



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

---

---

## FACULTAD DE CIENCIAS

Efecto de la Fragmentación en la Estructura Genética de *Aphelandra aurantiaca*, en la Estación de Biología Tropical “Los Tuxtlas” de la Universidad Nacional Autónoma de México en Veracruz, México.

# T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

B I Ó L O G O

P R E S E N T A:

Montero Arciniega Alfredo Alejandro

Director de Tesis

Dr. Juan Núñez Farfán



MÉXICO, D.F. CIUDAD UNIVERSITARIA

2014



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.

## Hoja de Datos del Jurado

1. Datos del Alumno  
Montero  
Arciniega  
Alfredo Alejandro  
56903141  
Universidad Nacional Autónoma de México  
Facultad de Ciencias  
Biología  
09121010-6
2. Datos del Asesor  
Doctor  
Núñez  
Farfán  
Juan Servando
3. Datos del Sinodal 1  
Doctor  
Cano  
Santana  
Zenón
4. Datos del Sinodal 2  
Doctor  
Valverde  
Padilla  
Pedro Luis
5. Datos del Sinodal 3  
Doctor  
Cueva del Castillo  
Mendoza  
Raúl
6. Datos del Sinodal 4  
Doctor  
Morales  
Guillaumin  
Eduardo
7. Datos del Trabajo Escrito  
Efecto de la Fragmentación en la Estructura Genética de *Aphelandra aurantiaca*, en la Estación de Biología Tropical “Los Tuxtlas” de la Universidad Nacional Autónoma de México en Veracruz, México.  
52 p.  
2014

## DEDICATORIAS:

A mi esposa Martha y mis hijos Iyari Yaotzin y Noilkin Ketzin

A mi mamá, María Alejandra (Esther), y mi papá, Alfredo Florencio, a mi abuelita Eva y a mi abuelita Luz, a mis abuelos Luciano y Alejandro (†)

A mi suegra, Cecilia, y a mi suegro, Leonardo

A mi hermana Larisa, mi cuñado Gerardo y mis sobrinos Sthephany Vianey e Iván Uriel

A mis cuñados (Oscar, Roberto, Ismael, Reyna, Jacqueline y Clara) y a mis sobrinos Saúl Huemantzin, Atzin, Santiago Iktan, Ian, Yaretzi, Fernanda Yatzil y Camilla Ameyalli

A mis carnales Juan, Eulogio, Checo, Cosca, Leo, Sabrozo y Doña Licha, Iván, Hugo, Izca, Chucho, Ángel, Lagomorfo, Dino, Samita, Mari, Magda, Bronto, Gabriel del Ángel, Gabriel García, Edmundo, Adrián, Geovani, Ofelia, Julieta, Marcela, Ivalu, Ángela, Erika, Luis y Olga. A la raza del Pulpo, del Pirul, de la Torre y todos los que se me olvidaron.

¡GRACIAS A TODOS!

## Contenido

RESUMEN .....	5
I. INTRODUCCIÓN .....	6
1.1 El Bosque Tropical Fragmentado .....	6
1.2 Efectos de la Fragmentación.....	7
II.- OBJETIVOS E HIPÓTESIS .....	11
2.1 Objetivo General .....	11
2.2 Objetivos Particulares .....	11
2.3 Hipótesis.....	11
III.- MÉTODOS .....	12
3.1 Biología de la Especie .....	12
3.2 Muestreo .....	15
3.3 Tratamiento y Análisis de los Datos Demográficos .....	17
3.4 Análisis Genético.....	17
3.4.1 Estimación de las frecuencias alélicas.....	18
3.4.2 Estimación de la variación genética .....	19
3.4.3 Estimación de la distancia genética .....	20
3.4.4 Estimación de la divergencia genética.....	21
3.5 Análisis Estadístico .....	23
3.5.1 <i>t</i> de Student .....	23
3.5.2 Análisis de varianza .....	24
3.5.3 Análisis posterior de los datos mediante la prueba de Tukey.....	25
3.5.4 <i>Ji</i> cuadrada.....	25
3.5.5 Regresión logística.....	26
IV. RESULTADOS.....	27
4.1 Estructura de Tamaños .....	27
4.2 Estructura de Edades.....	28
4.3 Estructura del Número de Hojas .....	29
4.4 Estructura Reproductiva .....	30
4.5 Actividad Enzimática.....	31
4.6 Distancia Genética.....	34
4.7 Estadísticos F de Wright.....	37
4.8 Flujo Génico .....	38
V. DISCUSIÓN .....	39
VI. CONCLUSIONES .....	43
VII. LITERATURA CITADA.....	44
ANEXO I .....	49
ANEXO II.....	50
ANEXO III.....	51
ANEXO IV.....	51

## RESUMEN

En el presente estudio se evaluó el efecto de la fragmentación en la estructura genética de la hierba *Aphelandra aurantiaca*, a partir del análisis de seis enzimas (SOD, APX, CPX, NADHDH, ME y RUB) con un total de 15 alelos en 10 *loci*, de los cuales seis resultaron estar fijos. De las enzimas con *loci* variables se resolvieron nueve alelos, tres para CPX y dos para las demás enzimas (SOD, APX y NADHDH). Se muestrearon cuatro sitios, dos en el interior de la Estación de Biología Tropical “Los Tuxtlas” (EBT-UNAM) y dos en fragmentos contiguos. El análisis demográfico indica que existen diferencias significativas entre hábitats sin diferir entre sitios dentro de cada hábitat en la altura el número de hojas y la probabilidad de reproducirse. Las plantas de fragmento tuvieron una mayor probabilidad de reproducción. Sin embargo, a pesar de las diferencias en los procesos demográficos a escala local no se ve afectada la estructura genética ni el tamaño del vecindario genético en *A. aurantiaca*. El análisis de estadísticos  $F_{ST}$  no indica diferencias significativas entre hábitats continuo y fragmentado. Mientras que los  $F_{IT}$  y  $F_{IS}$  señalan que los sitios de fragmento son más cercanos genéticamente al sitio continuo, en la zona núcleo, sin importar la distancia geográfica. Sin embargo al considerar la sub-estructuración de los sitios de muestreo, en reproductivos y no reproductivos, se detectó una reducción en el número efectivo de alelos y en la frecuencia alélica entre los individuos no reproductivos de los sitios de fragmento.

## I. INTRODUCCIÓN

### 1.1 El Bosque Tropical Fragmentado

La selva alta perenifolia (*sensu* Miranda y Hernández-X, 1963), bosque tropical lluvioso (*sensu* Rzedowski, 1978, 1991) o bosque subperennifolio (*sensu* Whitmore, 1984, 1998) ha sido descrito históricamente como el más complejo y rico tipo de vegetación sobre la tierra, aunque lamentablemente también es de los más deteriorados (Leigh, 1982). Se distribuye entre los trópicos y nuestro país cuenta con la representación más norteña de bosques de este tipo en el continente americano (Dirzo y Miranda, 1991; Dirzo *et al.*, 1997).

En el pasado, este tipo de vegetación conformaba un cinturón costero en el Golfo de México, desde el sur de San Luis Potosí hasta Centroamérica; sin embargo, el cambio de uso de suelo ha dejado sólo algunos manchones de éste en el sur de Veracruz y Tabasco, así como en Chiapas (Terborgh, 1974; Boege y Rodríguez, 1992; Dirzo, 1992), cubriendo actualmente el 16% de la extensión del territorio nacional (Semarnat, 2001). Este ecosistema está representado principalmente por fragmentos con alta diversidad biológica (Levejoy, 1992; Estrada *et al.*, 2000), ubicados en las zonas de mayor pendiente de las montañas o en suelos pobres (Dirzo *et al.*, 1997). En 1968 Pennington y Sarukhán ubican los reductos más septentrionales de bosque tropical en la región de la sierra de los Tuxtlas, Veracruz (Dirzo y Miranda, 1991).

Desafortunadamente, las tasas de deforestación están lejos de reducirse debido, sobre todo, al cambio de uso de suelo en favor de la ganadería extensiva (Boege y Rodríguez, 1992; Dennis, 1997). Lawrence *et al.* (2001) calcularon la tasa de deforestación debida al cambio de uso de suelo en 2 millones de hectáreas anuales para los bosques húmedos del planeta. En México, la Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas calcula una pérdida general de sistemas boscosos, en 650 mil hectáreas anuales, de las cuales más de 400 mil son selvas (Conafor, 2006); en la región de los Tuxtlas, Dirzo (2001) calculó la reducción anual en 4.3%, revelándose como una de las más altas del mundo.

Dirzo (1992) calculó que sólo resta alrededor del 5% del total, por lo que la principal característica de este lugar es la fragmentación (Vázquez, 1992). Esta escandalosa reducción convierte a la selva en una red de islas inmersas en una matriz transformada de potreros y tierras estériles (Sarukhán y Dirzo, 2001), por lo que la pérdida de ambientes tropicales, estimada en 140,000 km<sup>2</sup> anuales (Primack, 2001), es la principal causa de pérdida de biodiversidad, no sólo orgánica sino también genética (Simberloff, 1992; Dirzo, 2001; Sarukhán y Dirzo, 2001).

Por ello, la conservación de esta región es de gran interés nacional debido a su ubicación y a la notablemente alta diversidad biológica (Estrada, 1992), ya que por su posición latitudinal, en ella convergen especies de origen tropical y ártico, así como un número considerable de especies endémicas (Dirzo *et al.*, 1997; Conabio, 2008). En cuanto a la diversidad vegetal, se pueden encontrar 936 especies agrupadas en 545 géneros de 137 familias (EBT-IBUNAM, 2007b). De las hierbas del piso de la selva, se encuentran 10 especies de Achantaceae, 18 de Araceae y tres de Zingiberaceae (Ibarra-Manríquez y Sinaca-Colín, 1987).

## 1.2 Efectos de la Fragmentación

La fragmentación del hábitat relacionada con la actividad humana reduce y aísla las poblaciones (Turner *et al.*, 1996; Haila, 2002) provocando una alteración de los rasgos demográficos de una población (densidad, fertilidad, supervivencia y mortalidad) debido a modificaciones en las condiciones ambientales y a la interacción con depredadores, parásitos y polinizadores (Young, 1995; Lande, 1998; Clark y Young, 2000; Hansky y Ovascainen, 2001). A pesar de lo anterior, algunas especies podrían ser resistentes a las consecuencias perjudiciales del aislamiento (Bruna y Kress, 2002). De hecho, el sentido y la magnitud de los efectos dependerán de los rasgos de historia de vida y del sistema de cruce del organismo (Hamrick y Godt, 1990; Hamrick y Godt, 1996).

En las plantas tropicales varias etapas de la reproducción involucran interacciones directas con animales que las polinizan y dispersan, por lo que la reproducción de estas

plantas puede ser afectada por la fragmentación, al incidir sobre los polinizadores (Rolstad, 1991). En el caso concreto de las plantas polinizadas por colibríes, aunque su hábitat común es el interior del bosque, los estudios disponibles sugieren que los colibríes presentan una alta movilidad en la matriz transformada (Borgella *et al.*, 2001). En general y en el caso de los insectos, la riqueza no varía substancialmente entre fragmentos de diversos tamaños, pero sí disminuye con respecto a la distancia de los fragmentos más grandes (Donaldson *et al.*, 2002).

La fragmentación puede producir un decremento en las poblaciones de insectos y aves polinizadores, aumentando la autopolinización y alterando la producción de semillas (Cunningham, 2000), pero también puede aumentar la entrecruza por efecto de polinizadores ilegítimos (Aizen and Feinsinger, 1994). Esto podría provocar que en ocasiones el sistema de cruce no explique porqué el número de semillas sea similar entre los fragmentos y el continuo, lo cual puede deberse al posible incremento de la movilidad del principal polinizador en el mosaico (Gobeil y Villard, 2002), o por la sincronía de la fenología floral y el grado de conservación de la cubierta vegetal de los fragmentos (Donaldson *et al.*, 2002). Esto se traduce en un incremento en el *fitness* (adecuación) y el flujo génico en poblaciones recién fragmentadas (Newman y Tallmon, 2001).

