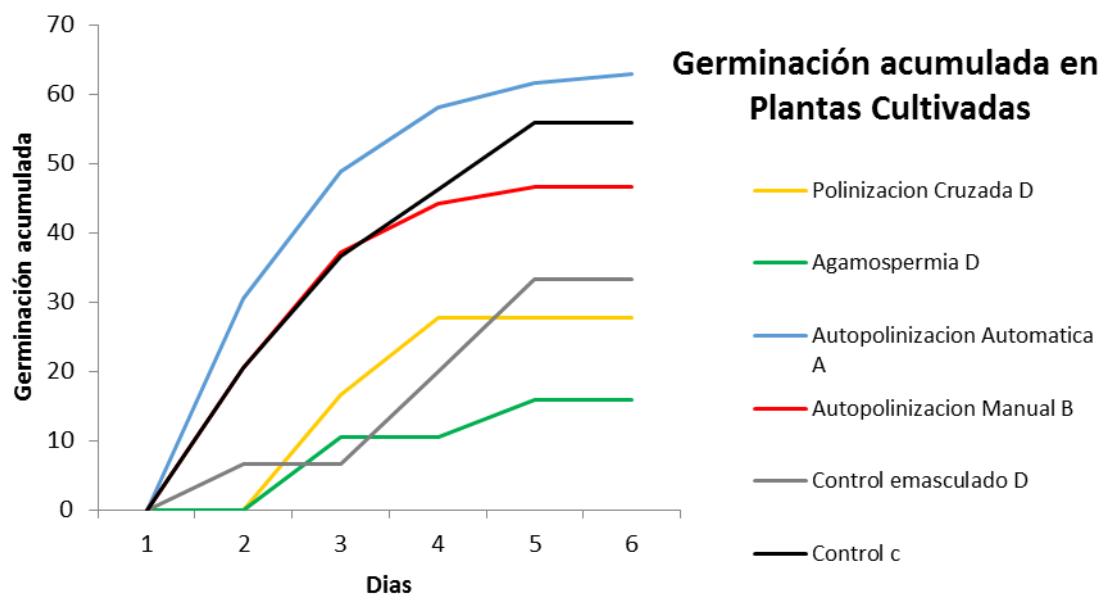


Figura 12. Germinación acumulada de semillas germinadas al día 6 provenientes de plantas cultivadas sometidas a 5 tratamientos y un control para evaluar sistemas de polinización, letras distintas denotan diferencia significativa ($p < 0.05$).

Comparación entre poblaciones

Se compararon los índices mostrados en la Tabla 8 entre poblaciones y entre tratamientos, los cuales se realizaron con la finalidad de conocer si existen diferencias en el éxito reproductivo a partir de los distintos sistemas de reproducción.

El control y control emasculado no se toman en cuenta para las comparaciones debido a que las poblaciones se encontraban en ambientes totalmente diferentes por lo que exclusivamente sirven como control de su propia población. Para el tratamiento Agamospermia únicamente se obtuvo un fruto en poblaciones cultivadas, por lo tanto, al no tener datos suficientes para realizar los análisis estadísticos se aplicó NA (No Aplica).

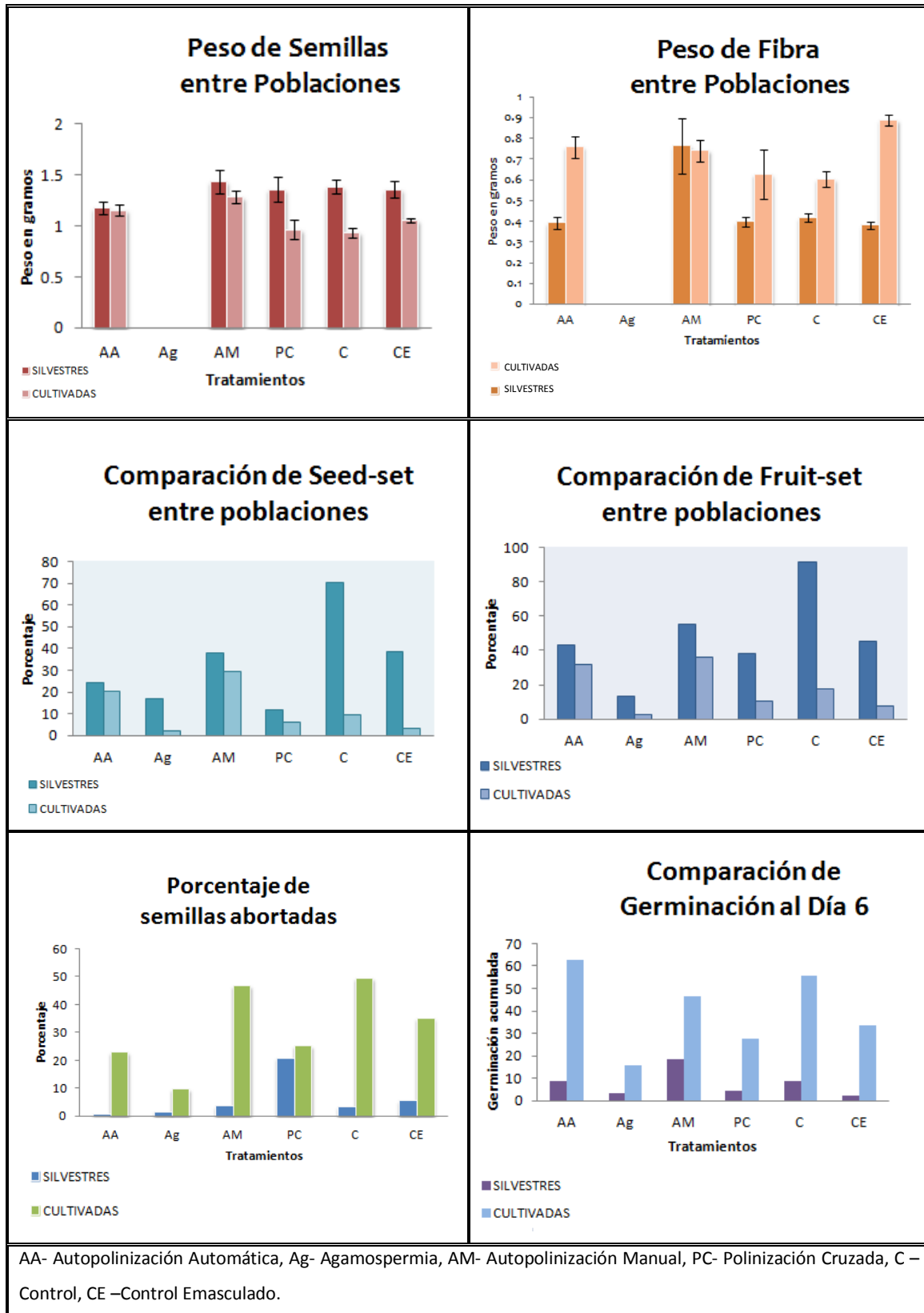
Se identificó una diferencia significativa entre plantas cultivadas y silvestres en los índices Peso de Semillas y Peso de Fibra para los tratamientos Autopolinización Manual y Autopolinización Automática (Tabla 8).