La fragmentación también puede afectar los procesos ecológicos que determinan la estructura intra e interpoblacional (Hansky y Ovascainen, 2001; Hansky y Ovascainen 2003). Esto provoca que se alteren otros procesos relacionados, tales como el número de semillas (Matsumura y Washitani, 2000; Wolf y Harrison, 2001; Tomimatsu y Ohara, 2002), el herbivorismo (Horvitz y Schemske, 1984; Dirzo y Miranda, 1991), la depredación (Horvitz y Schemske, 1994), la germinación (Bruna, 1999), el reclutamiento (Louda, 1982; Jules, 1998) y la limitación de la dispersión (Bruna, 1999; Hamilton, 1999). Afecta también la supervivencia y la expresión del genotipo en forma de purga genética e incrementando la varianza genética aditiva, lo que puede provocar adaptación local, plasticidad fenotípica (Young *et al.*, 1996) o pérdida de estabilidad en el desarrollo (Ostermeijer *et al.*, 1994).

En el campo de la genética de poblaciones resulta importante estudiar bajo qué condiciones el efecto demográfico de la subdivisión poblacional es insignificante, y buscar las

condiciones que sean invariantes (Nagylaki, 1989), en donde el modelo de aislamiento por distancia supone que las poblaciones están distribuidas en grupos en el espacio y se cruzan al azar sólo localmente (Hanski, 1998; Hedrick, 2000).

Asimismo, el modelo de alelos neutros infinitos bajo subdivisión poblacional, predice diferenciación interdémica e incrementa la homocigosis promedio, reduciendo el número efectivo de alelos (Crow y Kimura, 1970; Nagylaki, 1989; Hedrick, 2000). Sin embargo, sólo la investigación de patrones de flujo y de migración-colonización permite el entendimiento de los patrones de variación espacial y genética (Nagylaki, 1989, Hamrick y Nason, 1996).

La teoría de la genética de poblaciones predice que la deriva genética y la endogamia provocan niveles bajos de variación genética en las poblaciones pequeñas (Van Treuren *et al.*, 1991); al suponer que la diversidad genética es una función del tamaño de la población, se espera un efecto marcado debido principalmente a la erosión genética como consecuencia de la endogamia, por el incremento de la autopolinización o la cruce con ancestros comunes recientes (Paland y Schmid, 2003). Por ello, la fragmentación puede provocar la pérdida de alelos por efecto de la deriva genética (Young *et al.*, 1996) e influenciar la magnitud de la depresión endogámica (Groom y Preuninger, 2000; Armbruster y Reed, 2005), así como aumentar el riesgo de extinción por la fijación y la acumulación de alelos deletéreos de efecto pequeño (Paland y Schmid, 2003).

Los marcadores moleculares más comunes son los que revelan la variación genética analizando la movilidad electroforética (Hart y Clarck, 1989). En el caso de las isoenzimas son marcadores codominantes y permiten detectar a los individuos heterocigos, es decir, que se asume que los distintos electromorfos (patrones de bandas) se corresponden con *loci* codificadores de enzimas metabólicas que presentan variación entre individuos, entre poblaciones o entre especies, y que son adaptativamente neutrales (Hedrick, 2000).

En general, los datos de la variación de isoenzimas en plantas muestran que las especies endogámicas tienen menor diversidad genética dentro de las poblaciones que las especies de entrecruza, y el nivel de diferenciación genética entre poblaciones es

generalmente más alto en especies endogámicas que en especies de entrecruza (Hamrick y Godt, 1990; Charlesworth y Pannell, 2001). Asimismo, las especies con sistema de cruce mixto y con polinización mediada por animales tienen valores intermedios de diversidad genética total entre poblaciones (Hamrick y Godt, 1996).

Analizando el patrón de variación de isoenzimas en 274 especies, Cole (2003) observó una reducción significativa en la variación, tanto a nivel poblacional como a nivel específico, mientras que las medidas de diferenciación  $F_{IS}$  y  $F_{ST}$  no difirieron significativamente con respecto al tamaño de la población. En el marco de la fragmentación, un metanálisis mostró que las poblaciones pequeñas son más propensas a la extinción debido a la acción de la deriva génica, el aumento de la endogamia y la cruce entre parientes, independientemente de si son de especies raras o comunes, incluso estas últimas podrían ser más susceptibles; mientras que las especies autocompatibles fueron menos afectadas en su, de por sí, baja diversidad genética que las especies de entrecruza obligada y mixtas (Honnay y Jacquemyn, 2007)

En el corto plazo, las implicaciones de la fragmentación son: pérdida de la heterocigosis, reducción del *fitness* y de la viabilidad (demográfica) de la población remanente. Existen algunas pruebas empíricas de que las principales consecuencias de la fragmentación sobre la estructura genética en las plantas recaen en la variación genética a nivel poblacional expresada como heterosigosis esperada ( $H_e$ ), producto de la reducción en el tamaño poblacional (Cruzan, 2001). Esto provoca “cuellos de botella” genéticos, y la subsecuente, deriva genética (Groom y Preuninger, 2000), incremento en la probabilidad de extinción (Young *et al.*, 1999) y reducción en la variación genética a nivel individual. En el largo plazo, la reducción de la riqueza alélica puede limitar la habilidad de una especie para responder a cambios en las presiones de selección (Falconer, 1989; Ellstrand y Elam, 1993; Young *et al.*, 1996; Ingvarsson, 2002).

## II.- OBJETIVOS E HIPÓTESIS

### 2.1 Objetivo General

Analizar el efecto de la fragmentación de la selva de los Tuxtlas, Veracruz, en la diversidad y estructura genética de *Aphelandra aurantiaca* (Acanthaceae).

### 2.2 Objetivos Particulares

- Conocer la estructura demográfica de poblaciones de *A. aurantiaca*, en la selva continua, no perturbada, y en los fragmentos.
- Determinar la diversidad y estructura genética de *A. aurantiaca*, en la selva continua y fragmentada.
- Estimar los coeficientes de endogamia de las poblaciones de *A. aurantiaca* en la selva continua y en fragmento, para inferir el sistema de apareamiento, y
- Estimar, indirectamente, la magnitud del flujo génico entre las poblaciones de *A. aurantiaca*.

### 2.3 Hipótesis

Suponiendo que la dinámica poblacional de ambientes continuo está representada por los terrenos de la Estación de Biología Tropical Los Tuxtlas (en claros), y que la fragmentación del ambiente produce alteraciones en la estructura poblacional, vista como la frecuencia de los componentes de la población atendiendo a la estructura de tamaños, la estructura reproductiva y la estructura genética, esperaríamos que estas variables se vean alteradas por lo que las poblaciones de fragmento de *A. aurantiaca* muestre diferencias significativas en la estructura de tamaños, estructura reproductiva y estructura genética respecto de las poblaciones de continuo. Con lo que se aportarían elementos sobre que la fragmentación reducción y aislamiento afecta algún elemento de la estructura demográfica o genética. Por el contrario, la ausencia de diferencias en la estructura demográfica puede indicar que la fragmentación no tiene efecto en la población y de no haber diferencias significativas en la estructura genética querría decir que la población se comporta del mismo modo sin importar la fragmentación. Tal vez debido a la acción y alta permeabilidad del principal polinizador.

## III.- MÉTODOS

### 3.1 Biología de la Especie

*Aphelandra aurantiaca* (Acanthaceae), es una de las cinco hierbas más abundantes del sotobosque de la reserva de los Tuxtlas (Dirzo *et al.*, 1992). Se encuentra en selvas maduras y raramente en vegetación secundaria, en un intervalo altitudinal que va de los 150 a los 1,300 msnm (Wasshausen, 1975). El tipo de fruto de las Acanthaceae es único entre las angiospermas; presenta cuatro semillas naciendo en el retináculo (derivado lignificado del funículo) con cápsula de dehiscencia explosiva.

El género *Aphelandra* tiene flores tubulares bracteadas, hermafroditas, protóginas, arregladas en una espiga; se caracteriza por presencia de cuatro anteras monotecas, la corola bilabial y granos de polen elongados y tricolpados; tiene origen neotropical, con la mayoría de sus especies confinadas al trópico americano, y del 20 al 25% de ellas habitan en América Central y México (Wasshausen, 1975; McDade, 1984). El número cromosómico básico o haploide del género es 14 (McDade, 1990), por lo que se considera que el número básico para la familia es de siete (Daniel, 2000).

*A. aurantiaca* tiene una altura total de 70 cm de estatura, tiene hojas anchas ovaladas de color verde oscuro reluciente y flores amarillo-anaranjadas (Toledo, 1975; Conzatti y Smith, 1981). La dispersión primaria es balística, debida a la dehiscencia explosiva del fruto y la secundaria es por agua (obs. pers.). La fenología anual de *A. aurantiaca* inicia con la floración que se presenta entre septiembre y enero, sigue con la fructificación que va de diciembre a marzo; la dispersión se da entre marzo y mayo y la germinación se lleva a cabo entre junio y agosto (Calvo-Irabién, 1989). Producen un néctar con 24-26% de azúcar, variando a lo largo del día y el volumen total varía ampliamente entre individuos (McDade y Weeks, 2004).

McDade (1985) sugiere que las especies del género *Aphelandra* poseen una combinación de sistemas de cruce, con caracteres que promueven la entrecruza sin excluir la geitonogamia. En *A. aurantiaca* el estigma permanece activo desde botón maduro hasta 2 días después de que la flor abre; mientras que el polen es viable a partir del primer día (Islas Luna, 1995). Consistente con este traslape de un día, el sistema de apareamiento indica una mayor proporción de semillas por autogamia; mientras que entre distintos ambientes, se produjeron significativamente una mayor proporción de semillas sanas por autogamia y entrecruza en los claros en relación con lo que se registra en sitios maduros; pero en la geitonogamia no difirieron significativamente. Dentro de los sitios maduros la geitonogamia y la entrecruza no difirieron significativamente y en claros la geitonogamia fue mayor que la entrecruza. Aunque no se probó la viabilidad de las semillas en esta especie, es posible que ocurra una situación similar a *A. storkii*, que tiene un sistema totalmente autocompatible, con semillas de autogamia y entrecruza igualmente viables (McDade, 1985).

*A. aurantiaca* es polinizada principalmente por el colibrí ermitaño *Phaetornis superciliosus* (Linnaeus) (Toledo, 1975; Islas-Luna, 1995; Calvo-Irabién, 1997a, b). No obstante, es visitada con muy poca frecuencia, razón por lo cual Calvo-Irabién (1989) sugiere que los polinizadores son un recurso limitado; sin embargo, estos polinizadores tiene una alta movilidad entre los fragmentos ya que se les ha observado en cercas vivas, cultivos arbóreos (Estrada *et al.*, 1997) y sobre bosques riparios en el cauce de ríos (Estrada *et al.*, 2000).

Islas-Luna (1995) y Calvo-Irabién e Islas-Luna, (1999) describieron y cuantificaron la depredación de flores, frutos y semillas, probando la influencia de la variación del hábitat en la depredación previa a la dispersión y evaluaron el efecto de la exclusión de herbívoros en frutos y semillas en ambientes claros y sombreados. Encontraron que la mayoría de las flores dañadas eran botones jóvenes, y que el daño era selectivo sobre corola, pistilo y estambres; además, encontraron que los florívoros más importantes son las hormigas. La depredación fue más común en los frutos inmaduros; los coleópteros fueron los que más dañaron las infrutescencias y en menor grado los dípteros y los lepidópteros. La especie sufre niveles de daño del 70% y 45.7% más cápsulas dañadas en el bosque maduro que en los claros.