Tabla 8. Índices para comparar éxito de reproducción entre poblaciones.

Tratamiento	Peso de Semillas (g)		Peso de Fibra (g)		Éxito Reproductivo		Seed set		Fruit set	
	Silv.	Cult.	Silv.	Cult.	Silv.	Cult.	Silv.	Cult.	Silv.	Cult.
Población	<i>Silv.</i>	<i>Cult.</i>	<i>Silv.</i>	<i>Cult.</i>	<i>Silv.</i>	<i>Cult.</i>	<i>Silv.</i>	<i>Cult.</i>	<i>Silv.</i>	<i>Cult.</i>
Agamospermia	0.99	NA	0.3325	NA	0.17	0.02	16.85	2.21	13.64	3.03
Polinización Cruzada	1.36	0.96	0.398*	0.627*	0.12	0.04	11.77	5.94	38.10	10.71
Autopolinización Automática	1.17	1.15	0.392*	0.759*	0.24	0.16	24.42	20.53	43.18	32.00
Autopolinización manual	1.43	1.28	0.7627	0.7430	0.38	0.16	38.15	29.36	55.0	36.17
Control emasculado	1.36	1.05	0.3792	0.8884	0.38	0.02	38.42	3.19	45.0	8.00
Control	1.38	0.93	0.4174	0.6035	0.70	0.05	70.32	9.57	91.30	17.91

*Significa diferencia significativa entre plantas silvestres y cultivadas, puesto que el valor-P calculado es menor que 0,05 obtenido a través de una comparación de medias (prueba t) con un intervalo del 95%: (Peso semillas: AA, P= 0,562285; AM, P= 0,29887; PC, P= 0,150935, Peso Fibra: AA, P= 0,003023; PC, P= 0,039796; AM, P=0,883269)

Tabla 9. Gráficas de índices para determinar éxito reproductivo. Se comparan poblaciones silvestres y cultivadas por tratamiento



Los índices de autoincompatibilidad (ISI) y el índice de autogamia (IAS) obtenidos fueron los siguientes:

$$IAS = \frac{\% PF_{AA}}{\% PF_{AM}} \qquad ISI = \frac{N \bar{S}_{AM}}{N \bar{S}_{PC}}$$

Silvestres IAS= 43.18/ 55.0 = **0.78** Silvestres ISI= 14.17/ 11.62 = **1.21**

Cultivadas IAS= 32/36.17 = **0.88** Cultivadas ISI= 21/12 = **1.75**

Tabla 10. Variables morfométricas obtenidas en flores frescas.

Factor	Relación Cultivado/Silv³	Sujeción al Tallo (ST)	Pedúnculo (LP)	Largo de flor (LF)
Cultivadas	100/0	1.48 (1.08)B ¹	5.03 (2.65)A	3.56 (0.63)A
Silvestres	0/100	15.34 (10.2)A	5.08 (3.74)A	3.22 (1.43)A
Grupos²				
G-1	100/0	1.26 (0.539) C	6.72 (1.82) A	3.59 (0.640) A
G-2	75/25	1.06 (0.345) C	2.08 (1.09) B	2.57 (1.421) B
G-3	25/75	7.52 (2.15) B	3.54 (3.099) B	3.72 (0.591) A
G-4	0/100	23.07 (6.99) A	6.66 (3.49) A	3.75 (1.069) A

¹ Letra distinta significa diferencia significativa entre sitios o grupos para cada variable con una prueba de Tukey (p < 0.05);

² Grupos creados a partir de las K-medias (Gordon, 1999), también se pueden observare en la Figura 14

³ Valores en porciento

La Tabla 10 presenta la media de los caracteres medios en ambas poblaciones, la cual sirve para conocer si existen diferencias significativas entre ellos, a partir de una prueba de Tukey en donde letras diferentes denotan diferencias significativas. Cabe señalar que la variable sujeción al tallo fue 10.35 veces mayor en los individuos silvestres en comparación con los cultivados.

Así mismo, dicha la Tabla 10 muestra la relación entre plantas cultivadas y silvestres obtenidas a partir de los 4 grupos formados por las K-medias, mostrando una proporción equitativa entre todos los grupos.

Medidas obtenidas en laboratorio de flores conservadas en alcohol

Los caracteres medidos de las flores conservadas en etanol fueron: Caracter largo de las Brácteas (LBr), Caracter largo de los Pétalo (LPet), Caracter Hecogamia (Her), Caracter tamaño del Gineceo (TG), Caracter tamaño del estigma (TE) y Caracter largo de la antera (LA), los cuales se dividieron en tres grupos (Figura 14) de acuerdo al criterio de Calinski y Harabasz (Gordon, 1999). Se logran observar tres grupos significativamente distintos ($P < 0.001$), en donde se concentran de manera separada las flores silvestres de las cultivadas ($P < 0.05$).