Aunque las evidencias indican diferencias demográficas entre los ambientes de sol y sombra, no se ha detectado una estructura espacial evidente, sino más bien un patrón de distribución que va de agregado a aleatorio, con una densidad en los claros de 1.89 ind/m<sup>2</sup>, en los sitios maduros 1.34 ind/m<sup>2</sup> y en sitios en sucesión 1.46 ind/m<sup>2</sup> (Calvo-Irabién, 1997b). El hecho de que la mayor mortalidad de plantas coincida con el periodo de mayor reclutamiento, sugiere una acción inmediata de la selección natural (Calvo-Irabién, 1989; 1997b).

Con base en la observación de Calvo-Irabién (1989) sobre la floración temprana en los ambientes bien iluminados, y en la evidencia de que la heterogeneidad ambiental causa heterogeneidad genética, por la acción diferencial de la selección natural a baja escala espacial, de 1-1000 metros, y temporal, de 1-20 generaciones, así como por el flujo génico (Linhart, 1996), se plantea la existencia de una variación temporal en la distribución espacial dada por la fenología de *A. aurantiaca*, dividiendo a la población en al menos dos cohortes reproductivas: una temprana de ambientes iluminados y otra tardía de ambientes sombreados. También se propone un desplazamiento fenológico de la floración, ya que en las hierbas polinizadas por colibríes tienden a extenderse casi todo el año, como una forma de limitar el flujo interespecífico de polen (Stiles, 1975). No obstante, también podría limitar el flujo interpoblacional, colocando a las poblaciones locales en una situación en donde las poblaciones temporales dejen de comportarse como parte de la unidad que se conectan entre sí por la dispersión de sus individuos, en forma de polen o semillas.

La dinámica poblacional está regida por la heterogeneidad ambiental producida por la regeneración en mosaico del bosque y la interacción con sus depredadores (Islas-Luna, 1995; Calvo-Irabién, 1997a; b, 1989; y Calvo-Irabién e Islas-Luna, 1999). Esta especie tiene la capacidad de producir reiteraciones mediante meristemos laterales y axilares (Calvo-Irabién, 1989) que le permiten a un genotipo sobrevivir en la sombra el tiempo que tarda la formación de dos claros en el mismo sitio (Calvo-Irabién e Islas-Luna, 1999), que es de 48 años en promedio (tasa de renovación de la selva, Martínez Ramos *et al.*, 1988), por lo que uno de los factores determinantes en la variación de la dinámica poblacional es la luz (Islas-Luna, 1995), al acelerar la tasa de crecimiento, el desarrollo, la fertilidad (número de semillas

por planta) y el reclutamiento sexual, pero reduciendo la sobrevivencia (Calvo-Irabién, 1997b). A pesar de lo anterior, el porcentaje máximo de germinación fue independiente del porcentaje de luz directa. No presenta banco de semillas y se considera, según sus patrones de sobrevivencia y crecimiento, como una planta especialista de sombra (Calvo-Irabién, 1997b).

### 3.2 Muestreo

El estudio genético requiere de muestras aleatorias de las poblaciones, para lo cual, en cada una de las cuatro poblaciones muestreadas, se estableció un método de cuadrante con centro arbitrario, a partir del cual se trazó de manera imaginaria dos ejes de coordenadas, de donde resultaron cuatro cuadrantes, delimitados por elementos sobresalientes del entorno. En las poblaciones de fragmento se buscó situar el centro arbitrario en el centro del fragmento. Dentro de cada cuadrante se colectó tejido vegetativo de 25 individuos reproductivos mayores de 7 cm de altura, que tuvieran entre sí al menos 2 m de distancia, con la finalidad de evitar seleccionar individuos con relación genética reciente.

Las repeticiones del diseño permiten detectar la variación estocástica e identificar el efecto de la variable o condición (conjunto de variables ambientales) que se desea analizar; sin embargo, al tratarse de poblaciones en ambientes naturales, en pocas ocasiones es posible realizar réplicas. En particular, para *A. aurantiaca* en condiciones de hábitat fragmentado dentro de la Estación de Biología Tropical de la Universidad Nacional Autónoma de México “Los Tuxtlas” (EBT-UNAM), no se pudieron replicar las muestras, pues de los tres fragmentos con área pequeña, aproximada o menor a 5 ha y que se encontrara a menos de 1 km de los terrenos de la EBT-UNAM, sólo en uno se presentó esta especie, por lo que se decidió muestrear en el fragmento mayores más próximos a los terrenos de la estación con presencia de la especie, resultando el fragmento del Ejido Ruiz Cortines con un área ligeramente >100 ha. En tanto que las muestras de la estación (con 640 ha de extensión) constituyen el referente como representantes del ambiente continuo.

De este modo, se muestrearon cuatro poblaciones locales, dos de selva continua de la Reserva de Biosfera de los Tuxtlas representada por la EBT-UNAM y dos en fragmento a los alrededores de la EBT-UNAM del 5 al 10 de noviembre de 2001 (Figura 1 y Tabla 1).

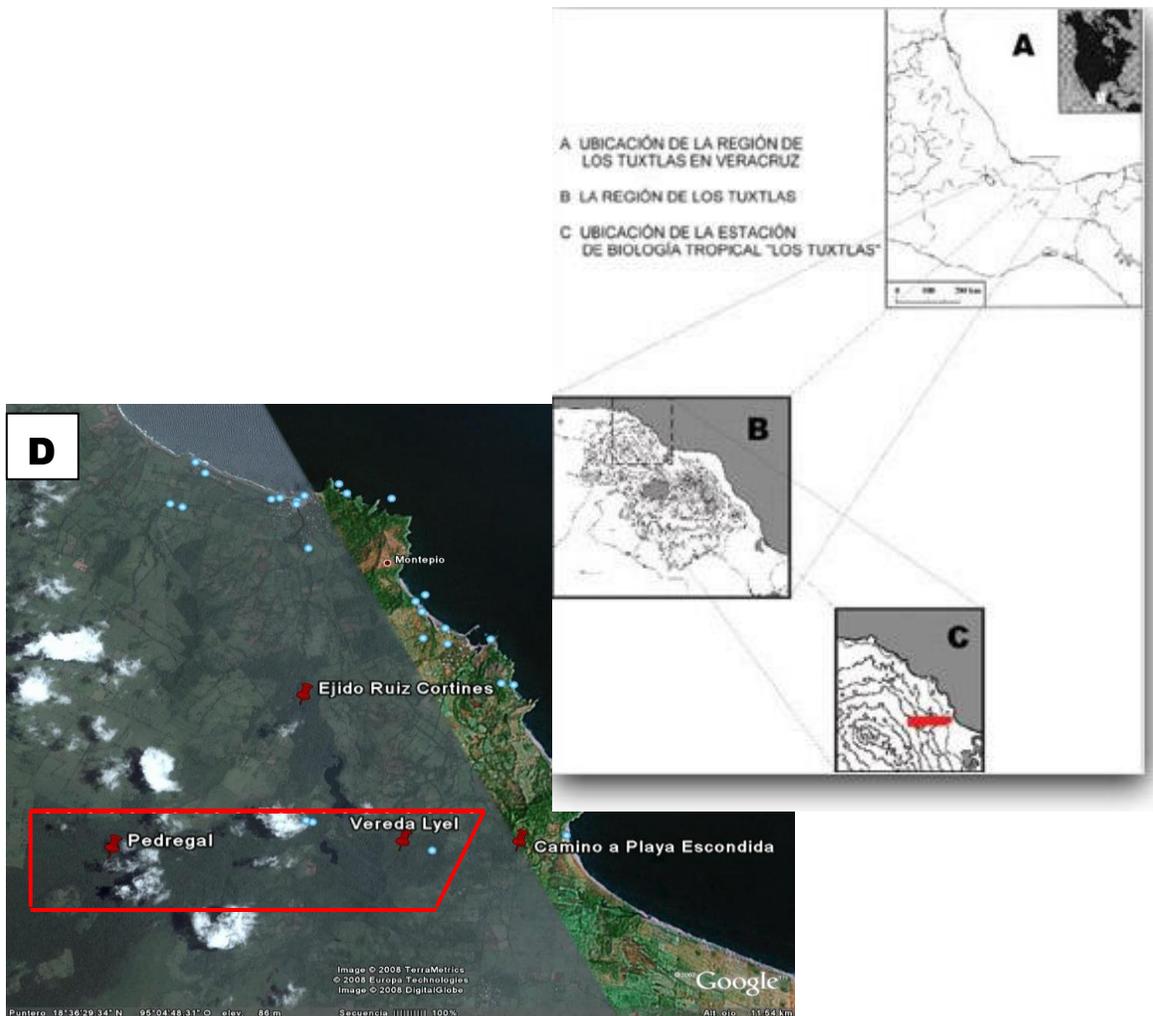


Figura 1: Localización de los sitios de muestreo en la región de Los Tuxtlas, Veracruz. La temperatura media anual máxima en la EBT es 27.3 °C y mínima es 21.5°C, la precipitación media anual de más de 4500 mm (basado en los datos recopilados entre 1997-2001; www.ibiologia, 2007a).

Tabla 1  
Sitios seleccionados para muestrear las poblaciones de *Aphelandra aurantiaca* en la región de la Estación de Biología Tropical “Los Tuxtlas”, Veracruz

Población	Tipo de Hábitat	Posición Geográfica	Área del fragmento (ha)
Lyell	Continuo (C1)	18°35'12" N, 95°04'32" W	640
Pedregal	Continuo (C2)	18°35'24" N, 95°06'91" W	640
Playa	Fragmento (F1)	18°35'05" N, 95°03'40" W	3
Ruiz Cortinez	Fragmento (F2)	18°35'73" N, 95°05'38" W	114.6

### 3.3 Tratamiento y Análisis de los Datos Demográficos

Para evaluar el posible efecto de la fragmentación en la estructura demográfica, se atendió el conjunto de eventos que determinan la estructura genética, es decir, aquellos, como el tamaño y la estructura reproductiva, como imagen de la fenología floral. Específicamente en cada uno de los 100 individuos se tomó la altura con reglas de escala mínima de 1 cm, el número de hojas, el número de inflorescencias y el estado reproductivo en cuatro categorías: vegetativo, prereproductivo, reproductivo y posreproductivo; que dan la base para la construcción de la estructura demográfica y fenológica de la población.

### 3.4 Análisis Genético

De cada uno de los 399 individuos se colectó tejido vegetativo que fue almacenado en nitrógeno líquido para trasladarlo al Laboratorio de Genética Ecológica y Evolución del Instituto de Ecología de la UNAM, en donde se mantuvieron en congelación a  $-70^{\circ}$  C, hasta que se realizó el análisis de isoenzimas por medio de electroforesis horizontal en gel de almidón.

Para el análisis se probaron diversos buffers de extracción (Anexo II), complejos como el Yo-Veg; semi complejos, como el Yo y Veg por separado; hasta combinaciones con buffer de fosfatos, siendo éstos con los que se obtuvo mejores resultados. Los extractos obtenidos se sometieron a electroforesis de almidón, principalmente en el sistema de ácido cítrico de pH discontinuo (ver Anexo III), para obtener diferentes marcadores moleculares y poder calcular las frecuencias de las distintas aloenzimas resueltas por tinciones específicas (ver Anexo IV).

Se describió por medio de las frecuencias de las bandas resueltas por medio de la electroforesis, la distribución de la variación genética dentro y entre las poblaciones de fragmento y de continuo. Esto es, cómo se arreglan los distintos alelos para formar genotipos, y cómo se distribuyen los genotipos dentro y entre poblaciones por medio de los estadísticos  $F$  de Wright ( $F_{IS}$ ,  $F_{IT}$  y  $F_{ST}$ ) y el índice de fijación ( $F$ ). Debido a que éstos permiten hacer inferencias acerca de los posibles procesos y fuerzas evolutivas que causan la diferenciación

genética dentro y entre poblaciones. Además, a partir de  $F_{ST}$  puede estimarse, el flujo génico ( $Nm$ ) y el aislamiento por distancia entre las poblaciones.