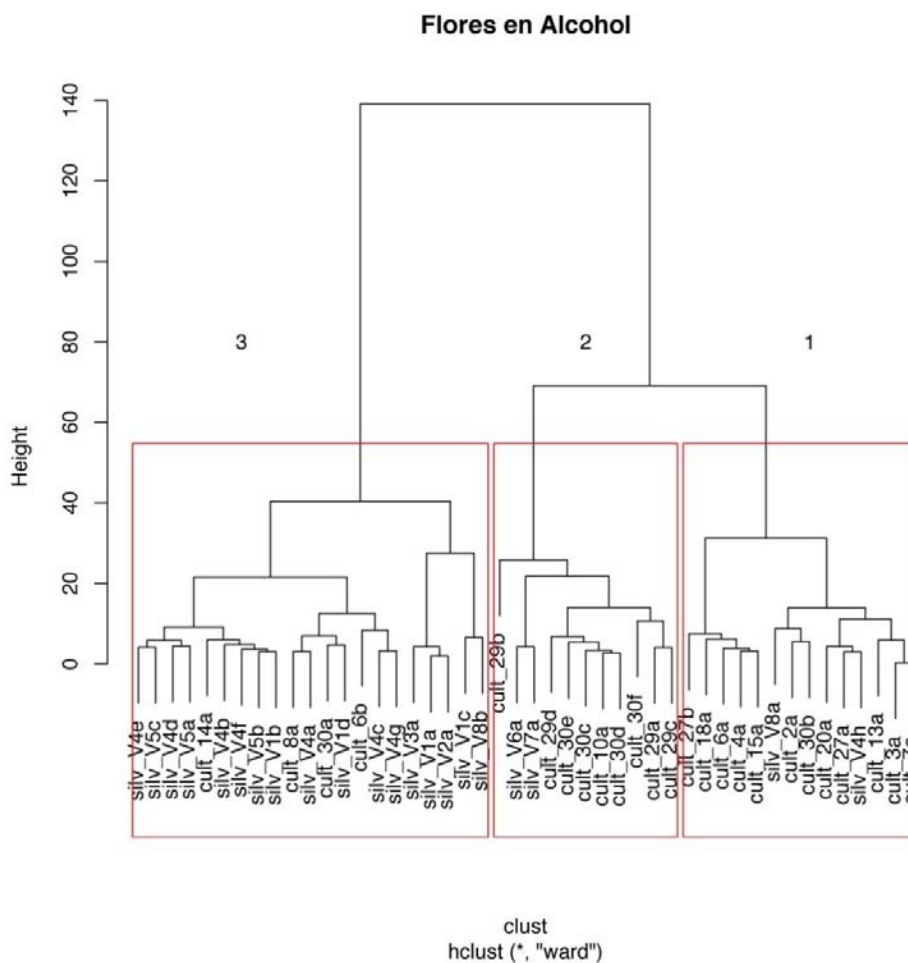


Figura 14 Análisis de agrupamiento jerárquico para caracteres medidos en flores colectadas en alcohol. La clave en la parte inferior corresponde a los individuos. Los cuadros en rojo representan el mejor agrupamiento de acuerdo a la prueba de calinski. Los números en medio del clúster significan los grupos formados.

Tabla 11. Variables morfométricas obtenidas de flores colectadas y conservadas en alcohol.

Factor	Relación Cultivado/Silv ³	Brácteas (LBr)	Pétalo (Lpet)	Columna Estaminal (TE)	Gineceo (TG)	Hercogamia (Her)	Antera (LA)
Cultivadas	100/0	31.27 (7.27)A	37.28 (3.81)A	24.10 (3.02)A	15.97 (1.91)A	2.48 (1.33)B	13.77 (1.60)A
Silvestres	0/100	24.87 (5.34)B ¹	29.80 (4.15)B	21.24 (1.67)B	16.44 (1.52)A	4.07 (1.99)A	10.68 (3.64)B
Grupos ²							
G-1	85/15 (14) ⁴	28.50 (24.43) B	36.35 (43.5) A	24.93 (21.83) A	16.37 (19.50)A	3.23 (14.77) A	13.79 (14.90)A
G-3	19/81 (21)	22.53 (30.07) C	30.48 (50.13) B	21.56 (35.12) B	16.06 (20.30)A	3.39 (24.09) A	10.88 (20.66)B
G-2	82/18 (11)	39.28 (24.09) A	37.16 (44.1) A	22.44 (20.70) B	16.21 (15.11)A	2.84 (17.67) A	13.40 (37.35)A

¹ Letra distinta significa diferencia significativa entre sitios o grupos para cada variable con una prueba de Tukey ($p < 0.05$)

² Grupos creados a partir de las K-medias y el criterio de Calinski y Harabasz (Gordon, 1999)

³ Valores en porcentaje

⁴ Numero de flores totales en el grupo

La Tabla 11 presenta la media de los caracteres medios en ambas poblaciones, en donde las variables Brácteas, Pétalo, Columna estaminal y Anteras fueron 1.25, 1.25, 1.13 y 1.28 veces mayores en las poblaciones cultivadas en comparación con las silvestres ($P < 0.05$)

Así mismo, muestra la relación entre plantas cultivadas y silvestres obtenidas a partir de los 3 grupos formados por las K-medias. El único carácter que no presento diferencia significativa fue el carácter gineceo.

Análisis de varianza

Los análisis de varianza entre las dos poblaciones estudiadas muestran que 6 de los 9 caracteres analizados si tienen diferencias significativas obtenidas a partir de una prueba W de Mann-Whitney: **Sujeción al tallo**= $W = 1813,0$ $P = .0001$; **Largo Brácea**= $W = 112,0$ $P = 0,001$; **Largo Pétalo**= $W = 31,5$ $P = 5,58049E-7$; **Tamaño Estigma**= $W = 80,5$ $P = 0,0001$; **Hercogamia**= $W = 504,0$ $P = 1,04529E-8$; **Largo Antera**= $W = 95, P = 0,0003$ (Figura 15).

Los caracteres que no muestran diferencia significativa son: **Largo Pedúnculo**= $W = 1002,0$ $P = 0,40$; **Largo Flor**= $W = 904,5$ $P = 0,98$; **Tamaño Gineceo**= $W = 283,0$ $P = 0,48$.

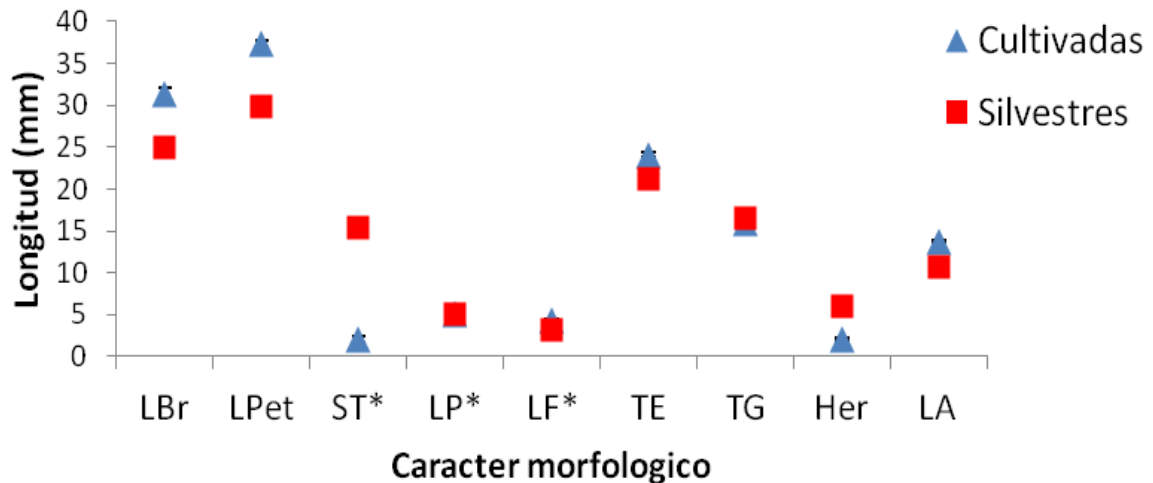


Figura 15. Análisis de varianza por caracter de poblaciones silvestres y cultivadas. LP Caracter largo del pedúnculo, ST Caracter sujeción al tallo, LF Caracter largo de la flor, LBr Caracter largo de las brácteas, LPet Caracter largo de los pétalos, TG Caracter tamaño del gineceo, TE Caracter tamaño del estigma, LA Caracter largo de la antera, Her Caracter hercogamia. * Indica medidas de caracteres tomadas en flores frescas en el sitio.

5. DISCUSIÓN

Biología Reproductiva

Los resultados obtenidos sugieren que la especie *G. hirsutum* presenta un sistema de apareamiento mixto, derivado de la obtención de frutos y semillas viables en todos los tratamientos trabajados (Tabla 6 y 7). Se sabe que tanto la autopolinización como la polinización cruzada pueden ser puntos estables y alternativos en la evolución de los sistemas de apareamiento (Barret et al., 1990), sin embargo varias combinaciones espacio-temporales de las estructuras reproductivas, permiten que una proporción de la progenie sea producto de la polinización cruzada y otra de la autopolinización, presentando ventajas selectivas en ambas estrategias al permitir más combinaciones genotípicas para propagarse en diversas circunstancias ecológicas (Holsinger, 1996).