### 3.4.1 Estimación de las frecuencias alélicas

Un gen es una unidad de herencia de información concerniente a una unidad de carácter, el cual se transmite por un padre a su hijo. En organismos diploides de reproducción sexual, cada individuo acarrea dos unidades de carácter. El grupo de genes acarreados por un individuo es un genoma. El lugar donde reside un gen particular es el locus; para propósitos de la genética de poblaciones, el locus puede ser visto, como la unidad básica indivisible de transmisión de la herencia. Las diferentes formas en las que se presenta un gen se denominan alelos (Hedrick, 2000).

Para comparar distintos genes o distintas poblaciones, es necesario tener alguna medida cuantitativa de la variación genética; esta variación puede ser cuantificada usando el concepto de frecuencia alélica estimada, como el número de alelos de un tipo dado, entre el total de alelos de un gen determinado (Hartl y Clark, 1989. p17).

La frecuencia de cualquier alelo en una muestra será igual a dos veces el número de homocigos (porque cada homocigoto acarrea dos copias del alelo), más los heterocigos (porque cada heterocigo acarrea un alelo distinto) dividido por dos veces el número de individuos en la muestra (porque cada individuo acarrea dos alelos en el locus):

$$\text{Alelo } p = (2N_{ii} + N_{ij}) / 2N \text{ (idem)}$$

Si asumimos el modelo de H-W, las frecuencias esperadas para los homocigos será  $p_i^2$  y para los heterocigos  $2p_iq_j$  y la heterocigosis esperada, es decir la frecuencia de todos los heterocigos combinados, puede escribirse como:

$$H_E = 1 - \sum_{i=1}^n p_i^2 \text{ (Hedrick, 1989, p. 55)}$$

La máxima heterocigosis ocurre cuando todos los alelos tienen la misma frecuencia:

$$\begin{aligned} H_E &= 1 - \sum_{i=1}^n (1/n)^2 \\ &= n - 1/n \text{ (idem)}. \end{aligned}$$

La heterosigosis observada estimada como:

$$\hat{H}_O = \sum N_{ij} / N$$

Donde  $i \neq j$ . (Hedrick, 1989, p. 53).

### 3.4.2 Estimación de la variación genética

La variación genética se produce por diferencias en la secuencia de nucleótidos en el DNA; algunas de estas diferencias pueden traducirse en la sustitución de uno o varios aminoácidos de la cadena proteínica, y ésto repercute en la estructura y función de la proteína. Es por este hecho que, para un mismo gen (locus) pueden existir variantes (alelos). La diferencia en la composición de aminoácidos de la proteína se puede detectar por diferencias en su polaridad y peso, mediante la técnica de electroforésis. Mediante esta técnica cromatográfica se puede obtener diferentes electromorfos, producto de reacciones histoquímicas específicas; proporcionando la información básica para estimar la variación genética (Pasteur, 2003).

Los estimadores que cuantifican la variación son el porcentaje de loci polimórficos por población (P); El número efectivo de alelos por locus ( $N_e$ ) y el promedio de individuos heterócigos por locus (H) (Crow y Kimura, 1970); la Heterosigosidad esperada ( $H_e$ ) o diversidad génica, aplicable a diferentes niveles de ploidia y a organismos con diferente sistema reproductivo (Hedrick, 2000).

$$P = (m / n) \times 100,$$

Donde:  $n$  es el total de loci muestreados en una misma población y  $m$  el número de loci polimórficos, para una frecuencia menor a 0.99 en el alelo más comun o menor al 0.95.

Para calcular la heterocigosis se utiliza la siguiente formula:

$$H = \sum N_{ij} / N$$

Donde  $\sum N_{ij}$  es la suma de las frecuencias de los heterocigotos en toda la población y  $N$  es la frecuencia de todos los alelos.

$$H_E = 1 - \sum p_i^2$$

Es decir uno menos la homocigosis esperada bajo Hardy-Weinberg (Hedrick, 2000).

### 3.4.3 Estimación de la distancia genética

La medida de distancia genética más comúnmente usada es la distancia genética estándar de Nei, ésta tiene la propiedad de incrementar linealmente con el tiempo cuando es neutra; es decir, cuando no hay selección diferencial y todas las nuevas mutaciones resultan en nuevos alelos, siguiendo el modelo de alelos infinitos (Hedrick, 2000).

Para calcular la distancia genética estándar de Nei para un sólo locus con  $n$  alelos, primero se calcula la identidad genética:

$$I = I_{xy} / (I_x I_y)^{1/2}$$

Donde:  $I_{xy} = \sum_{i=1}^n p_{ix} p_{iy}$ ;  $I_x = \sum_{i=1}^n p_{ix}^2$ ;  $I_y = \sum_{i=1}^n p_{iy}^2$ . Mientras que  $p_{ix}$  y  $p_{iy}$  son la frecuencia del  $i$ -ésimo alelo en la  $x$ -ésima y  $y$ -ésima población (Hartl y Clark, 1989).

La distancia genética entre dos poblaciones se define como:

$$D = -\ln(I) = -\ln I_{xy} + \frac{1}{2} \ln I_x + \frac{1}{2} \ln I_y$$

Para loci múltiples los valores  $I_{xy}$ ,  $I_x$  y  $I_y$  se recalculan por la suma de todos los alelos en todos los loci incluidos en el estudio. El valor promedio se calcula al dividir esta suma por el número de loci (Hedrick, 2000). Estos valores promedio son usados en la fórmula de la identidad genética para calcular la identidad promedio y por lo tanto la distancia promedio es:

$$D' = -\ln(I')$$

$I$  y  $I'$  tienen rangos desde cero, cuando ningún alelo es compartido entre las poblaciones, hasta la unidad cuando las dos poblaciones tienen frecuencias alélicas idénticas.  $D$  y  $D'$  tienen un rango de cero, para poblaciones con frecuencias alélicas idénticas, hasta el infinito cuando las poblaciones no comparten ningún alelo (Hedrick, 2000).

### 3.4.4 Estimación de la divergencia genética

También pueden obtenerse parámetros que describen cómo está distribuida la variación genética dentro y entre poblaciones. Esto es, cómo se arreglan los distintos alelos para formar genotipos, y cómo se distribuyen los genotipos dentro y entre poblaciones. Estos parámetros son los estadísticos **F** de Wright ( $F_{is}$ ,  $F_{it}$  y  $F_{st}$ ) y el índice de fijación (**F**). A partir de los estadísticos **F** de Wight pueden hacerse inferencias acerca de los posibles procesos y fuerzas evolutivas que causan la diferenciación genética entre poblaciones y que determinan la estructura genética dentro de las poblaciones (Hedrick, 2000).

Wright desarrolló un método para dividir la variación genética en una población subdividida que provee una obvia descripción de su diferenciación. Esta aproximación consiste de tres diferentes coeficientes de correlación **F**, usado para designar la variabilidad genética a nivel de población (T), subpoblación (S) e individuo (I). Estos tres valores están interrelacionados:

$$1 - F_{IT} = (1 - F_{ST})(1 - F_{IS})$$

$$F_{ST} = F_{IT} - F_{IS} / 1 - F_{IS}$$

$F_{ST}$  es una medida de la diferenciación genética entre las poblaciones, y es siempre positiva.  $F_{IS}$  y  $F_{IT}$  son medidas de la desviación de las proporciones Hardy-Weinberg dentro de las subpoblaciones y en la población total; en donde valores positivos indican una deficiencia de heterocigotos y valores negativos indican un exceso de heterocigotos; mientras que cuando la población está en Hardy-Weinberg  $F_{IS}$  es 0 (Hartl y Clark, 1989).

Extendiendo este análisis y múltiples loci, el coeficiente **F** promedio, para alelos múltiples, puede calcularse mediante:

$$\bar{F}_{IS} = \bar{H}_S - \bar{H}_O / \bar{H}_S$$

$$\bar{F}_{IT} = \bar{H}_T - \bar{H}_O / \bar{H}_T$$

$$\bar{F}_{ST} = \bar{H}_T - \bar{F}_S / \bar{H}_T$$

Donde  $\bar{H}_O$  es la heterosigosidad observada promedio dentro de una subpoblación sobre todos los loci,  $\bar{H}_S$  es la Heterosigosis esperada promedio dentro de la subpoblación

sobre todos los loci y  $\bar{H}_T$  es la heterosigosis esperada promedio en la población total sobre todos los loci (Hedrick, 2000).

### 3.4.5 Estructura poblacional y flujo génico

El efecto del tamaño finito de población causa que las frecuencias en la subpoblaciones deriven independientemente, donde el flujo génico sirva para contrarrestar este efecto y mantiene las frecuencias similares. Para evaluar estos efectos contrastantes por medio de examinar el valor de equilibrio del índice de fijación  $f$ , asumiendo que la probabilidad de que dos alelos sean idénticos por descendencia en la generación anterior  $[1/(2N)]$  y que la probabilidad de que descienda de alelos diferentes en la generación previa  $[(1 - (1/2N))]$ , asumiendo que  $N$  esta dado por el tamaño efectivo de la población (Hedrick, 2000). Así la homocigosidad en la generación  $t$  es:

$$f_t = 1 / 2N + (1 - 1 / 2N) f_{t-1}$$

Ahora si consideramos que la probabilidad de identidad es alterada por la probabilidad de que ambos alelos no sean migrantes, es decir  $(1 - m)^2$ , así:

$$f_t = [1 / 2N + (1 - 1 / 2N) f_{t-1}] (1 - m)^2$$

Y si asumimos que hay un equilibrio entre el flujo génico que genera nueva variación y la reducción en la variación por el tamaño de población finito, por lo que  $f = f_t = f_{t-1}$ .

Ahora si suponemos que  $f$  es igual al índice de fijación en equilibrio, entonces:

$$F_{ST} = [1 / 2N + (1 - 1 / 2N) f_{t-1}] (1 - m)^2 = (1 - m)^2 / 2N - (2N - 1) (1 - m)^2$$

Nótese que cuando  $m = 0$ ,  $F_{ST} = 1$  y que cuando  $m = 1$   $F_{ST} = 0$ , e ignorando los términos cuadrados:

$$F_{ST} = 1 - 2m / 2N - (2N - 1) (1 - 2m) = 1 - 2m / 2N - 2N + 4Nm + 1 - 2N$$

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

Si se propone que hay  $k$  subpoblaciones equivalentes, por lo que un estimado de la diferenciación entre ellas es:

$$G_{ST} = 1 / 4Nm [k/(k-1)]^2 + 1$$

Estas ecuaciones pueden resolverse estimando el número de migrantes por generación (Hedrick, 2000).

$$Nm = 1 - F_{ST} / 4 F_{ST}$$

Para calcular el tamaño efectivo de la población, en función de la cantidad de endogamia (inbreeding),

$$N_e = kN / [1 + (k - 1)^2 / + 4Nm k^2] = kN / 1 - F_{ST}$$

Cuando el número de migrantes  $Nm$ , es grande y  $F_{ST}$  es pequeña, entonces  $N_e = kN$ , como se esperaría para una población con cruza aleatoria. Sin embargo cuando el flujo génico es bajo,  $4Nm < 1$ , entonces el tamaño de población efectivo puede ser mayor que  $kN$ , debido a que el bajo nivel del flujo génico permitiendo que cada subpoblación evolucione independientemente (Hedrick, 2000). En el modelo de “stepping-stone”, con bajo flujo génico, es decir  $2Nm < k / \pi^2$ , el tamaño efectivo es menor, pues:

$$N_e = k^2 / 2m \pi^2 \quad (\text{Hartl y Clark, 1989}).$$

### 3.5 Análisis Estadístico

#### 3.5.1 *t* de Student

Según Wonnacott y Wonnacott (1998), la prueba de *t* de student es la forma más fácil de comparar dos medias cuando se procede a una prueba de hipótesis, donde se desea saber si las poblaciones son iguales o diferentes, en el caso particular las muestras son la altura, la fenología y la estructura genética de las cuatro poblaciones locales, dos de ambiente continuo y dos de ambiente fragmentado.

La mayor parte de las pruebas estadísticas *t* tienen la forma  $T = Z/s$ , donde  $Z$  y  $s$  son funciones de los datos estudiados. Típicamente,  $Z$  se diseña de forma tal que resulte sensible a la hipótesis alternativa (p.ej. que su magnitud tienda a ser mayor cuando la hipótesis alternativa es verdadera), mientras que  $s$  es un parámetro de escala que permite que la distribución de  $T$  pueda ser determinada.

Por ejemplo, en una prueba  $t$  de muestra única,  $Z = \frac{\bar{X}}{\frac{\sigma}{\sqrt{n}}}$ , donde  $\bar{X}$  es la media muestral de los datos,  $n$  es el tamaño muestral, y  $\sigma$  es la desviación estándar de la población de datos;  $s$  en una prueba de muestra única es  $\hat{\sigma}/\sigma$ , donde  $\hat{\sigma}$  es la desviación estándar muestral.

Los supuestos subyacentes en una prueba  $t$  son:

- Que  $Z$  sigue una distribución normal bajo la hipótesis nula.
- $ps^2$  sigue una distribución  $\chi^2$  con  $p$  grados de libertad bajo la hipótesis nula, y donde  $p$  es una constante positiva.
- $Z$  y  $s$  son estadísticamente independientes (Wonnacott, 1998).

En una prueba  $t$  de comparación de medias de dos muestras independientes, se debe realizar las siguientes suposiciones:

- Cada una de las dos poblaciones que están siendo comparadas sigue una distribución normal.
- Si se está utilizando la definición original de Student sobre su prueba  $t$ , las dos poblaciones a ser comparadas deben poseer las mismas varianzas. Si los tamaños muestrales de los dos grupos comparados son iguales, la prueba original de Student es altamente resistente a la presencia de varianzas desiguales.
- Los datos usados para llevar a cabo la prueba deben ser muestreados independientemente para cada una de las dos poblaciones que se comparan.

### 3.5.2 Análisis de varianza

De acuerdo con Wonnacott y Wonnacott (1998) en estadística, el análisis de la varianza (ANOVA) es una colección de modelos estadísticos y sus procedimientos asociados, para el análisis de más de dos población.

El ANOVA parte de algunos supuestos que han de cumplirse:

- La variable dependiente debe medirse al menos a nivel de intervalo.

- Independencia de las observaciones.
- La distribución de los residuales debe ser normal.
- Homocedasticidad: homogeneidad de las varianzas.

La técnica fundamental consiste en la separación de la suma de cuadrados (SS, por sus siglas en inglés, 'sum of squares') en componentes relativos a los factores contemplados en el modelo. Como ejemplo, a continuación se muestra el modelo para un ANOVA simplificado con un tipo de factores en diferentes niveles:

$$SS_{\text{Total}} = SS_{\text{Error}} + SS_{\text{Factores}}$$

El número de grados de libertad (gl) puede separarse de forma similar y corresponde con la forma en que la distribución chi-cuadrado ( $\chi^2$  o Ji-cuadrada) describe la suma de cuadrados asociada.

$$gl_{\text{Total}} = gl_{\text{Error}} + gl_{\text{Factores}}$$

El análisis de varianza lleva a la realización de pruebas de significación estadística, usando la denominada distribución F de Snedecor.

### 3.5.3 *Análisis posterior de los datos mediante la prueba de Tukey*

Wonnacott y Wonnacott (1998) plantean que una vez que se conoce la significancia estadística, se puede determinar si hay diferencias, pero no se sabe entre quiénes son dichas diferencias. Para ello se utiliza la prueba de Tukey, la cual permite precisar cuál es la población que difiere con respecto a las demás.

### 3.5.4 *Ji cuadrada*

Esta prueba, según Wonnacott y Wonnacott (1998) es muy popular y simple para realizar pruebas de hipótesis, se basa en la diferencia entre las frecuencias observada y esperada, es una medida global de desviación de la forma:

$$X^2 = \sum (O-E)^2 / E$$

Un valor grande de  $X^2$  indica una gran desviación con respecto a  $H_0$ , y por tanto poca credibilidad de  $H_0$ . Se considera que es una extensión de la prueba binomial por lo que en ocasiones se le denomina multinomial.

### 3.5.5 Regresión logística

Cuando se requiere determinar cómo una variable se relaciona con otras variables, de acuerdo con Wonnacott y Wonnacott (1998) se utiliza la regresión, en el caso más simple, en el que una variable  $Y$ , está relacionada mediante una línea recta con la variable  $X$ . La variable  $Y$  se denomina dependiente o respuesta y la variable  $X$  se denomina independiente, factor o regresor  $X$ .

El método de mínimos cuadrados permite conocer la pendiente de la recta que pasa por en medio de todos los puntos. Pero también se puede proceder al método de transformación de datos, mediante la aplicación de logaritmos. En el caso donde solo se transforma una variable se habla de transformación o regresión semilogaritmica o logística y se aplica principalmente cuando una de las variables es intervalar o nominal.

## IV. RESULTADOS

### 4.1 Estructura de Tamaños

La población local resultó ser bimodal, con modas de 20 y 25 cm, y mostró una distribución de tamaños aproximada a la normal o normal-truncada. Al dividir la población total en los cuatro sitios de muestreo, se observa que de las cuatro poblaciones locales; Lyell (1), Pedregal (2), Playa (3) y Laguna (4), en las poblaciones de continuo se detectaron varias modas, tres en Lyell y cuatro en el Pedregal, mientras que en las de fragmento sólo hay una moda.

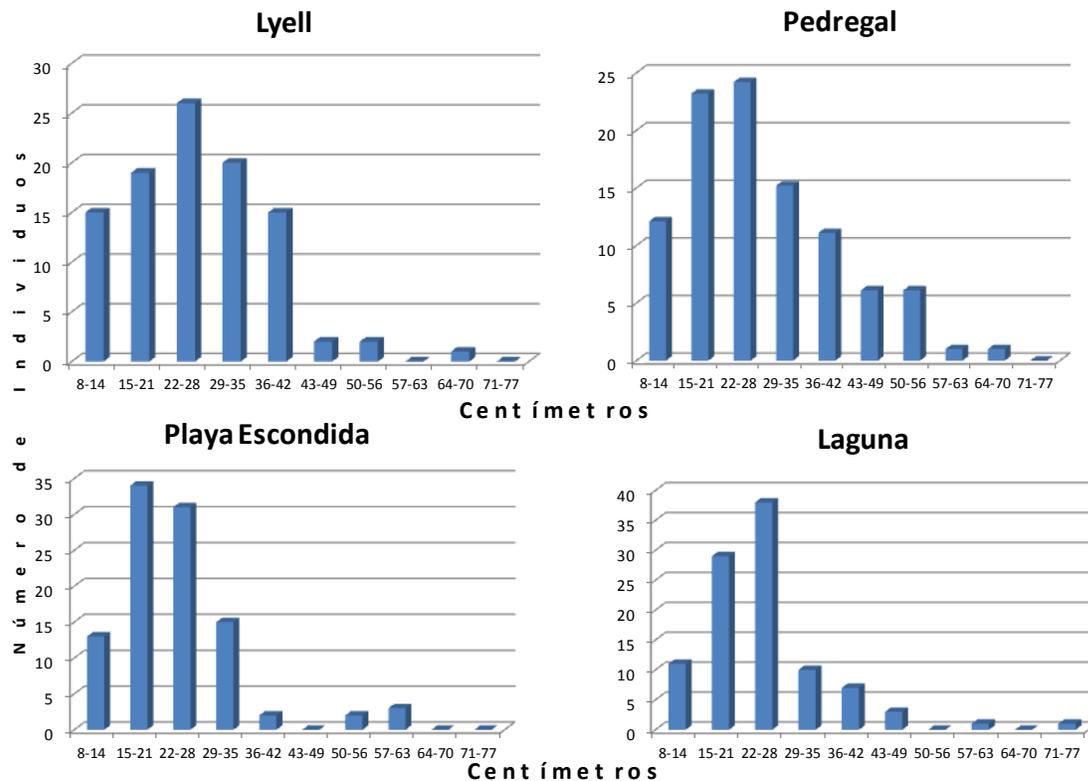


Figura 2. Estructura de tamaños en cuatro poblaciones de *A. aurantiaca* de la Estación de biología tropical Los Tuxtlas-UNAM. Datos de 5 al 10 de noviembre de 2001  $N = 399$ .

Las medidas estadísticas de los datos realizadas a partir del histograma de frecuencias de la estructura de tamaños en cada una de las muestras (Figura 2). Al realizar una prueba  $t$  para la estructura de tamaños en cada población, se encontró que las cuatro subpoblaciones muestran diferencias estadísticamente significativas en la estructura de tamaños (Lyell  $t = 25.28$ , g.l. = 99; Playa  $t = 24.18$ , g.l. = 99; Pedregal  $t = 21.7$ , g.l. = 98; Laguna  $t = 24.83$ , g.l. = 99;  $p < 0.001$  en todos los casos).

Se encontró un efecto marginalmente significativo en la estructura de tamaños de la *A. aurantiaca* (ANOVA de un factor:  $F=2.583$ , g.l. = 3, 395,  $p=0.053$ ); al comparar las medias entre cada población, la de bosque continuo cercana a la zona núcleo (Pedregal) fue significativamente más grande que la de Playa Escondida, correspondiente al bosque fragmentado (Tabla 2).

**Tabla 2**  
Estructura de tamaños de *A. aurantiaca* por tipo de población de la Estación de Biología Tropical “Los Tuxtlas” de la Universidad Nacional Autónoma de México. Datos de 5 al 10 de noviembre de 2001.

	N	Media	Desviación estándar	Error estándar	Intervalo de confianza para la media al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
Lyell	100	26.13	10.337	1.034	24.08	28.18
Playa	100	23.84	9.860	0.986	21.88	25.80
Pedregal	99	27.78	12.738	1.280	25.24	30.32
Laguna	100	24.64	9.923	0.992	22.67	26.61
Total	399	25.59	10.839	0.543	24.52	26.66

#### 4.2 Estructura de Edades

Al clasificar el tamaño de las poblaciones de acuerdo al número de inflorescencias se encontraron diferencias estadísticamente significativas para la población de continuo y fragmento ( $F= 7.342$ , g.l.= 3, 395 y  $p < 0.01$ ; ver Figura 3 y Tabla 2).

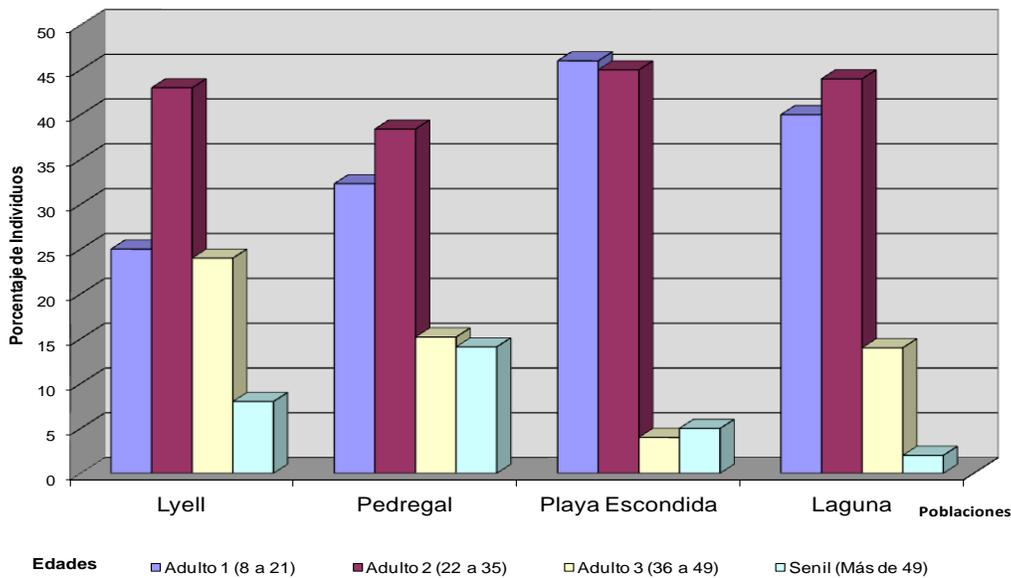


Figura 3. Estructura de edades en cuatro poblaciones de *A. aurantiaca* de la Estación de Biología Tropical “Los Tuxtlas” de la Universidad Nacional Autónoma de México. Datos de 5 al 10 de noviembre de 2001 N = 399.