A pesar de contar este sistema de apareamiento mixto, los resultados muestran que hay una preferencia por la estrategia reproductiva de autopolinización en ambas poblaciones, seguida de la polinización cruzada, las cuales fueron medidas a través del *fruit-set* y el *seed-set*.

En este trabajo se reporta por primera vez la estrategia reproductiva de agamospermia, en donde a pesar de que los datos obtenidos de este tratamiento fueron los más bajos en todos los índices de éxito reproductivo, se obtuvo un 16% de porcentaje de germinación en plantas silvestres; esta estrategia puede derivar de mecanismos hormonales a través de los cuales se puede producir semillas en ausencia de polen (Richards, 1990), lo cual representa una ventaja evolutiva al poder desarrollar plantas adaptadas a ambientes particulares como zonas perturbadas, sustratos pobres en nutrientes y poblaciones caracterizadas por una baja densidad poblacional (Richards, 1990).

Referente a la comparación de los tratamientos entre poblaciones, el índice de autoincompatibilidad ISI demuestra que la especie es totalmente autocompatible con valores de 1.21 para silvestres y 1.75 para cultivadas, respecto al índice de autogamia,

G. hirsutum presenta autogamia parcial, demostrando que la autopolinización no es una estrategia exclusiva de las plantas domesticadas, sino que ha sido un sistema de apareamiento utilizado por la especie desde sus parientes silvestres. La parcialidad se puede explicar con la estructura morfológica de la flor, *G. hirsutum* presenta hercogamia como mecanismo para promover la polinización cruzada, lo cual podría ser ventajoso por la posibilidad de mayor diversidad genética que a su vez se traduce en una plasticidad más amplia para adaptarse a cualquier cambio en el medio.

En cuanto a las características de las semillas, el peso resultó mayor en poblaciones silvestres en todos los tratamientos trabajados (Tabla 9); el tiempo de germinación fue de 42 días para poblaciones silvestres y 6 días para poblaciones cultivadas (Figura 9 y 12), durante este periodo, se logró observar que en plantas silvestres existe una tendencia similar de germinación entre el grupo control y la polinización cruzada (Figura 9), sugiriendo el importante papel que juegan los polinizadores dentro de esta población. Mientras que en plantas cultivadas se observó una tendencia del grupo control muy similar a los tratamientos de autopolinización (Figura 12), lo que sugiere que al no existir polinizadores dentro del invernadero, ningún fruto del grupo control se desarrolló a partir de polinización cruzada, demostrando así que *G. hirsutum* no presenta sistemas de autoincompatibilidad.

La diferencia del tiempo de germinación entre poblaciones se debió a un hongo patógeno que atacó y eliminó a gran parte las semillas cultivadas. Este hecho es importante ya que ambas poblaciones tuvieron el mismo proceso de desinfección, lo que podría demostrar que la pérdida o reducción de mecanismos de defensa contra enemigos naturales puede ser una característica que está siendo modificada por el síndrome de domesticación (Díaz, 2010). Del mismo modo, el periodo de latencia que mostraron las semillas silvestres puede ser otra característica no específica modificada por dicho síndrome.

Las plantas cultivadas produjeron altos índices de semillas no viables (Tabla 7), pudiéndose deber a una depresión por endogamia lo que contribuye a una pérdida de

la heterocigosidad, y favorece el deterioro genético futuro de las poblaciones (Hartl & Clark 1997).

Con respecto a las características del fruto, se ha reportado que las propiedades de la fibra se ven fuertemente afectadas por la calidad del sustrato, enfermedades y plagas en las plantas, lo cual en ocasiones resulta más relevante que el potencial genético de los cultivares (Booth, 1968, Taliercio y Haigler, 2011). Así mismo, se sabe que la cantidad y calidad de fibra son las principales características seleccionadas que han diferenciado a las plantas silvestres de las domesticadas, sin embargo, no se ha descrito qué tanta variación habría si se manipulara el sistema de apareamiento.

En este estudio se comparó el peso de la fibra derivada de diversos sistemas de apareamiento en plantas silvestres y domesticadas. Los resultados mostraron que la fibra de las plantas cultivadas es más pesada que en las plantas silvestres (Tabla 9) independientemente del sistema de cruce, aunque no existe diferencia significativa entre poblaciones. El tratamiento de reproducción en donde se obtuvo el mayor peso de este carácter fue la autopolinización en plantas cultivadas, lo que se puede deber al conjunto de factores que conllevan al síndrome de domesticación (potencial genético, sistema de reproducción y factores externos en donde se encontraba), así como a los factores ambientales y estrategias de establecimiento.

Biología floral (morfología)

La selección artificial durante el proceso de domesticación de las plantas de algodón pudo haber modificado los patrones de variación morfológicos, funcionales y genéticos que no son el objeto principal del mejoramiento, al conjunto de esas modificaciones se le llama síndrome de domesticación (Díaz, 2010).

El análisis de variación de los 9 caracteres morfológicos trabajados, muestra diferencias significativas derivadas de las pruebas de ordenamiento y análisis de varianza. Se obtuvieron seis caracteres con diferencias significativas para ambas poblaciones en donde los valores más altos se presentaron en la población cultivada; los caracteres con diferencias son: Largo de Brácteas, Largo de Pétalo, Sujeción al Tallo, Tamaño del Estigma, Hercogamia y Largo de Anteras (Figura 15). Ambas poblaciones difirieron significativamente entre sí, por lo que se puede afirmar que hay variación en la morfología floral de plantas silvestres y domesticadas.

En general, los valores más altos en las dimensiones de las estructuras analizadas se presentaron en las poblaciones cultivadas (plantas domesticadas); éste es un patrón similar al de otros procesos de domesticación como en el frijol (*Phaseolus vulgaris L.*), el maíz (*Zea mays L.*), el tomate de árbol (*Cyphomandra betacea S.*), la calabaza y hasta algunas cactáceas columnares (Lépiz, 2010; Luna Morales, 2004).

La hercogamia, mostró un promedio de 4.07 mm en poblaciones silvestres y 2.48 mm para plantas cultivadas; esta diferencia puede ser una razón por la cual la autopolinización en las plantas cultivadas resultó más exitosa que los demás tratamientos (Umbeck et al, 1991; Llewellyn et al, 1996). Ésta característica puede estar ligada al sistema de apareamiento (a menor distancia entre el estigma y las anteras existe mayor probabilidad de autopolinización). Aunque estos datos parecen ser contundentes y demuestran una diferencia significativa, no se omite mencionar que la desviación estándar en los datos fue 1.99 en silvestres y 1.33 en cultivados.