Tabla 3  
Distribución de la edad de *A. aurantiaca* por tipo de población de la Estación de Biología Tropical “Los Tuxtlas” de la Universidad Nacional Autónoma de México.  
Datos de 5 al 10 de noviembre de 2001.

	N	Media	Desviación estándar	Error estándar	Intervalo de confianza para la media al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
Lyell	100	2.15	0.89	0.09	1.97	2.33
Playa	100	1.68	0.78	0.08	1.53	1.83
Pedregal	99	2.11	1.02	0.10	1.91	2.31
Laguna	100	1.78	0.76	0.08	1.63	1.93
Total	399	1.93	0.89	0.14	1.84	2.02

### 4.3 Estructura del Número de Hojas

Al analizar el promedio de hojas por hábitat se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre la media del bosque continuo y fragmento; 7.75 y 6.94, respectivamente (t de student para varianzas iguales = -2.72, gl =397 y p = 0.01; F de Leveane= 28.3 y p=0.00 ). Al comparar la media de las hojas por población; se observó que Lyell tiene en promedio 1.4 más hojas que Laguna (F=3.84, gl=398 y p= 0.01), en contraste, Pedregal y Playa Escondida presentaron un comportamiento similar en cuanto al número de hojas que presentan (Ver Figura 4).

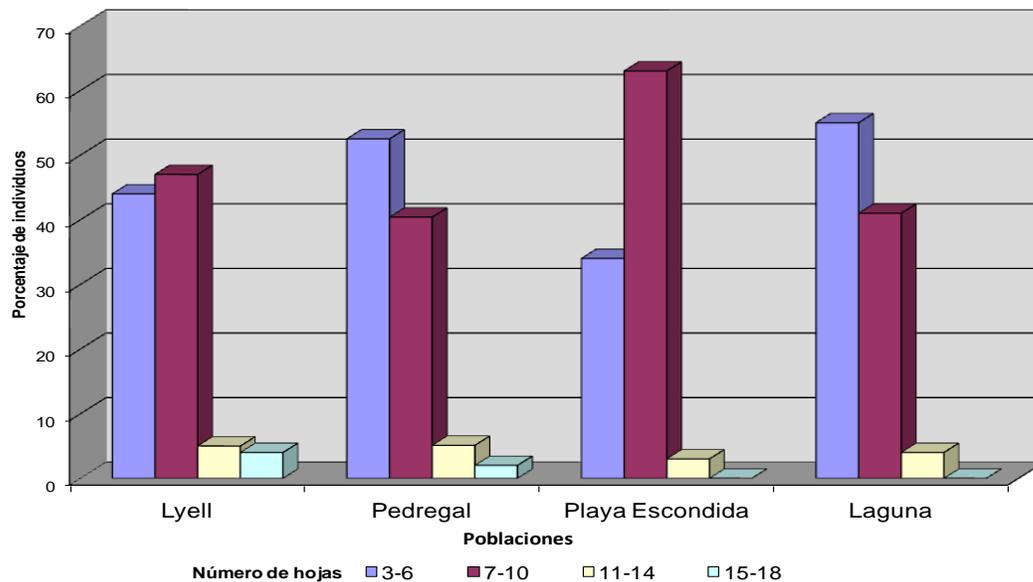


Figura 4. Estructura del número de hojas en cuatro poblaciones de *A. aurantiaca* de la Estación de biología tropical Los Tuxtlas-Universidad Nacional Autónoma de México. Datos de 5 al 10 de noviembre de 2001 N = 399.

#### 4.4 Estructura Reproductiva

Al momento del muestreo, la estructura reproductiva se dividió en cuatro estadios: vegetativo, prerreproductivo, reproductivo y posreproductivo, reconociéndose la existencia de al menos dos cohortes reproductivas, haciéndose más evidentes al dividir el ciclo reproductivo en sólo dos categorías, vegetativo y reproductivo para cada una de las muestras. Al comparar el estado reproductivo por tipo de bosque se encontró que en continuo sólo 34.7% de *A. aurantiaca* se encontraba en estado reproductivo al momento del muestreo; a diferencia del bosque fragmentado, en dónde 48% de la población se observó con presencia de inflorescencias ( $\chi^2 = 7.30$ ;  $gl=1$ ;  $p= 0.007$ ). Al analizar el estado reproductivo entre las poblaciones, en Playa Escondida la mayor parte de la población (53%) se encontraba en estado reproductivo; en contraste, en los dos de continuo Pedregal y Lyell, así como en la población del fragmento más grande, Laguna de 100 ha, predominó el estado vegetativo con proporciones de 60, 70 y 57, respectivamente ( $\chi^2 = 11.18$ ;  $gl=3$ ;  $p= 0.011$ ).

Se analizó el estado reproductivo por tipo de bosque y edad de la población de *A. aurantiaca*, se encontró que en el bosque continuo, más de la mitad de los adultos 3 (individuos entre 36 y 49 cm de altura con una reiteración; o bien, individuos entre 22 y 35 cm de altura con más de una reiteración) estaba en estado reproductivo (56.4%); y, la mitad de la población considerada como sénil por presentar más de 49 cm de altura y sin reiteraciones, o por medir 36 y 49 cm de altura con al menos una reiteración, tenían inflorescencias; a diferencia de los adultos 1 (individuos entre 8 y 21 cm de altura sin reiteraciones) y 2 (individuos entre 22 a 35 cm de altura sin reiteraciones, o entre 8 y 21 cm con al menos una reiteración) en quienes predominó el estado vegetativo en 84.2 y 66.7% de su población ( $\chi^2 = 19.45$ ;  $gl=3$   $p= 0.000$ ).

En contraste en el bosque fragmentado, en los adultos 3 y en los séniles predominó el estado reproductivo (55.6 y 57.1, respectivamente); mientras que en los adultos 1 y 2 predominó el estado vegetativo (51.2 y 55.1%, respectivamente); sin embargo, estas diferencias no fueron estadísticamente significativas ( $\chi^2 = 1.003$ ;  $gl=3$   $p= 0.800$ ); lo cual indica que para la población de fragmentos el estado reproductivo es independiente de la altura y las reiteraciones de *A. aurantiaca*.

La regresión logística mostró que los individuos del bosque continuo tiene 56% más probabilidad de reproducirse que los de fragmento ( $p=0.007$ ; IC 95% 0.38-0.86). Esto significa que el estado reproductivo difiere significativamente entre tipos de hábitats, sin diferir entre los sitios al interior de cada uno de éstos.

#### 4.5 Actividad Enzimática

Se detectó actividad para seis enzimas súper oxido dismutasa (SOD), fosfatasa anódica (APX), fosfatasa catiónica (CPX), nicotin adenin dinucleótido (NADHDH), enzima málica (ME) y ribulosa 1-5 difosfato (RUB) con un total de 15 alelos en 10 *loci*; de los cuales seis fueron fijos. De las cuatro enzimas con *locus* variables, se resolvieron nueve alelos; tres para CPX y dos para las demás (SOD, APX y NADHDH). Otras isoenzimas para las que se obtuvo actividad, pero sin definición fueron: fosfogliceraldehído isocitrato (PGI), manosa reductasa (MNR), esterasa (EST) y diaforasa (DIA). Los datos sobre los sistemas de corrimiento utilizados en las enzimas de *Aphelandra aurantiaca* se resumen en la Tabla 4. Mostrándose una baja actividad probablemente debida a la alta concentración de alcaloides poliamida y otros compuestos del tipo de las esperminas y aphelandrinas, que podrían estar interfiriendo en la extracción de las enzimas, presipitandolas o bloqueando el sitio activo de las proteínas que se probaros para corrimiento por electroforesis.

Tabla 4

Sistemas probados para la extracción de isoenzimas en las cuatro poblaciones de *A. aurantiaca* en la Estación de biología tropical Los Tuxtlas de la Universidad Nacional Autónoma de México.  
Datos de Mayo a noviembre de 2006  $N= 399$ .

Sistema	CPX	APX	MNR	SOD	GDH	ME	ACPH	PGI	NADHDH	EST	DIA
Mitton pH 7.0 - 7.1	0	0	X	1	0	1	0		1	0	X
Tris-Citrato pH 8.5 - 8.6	1	1	0	1	1	0	1	X	0	X	0
Morfolina pH 6.1	0	0	X	1	0	0	1	0	0	0	1
Poulick pH 8.1 - 8.6	1	1	0	1	0	0	1		1	0	0
Stubert pH 6.5	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0

Nota: 0, sin actividad; 1 con actividad y X muy baja actividad

#### 4.5 Diversidad genética

Se describió la diversidad genética por medio del número y frecuencia de electromorfos de aloenzimas e isoenzimas con variación. El polimorfismo (%) para loci cuya frecuencia del alelo más frecuente es  $\leq 0.99$  fue de 80% y cuando es  $\leq 0.95$  fue de 40%. (Tablas 5 y 6).

Tabla 5

Frecuencias alélicas de las cuatro poblaciones locales “Los Tuxtlas” EBT-UNAM sólo para los *loci* polimórficos, SOD, APX, CPX y NADHDH para *A. aurantiaca* en la Estación de biología tropical Los Tuxtlas de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Datos de mayo a noviembre de 2006 *N*= 399.

	SOD		APX		CPX			NADHDH	
	1	2	1	2	1	2	3	1	2
<b>Población Total</b>	186	608	116	678	104	685	5	158	636
<b>Población Cont.</b>	71	323	53	341	40	349	5	81	313
<b>Población Frag.</b>	115	285	63	337	64	336	0	77	323
Lyell (C 1)	42	158	28	172	24	175	1	39	161
Pedregal (C 2)	29	165	25	169	16	174	4	42	152
Playa (F 1)	55	145	29	171	30	170	0	37	163
Ruiz Cort (F 2)	60	140	34	166	34	166	0	40	160

Tabla 6

Diversidad genética de las cuatro muestras de la población local “Los Tuxtlas” EBT-UNAM sólo para los *loci* polimórficos, SOD, APX, CPX y NADHDH para *A. aurantiaca* en la Estación de biología tropical Los Tuxtlas de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Datos de mayo a noviembre de 2006 *N*= 399.

Muestras de la Población Local	Tamaño prom. de la muestra	Nº prom. de alelos por locus.	% de loci polimórficos (0.99)(0.95)		Heterocigosis Observada (HO)	Heterocigosis Esperada (HE)
Continuo	197	1.75	60	40	0.1147	0.1123
Fragmento	200	1.65	40	40	0.1135	0.1258
Lyell (C 1)	97.5	1.75	80	40	0.1461	0.1107
Pedregal (C 2)	96.8	1.75	80	40	0.1451	0.1105
Playa (F 1)	98.1	1.625	80	40	0.1483	0.1121
Ruiz Cort (F 2)	97.3	1.625	80	40	0.1536	0.1141

La heterocigosis por *locus* y por sitio de muestreo, en cada subpoblación de continuo y de fragmento, indica que los valores de heterocigosis promedio en fragmentos son ligeramente mayores que el bosque continuo, así como que el locus 1 de NADHDH, presenta los menores valores, excepto CPX en Continuo 2. Siendo SOD el locus con mayor Heterocigosis y NADHDH en de menor (Tabla 7).

Tabla 7

*Locus*, alelos y número efectivo de alelos por *locus* en cada población de *A. aurantiaca* en la Estación de biología tropical Los Tuxtlas de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Datos de mayo a noviembre de 2006  $N = 399$ .

	SOD	NADHDH	CPX	APX	Total
Locus	1	2	2	1	6
Alelos	2	3	3	2	10
$N_1$ (Lyell)	2	1.5	1.5	2	7
$N_2$ (Pedregal)	2	1.5	1.5	2	7
$N_3$ (Playa)	2	1.5	1	2	6.5
$N_4$ (Ruiz C.)	2	1.5	1	2	6.5
$N_z$ promedio	2	1.5	1.25	2	6.75

La heterocigosis promedio de la población local de *A. aurantiaca* es baja y al dividirla según el tipo de ambiente, continuo o fragmentado, se aprecia que los valores de heterocigosis promedio en fragmento son ligeramente mayores que en continuo, así como que el locus 1 de NADHDH y APX son menores en fragmento, mientras que en SOD y CPX son menores en continuo (Tablas 8 y 9).

Tabla 8

Heterocigosis total y por ambiente en poblaciones de *A. aurantiaca* localizadas en ambiente fragmentado y en continuo de *A. aurantiaca* en la Estación de biología tropical Los Tuxtlas de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Datos de mayo a noviembre de 2006.  $N = 399$ .

Población	Estimadores	SOD	NADHDH	CPX	APX	Todos
Total	(H-W)	0.3096	0.1925	0.2120	0.2875	0.1121
Continuo	(H-W)	0.2789	0.1989	0.1978	0.3119	0.1108
Fragmento	(H-W)	0.3399	0.1859	0.2255	0.2612	0.1131
Promedio	(H-W)	0.3094	0.1924	0.21165	0.28655	

Tabla 9

Heterocigosidad por *locus* y por población en ambiente fragmentado y en continuo de *A. aurantiaca* en la Estación de biología tropical Los Tuxtlas de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Datos de mayo a noviembre de 2006.  $N = 399$ .

Ambiente	Muestra	Estimador	SOD	NADHDH	CPX	APX	Poblas
Continuo	Lyell (C1)	(H-W)	0.3023	0.1866	0.2065	0.2934	0.1107
	Pedregal (C2)	(H-W)	0.2543	0.2109	0.1883	0.3299	0.1105
Fragmento	Playa (F1)	(H-W)	0.3341	0.1948	0.2168	0.2565	0.1121
	R. Cort. (F2)	(H-W)	0.3457	0.1765	0.2342	0.2659	0.1141
	Promedio por <i>Locus</i>	(H-W)	0.3091	0.192175	0.21145	0.28642	

Al dividir las muestras de ambiente continuo y fragmentado en dos categorías: reproductivos y vegetativos como descriptores de las cohortes reproductivas temprana y tardía que se reconocen en la fenología reproductiva, se observa que, a excepción de la muestra de continuo 1 (Lyell), en el resto de las muestras la heterocigosis promedio fue mayor en las cohortes vegetativas. La heterocigosis por *locus* sólo fue mayor en la cohorte reproductiva para el *locus* NADHDH en el fragmento 1 (Playa escondida) y en el *locus* APX en el fragmento 2 (Ruiz Cortines). La heterocigosis promedio por *locus* fue menor en NADHDH y mayor en SOD (Tabla 10).

Tabla 10

Heterocigosis por *locus* en cada cohorte reproductiva temprana (reproductiva) y tardía (vegetativa) de cada muestra por subpoblación en ambiente fragmentado y en continuo de *A. aurantiaca* en la Estación de biología tropical Los Tuxtlas de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Datos de mayo a noviembre de 2006 *N* = 399.

Pob	Subpob	Subsub	Heteroci	SOD	NADHDH	CPX	APX	Pr. Pob
Continuo	Lyell	Repro	(H-W)	0.3074	0.2122	0.2550	0.2854	<b>0.1060</b>
		Veget	(H-W)	0.3001	0.1752	0.1837	0.2967	<b>0.0956</b>
	Pedre	Repro	(H-W)	0.1884	0.2088	0.1485	0.2717	<b>0.0817</b>
		Veget	(H-W)	0.2926	0.2122	0.2110	0.3620	<b>0.1078</b>
Fragmento	Playa	Repro	(H-W)	0.3694	0.2076	0.1609	0.2550	<b>0.0993</b>
		Veget	(H-W)	0.2963	0.1800	0.2729	0.2580	<b>0.1007</b>
	R. C.	Repro	(H-W)	0.3409	0.1200	0.1761	0.2880	<b>0.0925</b>
		Veget	(H-W)	0.3493	0.2152	0.2737	0.2469	<b>0.1085</b>
Promedio por locus			(H-W)	<b>0.3055</b>	<b>0.1914</b>	<b>0.2122</b>	<b>0.2829</b>	

#### 4.6 Distancia Genética

Las distancias (=identidades genéticas) promedio entre todos los pares de muestras de la población fue de 0.5 ( $\pm$  error estándar 0.104, *n* = 6 pares). Esto sugiere que los sitios de fragmento son más cercanos al sitio 1 en el interior de la EBT sin importar la distancia geográfica. Las muestras de fragmento, por su parte, presentan mayor distancia genética entre sí, mientras que las dos de continuo presentan las menores distancias entre sí, junto con el par de F1-C2 (playa-pedregal) (Tabla 11), mostrando una clara jerarquía entre fragmentos y continuo (Figura 6).

Tabla 11

Identities/Distancia de Nei (1972-1978) en cuatro poblaciones dos en ambiente fragmentado y dos en continuo de *A. aurantiaca* en la Estación de biología tropical Los Tuxtlas de la Universidad Nacional Autónoma de México. Datos de julio de 2010  $N = 399$ .

1-1 vs. 1-2	0.0003	0.9997	-0.0003	1.0003
1-1 vs. 2-1	0.0002	0.9998	-0.0005	1.0005
1-1 vs. 2-2	0.0003	0.9997	-0.0004	1.0004
1-2 vs. 2-1	0.0010	0.9990	0.0003	0.9997
1-2 vs. 2-2	0.0012	0.9988	0.0005	0.9995
2-1 vs. 2-2	0.0000	1.0000	-0.0006	1.0006

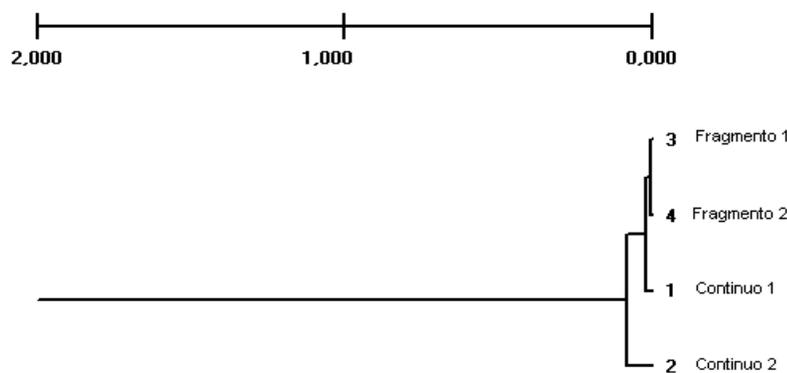


Figura 6. Distancias (identidades genéticas entre fragmentos) en la EBT-UNAM, sin considerar la distancia geográfica en cuatro poblaciones dos en ambiente fragmentado y dos en continuo de *A. aurantiaca* en la Estación de biología tropical Los Tuxtlas de la Universidad Nacional Autónoma de México. Datos de julio de 2010  $N = 399$ .

Al considerar la sub-estructuración de los sitios de muestreo, en reproductivos (tempranos) y vegetativos (tardíos), la distancia genética promedio fue de 0.509 ( $\pm$  error estándar 0.05;  $n = 27$  pares). Las mayores distancias son principalmente entre pares de distinto tipo de hábitat (Continuo-Fragmento) y las menores distancias son principalmente entre pares del mismo tipo de hábitat (Fragmento-Fragmento o Continuo-Continuo). En las cohortes reproductivas no hay una tendencia apreciable, sólo en C1R-C2R (Lyell Reproductivo-Pedregal Reproductivo) se detectó una baja diferenciación y en F1V-F2V se detectó una distancia intermedia (Tabla 12). Es decir, a escala local no se detecta estructura evidente, particularmente porque las dos cohortes de Continuo 1 (Lyell) se agrupan por debajo de las cohortes de fragmento, mientras que las cohortes de fragmentos están agrupadas por cohorte, las de C1 están en cohortes contrarias (Fig. 7).

Tabla 12

Identidades/Distancia de Nei (1972-1978) en ocho subpoblaciones dcuatro en ambiente continuo y cuatro en continuo de *A. aurantiaca* en la Estación de biología tropical Los Tuxtlas de la Univertsidad Nacional Autonoma de México.

Datos de julio de 2010 N= 399.

1-1-1 vs. 1-1-2	0.0004	0.9996	-0.0011	1.0011
1-1-1 vs. 1-2-1	0.0017	0.9983	0.0001	0.9999
1-1-1 vs. 1-2-2	0.0006	0.9994	-0.0009	1.0009
1-1-1 vs. 2-1-1	0.0008	0.9992	-0.0008	1.0008
1-1-1 vs. 2-1-2	0.0001	0.9999	-0.0015	1.0015
1-1-1 vs. 2-2-1	0.0007	0.9993	-0.0009	1.0009
1-1-1 vs. 2-2-2	0.0003	0.9997	-0.0014	1.0014
1-1-2 vs. 1-2-1	0.0010	0.9990	0.0000	1.0000
1-1-2 vs. 1-2-2	0.0004	0.9996	-0.0005	1.0005
1-1-2 vs. 2-1-1	0.0006	0.9994	-0.0004	1.0004
1-1-2 vs. 2-1-2	0.0006	0.9994	-0.0004	1.0004
1-1-2 vs. 2-2-1	0.0003	0.9997	-0.0008	1.0008
1-1-2 vs. 2-2-2	0.0009	0.9991	-0.0001	1.0001
1-2-1 vs. 1-2-2	0.0015	0.9985	0.0004	0.9996
1-2-1 vs. 2-1-1	0.0023	0.9977	0.0011	0.9989
1-2-1 vs. 2-1-2	0.0019	0.9981	0.0007	0.9993
1-2-1 vs. 2-2-1	0.0020	0.9981	0.0007	0.9993
1-2-1 vs. 2-2-2	0.0029	0.9971	0.0017	0.9983
1-2-2 vs. 2-1-1	0.0014	0.9986	0.0003	0.9997
1-2-2 vs. 2-1-2	0.0011	0.9989	0.0000	1.0000
1-2-2 vs. 2-2-2	0.0015	0.9985	0.0004	0.9996
2-1-1 vs. 2-1-2	0.0011	0.9989	-0.0009	1.9989
2-1-1 vs. 2-2-1	0.0005	0.9995	-0.0007	1.0007
2-1-1 vs. 2-2-2	0.0007	0.9993	-0.0005	1.0005
2-1-2 vs. 2-2-1	0.0008	0.9992	-0.0004	1.0004
2-1-2 vs. 2-2-2	0.0003	0.9997	-0.0009	1.0009
2-2-1 vs. 2-2-2	0.0009	0.9991	-0.0003	1.0003

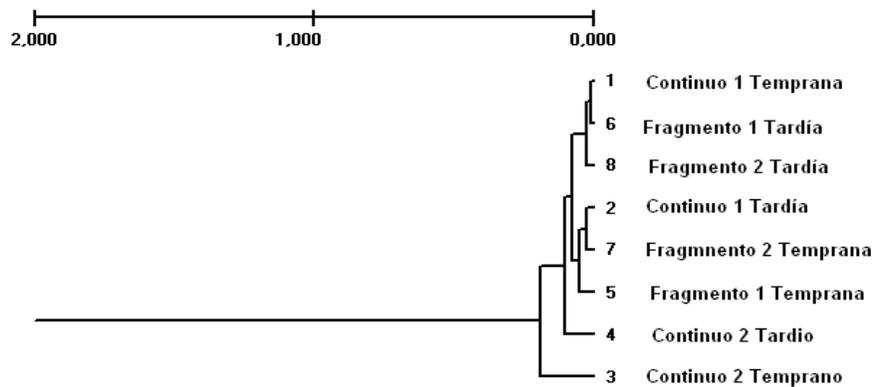


Figura 7: La Distancia/Identidad genética al considerar la sub-estructuración de los sitios de muestreo, en reproductivos (tempranos) y vegetativos (tardíos) en ocho subpoblaciones cuatro en ambiente fragmentado temprana y cuatro en continuo de *A. aurantiaca* en la Estación de biología tropical Los Tuxtlas de la Universidad Nacional Autonoma de México. Datos de julio de 2010 N = 399.