De acuerdo con el clúster, la clasificación de los individuos presentó un patrón de distribución continuo pero con algunos traslapes entre poblaciones. Lo anterior se puede deber a que existe variación morfológica probablemente por factores ambientales y genéticos o al flujo génico reportado de plantas domesticadas a plantas silvestres en Oaxaca (Wegier et al, 2011). Así mismo, no se puede asegurar que las poblaciones en donde no ha habido flujo génico tengan otras características silvestres más acentuadas o que existe una morfología híbrida entre silvestres y cultivados en Oaxaca.

La información que aporta el análisis de agrupamiento jerárquico (Figura 13 y 14), confirma la importancia de medir el mayor número de variables posibles en estudios cuyo objetivo está relacionado con la variación y la domesticación; sin embargo ahora sabemos que para la comparación de flores de plantas silvestres de la metapoblación Pacífico Sur y cultivadas es relevante medir: la hercogamia, la sujeción al tallo y el largo de la flor, ya que la medida de sujeción al tallo tiene una gran variación en plantas cultivadas pero no en silvestres y la medida de hercogamia tiene variación en ambas poblaciones.

Es importante destacar que la domesticación como proceso evolutivo implica que los cambios en las características morfológicas pueden ser heredados, esto es posible cuando estas características poseen bases genéticas y no solo constituyen una expresión fenotípica del ambiente en el que se encuentran. Sin duda, el conocimiento de los aspectos genéticos de las características de *G. hirsutum*, en relación al proceso de domesticación, resulta de gran importancia porque permite conocer si la selección artificial ha modificado patrones de variación genética funcional.

6. CONCLUSIONES

- Se determinó que *Gossypium hirsutum* cuenta con un sistema de apareamiento mixto tanto en plantas silvestres como en cultivadas en México. Esto es importante para los análisis de riesgo, estrategias de conservación y medidas de bioseguridad que se puedan implementar en el país.
- La evaluación sobre el periodo de germinación resultó determinante entre poblaciones ya que se obtuvo un periodo significativamente más largo en plantas silvestres que en plantas cultivadas; así mismo, se identificaron diferencias entre tratamientos tanto el periodo como el porcentaje de germinación en ambas poblaciones.
- El peso de la fibra fue mayor en plantas cultivadas, confirmando el síndrome de domesticación por la presión de selección de este carácter. Sin embargo no existieron diferencias entre tratamientos para esta característica.
- Los análisis de varianza del tamaño de los caracteres entre las dos poblaciones estudiadas muestran que seis de los nueve caracteres analizados tienen diferencias significativas; lo anterior demuestra que la selección artificial en *G. hirsutum* ha propiciado cambios morfológicos que han permitido diferenciar las poblaciones estudiadas.
- La diferencia significativa encontrada en el carácter hercogamia, muestra una posible relación entre esta distancia y el tipo de polinización que realiza la especie, lo cual podría representar una característica del síndrome de domesticación.

7. PERSPECTIVAS DE ESTUDIO

El presente trabajo representa un punto de partida para futuras investigaciones relacionadas con la ecología, reproducción y biología floral de *Gossypium hirsutum*, sugiriendo la atención en otros aspectos no considerados en el presente trabajo, tales como: toma de datos relacionados con los factores abióticos presentes a la hora de realizar los tratamientos, analizar y relacionar los nutrientes del suelo con la producción de fibra, peso, número y viabilidad de semillas.

Se propone un estudio posterior en el cual ambas poblaciones (silvestres y cultivadas) se encuentren bajo los mismos factores, en condiciones controladas, esto a partir de las semillas generadas en el presente estudio con el fin de reducir el efecto materno.

En relación a la morfometría se recomienda medir la apertura floral a lo largo del día, considerando periodos cortos de tiempo, con el objeto de relacionarlo con el número y tipo de visitantes florales y de encontrar otras características relacionadas con los síndromes de domesticación. Asimismo se propone que se amplíe el número de muestras.

Durante el proceso de germinación, se observó que cuando algunas semillas de un domo comenzaban a germinar, las demás iniciaban este proceso también, independientemente del tratamiento del que procedían, este fenómeno podría sugerir que existe algún tipo de factor que induce este proceso; por lo que se propone realizar un estudio para demostrar este efecto. Se recomienda realizar el proceso de germinación en recipientes independientes para cada semilla, a fin de evitar el efecto antes mencionado.

Es necesario continuar con investigaciones enfocadas a la evolución y ecología de esta especie para así poder crear proyectos de manejo, uso y conservación de centros de origen y diversidad realizando estudios a corto y largo plazo.

Derivado de las experiencias adquiridas durante el trabajo de campo, considero que es importante transmitir a los habitantes de las comunidades en donde hay algodón silvestre, la importancia que tiene conservar estas plantas, ya que muchas personas cambian los cultivos por otros que les generen mayor ventaja económica (algodón por maíz) o simplemente las eliminan para dar una mejor vista a sus terrenos. Esta difusión sería con el fin involucrar a las comunidades en el cuidado y conservación de éste recurso con tan alto valor ecológico y hacerlos parte de las medidas de conservación de los centros de origen.

8. LITERATURA CITADA

Abarca, C., y López, A., (2007). La estimación de la endogamia y la relación entre la tasa de fecundación cruzada y los sistemas reproductivos en plantas con flores: una interpretación de su significado evolutivo. En: Eguiarte L., Souza V. y Aguirre X. *Ecología Molecular* (594 pp). México, Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales.

Aramendiz, H., Espitia M. e Isaza M. (2010). *Progreso Genético del Algodonero (Gossypium hirsutum L.)*. Universidad de Cordova. Colombia.

Aramendiz, H., Cardona C. y Espitia M. (2009). Caracterización de la morfología floral de dos cultivares de berenjena (*Solanum melongena L.*) (Solanaceae). *Revista Facultad Nacional de Agronomía. Colombia.* **62**: 5125-5134

Armbruster, W. (1988). Multilevel comparative analysis of the morphology, function, and evolution of *Dalechampia blossoms*. *Ecology* **69**: 1746-1761.

Brubaker, C., y Wendel J. (1994). Reevaluating the origin of domesticated cotton (*G. hirsutum*) using nuclear restriction fragment length polymorphism (RFLPs). *Am. J. Bot.* **81**: 1309-1326

Barrett, S. y Eckert, C. (1990). Current issues in plant reproductive ecology. *Israel Journal of Botany* **39**: 5–12.

Bawa, K. (1983) Patterns of flowering in tropical plants. En Jones y Little, R. *Handbook of experimental pollination biology*, 394-410. Van Nostrand Reinhold, New York, USA.

Berg, R.L. (1960). The ecological significance of correlation Pleiades. *Evolution* **14**: 171-180.

Booth, J. (1968) *Principles of Textile Testing*. 3rd ed. Butterworths, London. 583.

Bourgou, L., Sanfo, D., Tiemtore C., Traore O., Sanou., J y Traore K. (2013). Assessment of Bollgard II cotton pollen mediated transgenes flow to conventional cotton in the farming conditions of Burkina Faso, *African Journal of Biotechnology*. **13**: 5192-5199.

Campbell, D., Waser N. y Meléndez-Ackerman E. (1997) Analyzing pollinator-mediated selection in a plant hybrid zone: hummingbird visitation patterns on three spatial scales. *American Naturalist* **149**: 295-315.

Carmona, A., (2003). Efecto del Proceso de domesticación sobre la variación morfológica de poblaciones de *Polaskia shishipe* Backeberg, Blatt. Sukk (Cactaceae), en el Valle de Tehuacán, Puebla. *Tesis de Maestría*. Universidad de Colima.

Changbao, L., Ailling, Z. y Tao, S. (2006). Genetic analysis of rice domestication syndrome with the wild annual species *Oryza nivara*. *New Phytologist*. **170**: 185-194.

Cheverud, J. (1984). Quantitative genetics and developmental constraints on evolution by selection. *Journal of Theoretical Biology*. **110**: 155-172.

- Conner, A., Glare, T. y Nap, J. (2003). The release of genetically modified crops into the environment: Overview of ecological risk assessment. *The Plant Journal*. **33**: 19-46.
- Conner, J. y S. Via. (1993). Patterns of phenotypic and genetic correlations among morphological and life history traits in wild radish, *Raphanus raphanistrum*. *Evolution* **47**:704-711
- Cresswell, J.E. (1998). Stabilizing selection and structural variability of flowers within species. *Ann. Bot.* **81**: 463-473.
- Cronquist, A. (1968). The evolution and classification of flowering plants. *Riverside Studies in Biology*. Allen Press, New York.
- Cronquist, A. (1981). An integrated system of classification of flowering plants, Columbia University, New York, **13**: 1262.
- Crow, J. (1999). Dominance and over dominance. En: Coors J. y Pandey S., Genetics and Exploitation of Heterosis in Crops. *American Society of Agronomy* 49–54.
- Changbao, L., Ailing, Z. y Tao, S. (2006). Rice domestication by reducing shattering. *Science*. **311**: 1936-1939
- Cheverud, J., (1984). Quantitative genetics and developmental constraints on evolution by selection. *Journal of Theoretical Biology*. **110**: 155-171
- Dafni, A. (1992). Pollination Ecology, A parcial Approach. *Oxford University Press*.
- Darwin, C. (1859). The origin of species, 502 pp.
- De Candolle, A. (1882). Origin of Cultivated Plants. 463 pp.
- Development Core Team (2014). The R Project for Statistical Computing.
- Díaz, F., (2010). El proceso de domesticación en las plantas. Universidad Autónoma Metropolitana. *Revista Tiempo*. **37**: 66-70
- Dobley, J., Gaur B. y Smith B. (2006). The molecular genetics of crop domestication. *Cell*. **127**: 1309-1321.
- Eguiarte, L., Nuñez J., Domínguez C. y Cordero C. (1999). Biología evolutiva de la reproducción en plantas, Instituto de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México, 151.
- Ellstrand, N. (2003). Going to great lengths to prevent the escape of genes that produce specialty chemicals. *Plant Physiology*. **132** : 1770-1774.
- Endress y Peter, K. (1996). Diversity and evolutionary biology of tropical flowers Cambridge tropical biology series. *Cambridge University Press*. 194–195.
- Fryxell, P. (1968). A redefinition of the tribe Gossypiae, *Bot. Gaz.* **129**: 296-308

- Fryxell, P. (1992) A revised taxonomic interpretation of *Gossypium* L. (Malvaceae), *Rheedea*. **2**:108–165.
- Fenster, C. (1995). Mirror image flowers and their effect on outcrossing rate in *Chamaecrista fasciculata* (Leguminaceae). *American Journal of Botany*. **82**: 46-50
- Galen, C. (1999) Why do flowers vary? The functional ecology of variation in flower size and form within natural plant populations. *Bioscience* **49**: 631-640.
- Gordon, A. (1999). Classification. 2nd ed. Boca Raton, FL: Chapman y Hall/CRC.
- Grant, V. (1949). Pollination systems as isolating mechanisms in Angiosperms. *Evolution*. **3**: 82-97
- Gilbert. S. (2013). Biología del Desarrollo. 7ª Edición. Editorial Médica, Panamericana.
- Gross, B. y Strasburg J. (2010) Cotton domestication: dramatic changes in a single cell, *BioMedCentral Biology*. **8**:137.
- Hartl, D. L. and A. G. Clark, 1997 *Principles of Population Genetics*. 3 ed. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts. 542 pp.
- Hartl, D. (1980) Principles of Population Genetics, *Associates Sunderland, Massachusetts*. 488.
- Herrera, C. (1996) Floral traits and plant adaptation to insect pollinators: a devil's advocate approach. In D. G. Lloyd and S. C. H. Barrett (Eds.), *Floral Biology*, pp. 65-87. Chapman and Hall, New York.
- Herrera, C. (2004) Distribution ecology of pollen tubes: fine-grained, labile spatial mosaics in southern Spanish Lamiaceae. *New Phytologist* **161**, 473-484.
- Holsinger K., (1996). Pollination biology and the evolution of mating systems in flowering plants. *Evol. Biol.* **29**: 107-49
- Hyten, D., Song, Y., Zhu, I., Chou R., Nelson, J., Costa, J., Spech, R., Shoemaker, P. y Cregan B. (2006). Impacts of genetic bottlenecks on soybean genome diversity. *Proc Nat. Acad. Sci.* **103**: 16666-16671.
- Jain S., (1976). The evolution of inbreeding in plants. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* **7**:469-95.
- Kearns, C. y Inouye, D. (1993). Techniques for Pollination Biologists, University Press of Colorado. Niwot. 583.
- Kovach, M. y McCouch, S. (2008) Leveraging natural diversity: back through the bottleneck. *Curr Opin. Plant Biol.* **11**:193-200
- Lépiz R., López J., Sánchez J., Santacruz F., Nuño R. y Rodríguez E. (2010). Características morfológicas de formas cultivadas, silvestres e intermedias de frijol común de hábito trepador. *Revista Fitotécnica Mexicana*. **33**:21-28.

- Llewellyn, D., Tyson, C., Constable, G., Duggan, B., Beale, S. y Steel, P. (2007). Containment of regulated genetically modified cotton in the field. *Agriculture, Ecosystems and Environment*. **121**: 419-429.
- Luna, C. (2004). Recolección, cultivo y domesticación de cactáceas columnares en la Mixteca Baja. *Revista Chapingo, Serie Horticultura* **10**: 95-102.
- Llewellyn, D. y Fitt, G. (1996) Pollen dispersal from two field trials of transgenic cotton in the Namoi valley, Australia. *Molecular Breeding*. **2**: 157-166.
- Lloyd D., (1979). Some reproductive factors affecting the selection of self-fertilization in plants. II. The selection of self-fertilization. *Int. J. Plant Sci.* **153**: 370-380
- Mauseth J. (2009). Botany: An Introduction to plant Biology, Jones & Bartlett Publishers. 864.
- McGregor, S. (1976). Insect pollination of cultivated crop plants. *Agricultural Research Service Western Region*, EEUU. 849.
- Meredith, W. (1999). Cotton and heterosis. En. Coors, J. y Pandey, S. (1997) The Genetics and Exploitation of Heterosis in Crops. 282-289.
- Meyer, H. (2011). Systemic risks of genetically modified crops: the need for new approaches to risk assessment. *Environmental Sciences Europe*. **23**: 7-26.
- Musicante, M. y Galetto, L. (2008). Biología Reproductiva de *Cologania Broussonetti* (Fabaceae, Faboideae). *Darwiniana*. **46**: 7-16
- Navarro, L., Ayensa, G. y Guitián P. (2007). Adaptation of floral traits and mating system to pollinator unpredictability: the case of *Disterigma stereophyllum* (Ericaceae) in southwestern Colombia. *Pl. Syst. Evol.* **266**: 165-174.
- Nilsson, L. (1988). The evolution of flowers with deep corolla tubes. *Nature* **.334**: 147-149
- Nodari, O. y Guerra, M. (2001) La Bioseguridad de las plantas transgénicas en los transgénicos en América Latina y el Caribe: un debate abierto. *Cepal ONU*. 396.
- Oksanen, J., Guillaume, F., Roeland, K., Pierre, L., Minchin, P., O'Hara, R., Simpson, G., Solymos, P., Stevens, H. y Wagner, H. (2015). Package Vegan, Community Ecology Package.
- Ollerton y Lack. (1996). Plant phenology (selection and neutrality). *Trends in Ecology and Evolution*. **8**: 35-35.
- Paterson, A., (2009). Genetics and Genomics of Cotton. Springer. University of Georgia. United States. **3**: 3-21.
- Pérez, M., Bernal, A. y Otero, A. (2010). Documento Base de la Especie *Gossypium hirsutum* L. para el Análisis de Riesgo Ambiental, *Instituto Nacional de Ecología INE*.

- Piperno, D., (2011). The Origins of Plant Cultivation and Domestication in the New World Tropics, Patterns, Process and New Developments. *Current Anthropology*. **52**: 11-32.
- Proctor, M., Yeo, P., y Lack A. (1996) The natural history of pollination. Timber Press. Portland.
- Pundir, N., (1972). Experimental embryology of *Gossypium arboreum* and *G. hirsutum* and their reciprocal crosses. *Bot. Gaz* **133**: 7 – 26.
- Raimúndez, E. y Ramírez, N. (1998). Estrategia reproductiva de una hierba perenne: *Hypoxis decumbens* (Hypoxidaceae). *Rev. Biol. Trop.* **46**: 555-565.
- Ramírez, N., Nassar, J., Valera, L., Garay, V., Briceño, H., Quijada, M., Moret Y. y Montilla J. (2010). Variación morfométrica floral en *Pachiraquinata* (Jacq.) Alverson (Bombacaceae), *Acta Botánica de Venezuela*. **33**: 84-5906
- Raven P., Ray F. y Susan E. (2010). *Biology of Plants*. W. H. Freeman. 686.
- Raya, J., Aguirre, C., Gil, K. y Simpson, J. (2010). La domesticación de plantas en México: comparación de la forma cultivada y silvestre de *Byrsonima crassifolia*, *Polibotánica*, **30**: 239-256.
- Reyes C., Cano P., (2000). Manual de polinización apícola: la polinización de los cultivos por abejas. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación, Gobierno de México: Programa Nacional para el control de la Abeja Africana. 52 p.
- Richards, A.J. 1990. *Plant Breeding Systems*. George Allen y Unwin, Londres
- Rissler, J. y Mellon, M. (1996). The ecological risk of engineered crops. *The MIT Press*. Cambridge.
- Ritchie G., Bednarz C., Jost P. y Brown S. (2007). Cotton Growth and Development. pp 1-14.
- Sakai, S. y Kato, T. (1999). Three pollination guilds and variation in floral characteristics of Bornean gingers (Zingiberaceae and Costaceae). *Amer. J. Bot.* **86**: 646-658.
- Schemske, D. y Horvitz, C (1989) Temporal variation in selection on a floral character. *Evolution* **43**: 461-465.
- Sharma, H. y Ortiz, R. (2000). Transgenics, pest management, and the environment. *Current Science*. **79** : 421-437.
- Smith, C., y Stephens, S. (1971). Critical identification of Mexican archeological cotton remains. *Econ. Bot.* **25**: 160-168.
- Snow, A. (2002). Transgenic crops, Why gene flow matters. *Nature Biotechnology* **20**: 542-548.

Stebbins, G. (1974). Flowering plants: Evolution above the species level. Edward Arnold London, UK.

Stewart H., Stewart S. y Canne-Hilliker J. (1996) Mixed mating system in *Agalinis neoscotica* (Scrophulariaceae) with bud pollination and delayed pollen germination. *Int. J. Plant Sci.* **157**: 501-508.

Stewart, J., Oosterhuis, D., Heitholt, J. y Mauney, J. (2010). *Physiology of Cotton*. Springer. Cap. 35 Genetic Engineering Applications in Crop Improvement.

Stewart, P. y A. Knight. (2005). Trends affecting the next generation of U.S. agricultural biotechnology: Politics, policy, and plant-made pharmaceuticals. *Technological Forecasting and Social Change.* **72** : 521-534.

Suárez, L.H., González, W.L. & Gianoli, E. 2004. Biología reproductiva de *Convolvulus chilensis* (Convolvulaceae) en una población de Aucó (centro-norte de Chile). *Revista Chilena Hist. Nat.* **77**: 581-591.

Taliercio, E. y Haigler, C. (2011). The effect of calcium on early fiber elongation in cotton ovule culture. *Journal of Cotton Science.* **15**: 154-161.

Umbeck, P., Barton K., Nordheim E., McCarty J., Parrott W. y Jenkins J. (1991). Degree of pollen dispersal by insects from a field test of genetically engineered cotton. *J. Econ. Entomol.* **84**: 1943-1950

Umbeck, P., Johnson, G. y Barton, K. (1987) Genetically transformed cotton (*Gossypium hirsutum*) plants. *BioTechnology.* **5**: 236-266.

Vavilov (1951). The origin, variation, immunity and breeding of cultivated plants. *Chron. Bot.* **13**: 1-366.

Vavilov, N.I. (1992). *Origin and geography of cultivated plants*. Cambridge University Press. Estados Unidos de América.

Van Deynze, A., Sundstorm F. y Barford, K. (2005). Pollen-Mediated Gene Flow in California Cotton Depends on Pollinator Activity. *Crop Science.* **12**: 1565-1570

Vaughan, D., Balazs, E. y Heslop-Harrison J.(2007). From Crop Domestication to Super-domestication. *Oxford Journals.* **100**. 893-901.

Waser, N. (1993). Population structure, optimal outbreeding and assortative mating in Angiosperms. en *The Natural history of inbreeding and outbreeding, theoretical and empirical perspectives*. Thornhill. EEUU.

Zhang, B., Pan, X., Guo, T., Wang, Q. y Anderson, T. (2005) Measuring gene flow in the cultivation of transgenic cotton *Gossypium hirsutum* L., *Mol Biotechnol.* **31**: 11-20.

Wegier, A. Piñeyro, N., Alarcón, A. Gálvez, E., Álvarez, B. y Piñero, D. (2001). Recent long-distance transgene flow into wild populations conforms to historical patterns of gene flow in cotton (*Gossypium hirsutum*) at its centre of origin. *Molecular Ecology.*

Wegier A. (2013). *Diversidad genética y conservación de Gossypium hirsutum silvestre y cultivado en México*. Tesis Doctoral. Universidad Nacional Autónoma de México.

Wendel, J. y Cronn, R. (2003). Polyploidy and the evolutionary history of cotton, *Advances in Agronomy*. **78**: 139-186.

Wendel, J. F., Brubaker, C. L. y Seelanan, T. (2010) *The origin and evolution of Gossypium*. En Stewart, J.M., Oosterhuis, D., Heitholt, J.J y Mauney, J.R. (Eds). *Physiology of cotton*. Springer, Netherlands.

Williams C. F. Ruvinsky J. Scott P. E. Hews D. K. (2001). Pollination, breeding system, and genetic structure in two sympatric *Delphinium* (Ranunculaceae) species. *American Journal of Botany* **88**: 1623-1633

ÍNDICE de Tablas y Figuras

Tablas

Tabla 1. Clasificación Taxonómica de *Gossypium hirsutum*

Tabla 2. Localidades trabajadas en este estudio de la metapoblación Pacífico Sur (Oaxaca y Chiapas)

Tabla 3. Proceso de lavado para germinación de semillas.

Tabla 4. Ejemplos y descripción de caracteres medidos para morfología de *Gossypium hirsutum*. Se muestran los 3 caracteres medidos en flores frescas para ambas poblaciones.

Tabla 5. Ejemplos y descripción de caracteres medidos para morfología de *Gossypium hirsutum*. Se presentan los caracteres medidos para *Gossypium hirsutum* en flores colectadas en alcohol. El fondo muestra papel milimétrico como referencia

Tabla 6. *Fruit-set* y *Seed-set* registrado en cada tratamiento de reproducción sobre *Gossypium hirsutum* en poblaciones silvestres.

Tabla 7. *Fruit-set* y *Seed-set* registrado en cada tratamiento de polinización sobre *Gossypium hirsutum* en poblaciones cultivadas.

Tabla 8. Índices para comparar éxito de reproducción entre poblaciones.

Tabla 9. Gráficas de índices para determinar éxito reproductivo. Se comparan poblaciones silvestres y cultivadas por tratamiento

Tabla 10. Variables morfométricas obtenidas en flores frescas.

Tabla 11. Variables morfométricas obtenidas de flores colectadas y conservadas en alcohol.

Figuras

Figura 1. Esquema de la flor de *Gossypium hirsutum* L. (McGregor, 1976)

Figura 2. Mapa con las localidades trabajadas en Oaxaca, México. (A= Zapote, B=Entronque Pochutla-Huatulco, C=Pochutla, D= Morro Ayuta, E= La Ventosa)

Figura 3. Plantas cultivadas ubicadas dentro del invernadero. Algunas presentan flores embolsadas y cinchos que indican el color de los tratamientos

Figura 4. Diagrama de los 5 tratamientos y el control para estudiar la biología reproductiva de la especie *G. hirsutum* domesticada y silvestre

Figura 5. Fotos de flores de *Gossypium hirsutum*. Izquierda sin emascular, Derecha emasculada.

Figura 6. Fotografías de domos de plástico en donde se germinaron las semillas.

Figura 7. Comparación de *Fruit-set* y *Seed-set* entre cada tratamiento (barras y puntos respectivamente). Letras diferentes denotan diferencias significativas para el *Seed-set* con $P < 0.05$ obtenida por prueba de Tukey. (Ag- Agamospermia, PC- Polinización Cruzada, AA- Autopolinización Automática, AM- Autopolinización Manual, CE- Control Emasculado, C- Control).

Figura 8. Gráfica del porcentaje de germinación de plantas silvestres sometidas a 5 sistemas de polinización y un control. Letras diferentes denotan diferencias significativas con $P < 0.05$ (prueba de Tukey). (PC- Polinización Cruzada, Ag- Agamospermia, AA- Autopolinización Automática, AM- Autopolinización Manual, CE- Control Emasculado, C- Control).

Figura 9. Germinación acumulada de semillas germinadas al día 42 provenientes de plantas silvestres sometidas a 5 tratamientos y un control para evaluar sistemas de polinización, letras significativas denotan diferencia significativa ($p < 0.05$).

Figura 10. Comparación de *Fruit-set* y *Seed-set* entre cada tratamiento (barras y puntos respectivamente). Letras diferentes denotan diferencias significativas con $P < 0.05$ para *Seed-set* obtenido por la prueba de Tukey. (Ag- Agamospermia, PC- Polinización Cruzada, AA- Autopolinización Automática, AM- Autopolinización Manual, CE- Control Emasculado, C- Control).

Figura 11. Porcentaje de semillas germinadas al día 6 provenientes de flores de *Gossypium hirsutum* cultivadas sometidas a 5 tratamientos y un control para evaluar sistemas de polinización. Letras diferentes denotan diferencias significativas con $P < 0.05$ (prueba de Tukey). (Ag- Agamospermia, PC- Polinización Cruzada, AA- Autopolinización Automática, AM- Autopolinización Manual, CE- Control Emasculado, C- Control).

Figura 12. Germinación acumulada de semillas germinadas al día 6 provenientes de plantas cultivadas sometidas a 5 tratamientos y un control para evaluar sistemas de polinización, letras significativas denotan diferencia significativa

Figura 13 Análisis de agrupamiento jerárquico para caracteres medidos en campo. La clave en la parte inferior corresponde a los individuos culti son lo cultivados y silv son los de Pacifico Sur. Los cuadros en rojo representan el mejor agrupamiento de acuerdo a la prueba de Calinski. Los números en medio del clúster significan los grupos formados.

Figura 14 Análisis de agrupamiento jerárquico para caracteres medidos en flores colectadas en alcohol. La clave en la parte inferior corresponde a los individuos. Los cuadros en rojo representan el mejor agrupamiento de acuerdo a la prueba de calinski. Los números en medio del clúster significan los grupos formados.

Figura 15. Análisis de varianza por caracter de poblaciones silvestres y cultivadas. LP Caracter largo del pedúnculo, ST Caracter sujeción al tallo, LF Caracter largo de la flor, LBr Caracter largo de las brácteas, LPet Caracter largo de los pétalos, TG Caracter tamaño del gineceo, TE Caracter tamaño del estigma, LA Caracter largo de la antera, Her Caracter hercogamia. * Indica medidas de caracteres tomadas en flores frescas en el sitio.