#### 4.7 Estadísticos F de Wright

El análisis de estadísticos *F* de Wright ( $F_{is}$ ,  $F_{it}$  y  $F_{st}$ ), entre hábitats, continuo y fragmento, evidenció que hay un exceso de heterocigotos, pues los valores de  $F_{IT}$  y  $f$  fueron negativos; asimismo, los loci SOD-1 y NADHDH-1 presentan valores que exceden el intervalo de confianza del 95%, en tanto que NADHDH-1 sólo lo registró entre subpoblaciones (Tabla 13). Por otra parte, al realizar el análisis de estadísticos *F* de Wright, así como al calcular el índice de fijación (*F*) entre las cohortes reproductivas de cada muestra en los dos tipos de hábitat, el locus SOD-1 mostró valores que exceden el intervalo de confianza del 95% exceptuando en valor entre cohortes el cual fue mayor en CPX-1 y menor en NADHDH (Tabla 14).

Tabla 13

Estadísticos F de Wright (*F*,  $\theta$  y *f*) derivados del análisis genético de cuatro poblaciones de *A. aurantiaca* considerando el efecto del tipo de ambiente y las muestras en la Estación de biología tropical Los Tuxtlas, de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Datos de julio de 2010 *N* = 399.

Locus	<i>F</i>	$\theta_{\text{mues dentro de subp}}$	$\theta_{\text{entre subp}}$	<i>f</i>
SOD	-0.2320	0.0067	0.0050	-0.2382
NADHDH	-0.1207	0.0001	-0.0038	-0.1165
CPX	-0.1258	0.0002	0.0015	-0.1322
APX	-0.2075	0.0020	0.0044	-0.2099
Media(JCKNFN)	-0.0864	0.0006	0.0037	-0.0869
Desviación Estándar	0.1016	0.0021	0.0014	0.1032
Intervalo de Confianza al 95%	-0.1665-0.3075	-0.0058-0.0028	0.0006-0.0054	-0.1678-0.3118

Tabla 14

Estadísticos derivados del análisis genético de cuatro muestras de *A. aurantiaca* en la considerando el efecto de la muestra y la cohorte reproductiva en la Estación de biología tropical Los Tuxtlas, de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Datos de julio de 2010 *N* = 399.

Locus	<i>F</i>	$\theta_{\text{entre subp}}$	$\theta_{\text{mues dentro de subp}}$	$\theta_{\text{entre cohortes}}$	<i>f</i>
SOD	-0.2317	0.0065	0.0056	0.0049	-0.2378
NADHDH	-0.1205	-0.0004	-0.0013	-0.0057	-0.1142
CPX	-0.1243	0.0016	-0.0038	0.0064	-0.1316
APX	-0.2073	0.0043	0.0036	0.0007	-0.2082
Media (JNFG)	-0.1845	0.0037	0.0020	0.0021	-0.1870
Desviación Estándar	0.0311	0.0016	0.0024	0.0025	0.0323
Intervalo de Confianza al 95%	-0.2259 a -0.1218	0.0003 a 0.0060	-0.0032 a 0.0051	-0.0029 a 0.0059	-0.2308 a -0.1203

El análisis de estadísticos  $F$  indica que no hay endogamia local, mientras que la divergencia genética es muy baja tanto entre hábitats. Al considerar la subestructuración de los sitios de muestreo en tempranos y tardíos, se detectó también una baja diferenciación sin importar el nivel de estructuración; es decir, en la escala muestreada no se detecta estructura.

#### 4.8 Flujo Génico

La estimación indirecta del flujo génico entre todas las muestras mostró un valor moderadamente elevado (1.97). Estimaciones independientes para las muestras y para las cohortes mostraron que los valores de  $Nm$  promedio fueron menores entre muestras que entre cohortes (1.855 y 2.085, respectivamente). Mientras que el valor de  $Nm$  por locus para SOD-1 es menor entre muestras que entre cohortes, contrario lo que sucede, aunque de menor magnitud, es en el locus CPX-1 (Tabla 15).

Tabla 15

Estimación del flujo génico ( $Nm$ ) entre las cuatro muestras de *A. aurantiaca*, considerando el efecto de la muestra y la cohorte reproductiva en la Estación de biología tropical Los Tuxtlas, de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Datos de julio de 2010.  $N = 399$ .

Locus	$Nm$ entre muestras por ambiente	$Nm$ entre cohortes reproductivas por muestra	Promedio
SOD-1	1.33	2.32	1.82
NADHDH-1	2.32	2.32	2.32
CPX-1	2.32	2.25	2.28
APX-1	1.45	1.45	1.45
Promedio	1.86	2.08	1.97

El flujo génico entre muestras de cada ambiente y entre cohortes siguió parcialmente lo esperado según un modelo de aislamiento por distancia, pero los niveles de flujo génico son mayores entre cohortes que entre muestras (es decir, que hay mayor intercambio de genes entre cohortes del mismo sitio que entre sitios diferentes). Asimismo, los valores son los suficientemente altos como para evitar la deriva génica.

## V. DISCUSIÓN

Este estudio demostró que no existe diferenciación genética entre las poblaciones de *A. aurantiaca* de la selva continua y de los fragmentos. Asimismo, no se detectó endogamia y el nivel de flujo génico es lo suficientemente alto para evitar la deriva génica. No obstante, se encontraron diferencias en la estructura poblacional entre hábitats; lo que podría indicar un efecto demográfico en respuesta a los cambios en el ambiente.

La forma truncada de la distribución (Figura 2) podría ser el resultado de la tasa de sobrevivencia que se comporta como una función semilogarítmica (Calvo-Irabien, 1997b). Sin embargo, el hecho de que la población sea bimodal, es decir que presenta dos modas, dado el tamaño de la  $n$  es estadísticamente grande, podría ser interpretado como la mezcla de dos poblaciones de datos. Esto, demográfica y estadísticamente, podría reforzar la idea de una estructura demográfica regida por la fenología. Es decir que el momento en que se da la floración y desde el momento en que abren y se activan las flores de un individuo, ya sea en los fragmentos o en el continuo, el individuo tiene un tiempo límite para permanecer receptivo, dado por la cantidad de flores e inflorescencias. Suponiendo que el principal polinizador puede visitar a todas las plantas en un día en un momento dado del tiempo de floración y no conservan polen de un día para otro. Se podría suponer que existen individuos que pueden estar muy cercanos en el espacio, pueden estar separados en el tiempo, dado el momento en el que las flores de sus inflorescencias se encuentran receptivas. Lo que permitiría dividir a la población en cohortes reproductivas que brindan un nuevo nivel de análisis a escala de ambiente.

De tal modo que puede darse la situación de pulsos de floración separados en el tiempo, bien definidos o la situación de pulsos que se superponen y que entonces podrían conformar una sola población, pudiendo encontrarnos ante un ejemplo de metapoblación en un lado o del otro lado en una dinámica poblacional clásica.

La diferencia en modas de las alturas entre poblaciones de continuo y de fragmentos señala una diferencia estadística notable entre el tipo de sitio, lo cual demográficamente puede ser interpretado como evidencia de diferencias significativas entre las alturas de las poblaciones de continuo respecto a las de fragmento.

Estudios previos llevados a cabo en bosque con distintos grados de regeneración, pero sin considerar la fragmentación, reportan la presencia de individuos de mayor tamaño en bosque conservado (Calvo-Irabién, 1989); esto coincide con los resultados de la presente investigación, al encontrarse individuos de mayor tamaño en el bosque de continuo; sin embargo, en los fragmentos la relación de la altura con el número de hojas fue mayor, es decir que tienen más hojas por centímetro que incrementa la altura. Esto indica indirectamente un incremento en las tasas metabólicas debido probablemente al aumento en la cantidad de luz directa que llega al sotobosque en el ambiente fragmentado. Esta modificación de la tasa de desarrollo podría alterar el desfase entre las cohortes reproductivas, reduciendo la probabilidad de reproducción de los individuos en los fragmentos, pues se reduciría el número de individuos que se reproducen al mismo tiempo.

El cambio en la estructura de tamaños y edades tiende a la distribución normal en ambiente continuo (Figuras 3), mientras que en fragmentos pequeños ( $\leq 100$  ha) está dominada por plantas de tallas menores, es decir, en fragmentos pequeños hay una mayor cantidad de adultos jóvenes, mientras hay una mayor frecuencia de adultos seniles y seniles en continuo. Lo anterior probablemente se debe al incremento en la reproducción sexual (Calvo-Irabién, 1997b) debido al aumento en la cantidad de luz disponible en el sotobosque, al hacer más vistosas las inflorescencias incrementando así el número de visitas de polinizadores potenciales; lo cual podría compensar el menor número de individuos reproduciéndose al mismo tiempo.

Las distancias genéticas entre las muestras, permite reconocer que la muestra 2 de bosque continuo (Pedregal), que se encuentra más cerca de la zona núcleo, también es la que se encuentra en la base del diagrama de árbol; luego la muestra 1 de continuo (Lyell) y al final las dos muestras de fragmento (Ruiz Cortines y Playa Escondida). Es decir, la muestra 2 de

continuo es la más parecidas a las condiciones previas a la fragmentación, lo cual coincide con su ubicación geográfica, pues está más cercana a la zona núcleo en el Volcán de San Martín y coincide con la suposición que se hizo sobre las poblaciones de la estación podrían ser una representación de las condiciones previas a la fragmentación.

Es así que se reporta que después de 50 años de iniciado el proceso de fragmentación intensiva, la presencia de *A. aurantiaca* en fragmentos pequeños (<40 ha) es de solo el 33%, tal ausencia (66%) podría relacionarse con el modelo de interacción planta-polinizador propuesto por Lundberg e Ingvarsson (1998), que plantea que hay un umbral en el tamaño de las poblaciones para que se dé su extinción. Debido a que las poblaciones de los fragmentos son más propensas a la extinción, independientemente si son especies raras o comunes (Honnay y Jacquemyn, 2007).

En cuanto al dilema que es a menudo referido como SLoSS (Single Large or Several Small), en donde se supone que hay una cantidad limitada de recursos disponibles para la conservación, por lo que es preferible proteger los fragmentos de hábitats pequeños y aislados o proteger el mayor tamaño posible de hábitat continuo. Sin lugar a dudas la mejor solución depende de la especie o el ecosistema particular que se considere. En el caso particular de *A. aurantiaca* la decisión parece inclinarse en favor de un solo y gran hábitat continuo; basado en la ausencia de la especie en los fragmentos pequeños y alejados de la zona núcleo de la EBT Los Tuxtlas-UNAM y su permanencia en el fragmento pequeño y cercano a los terrenos de la Estación. Lo que además ilustra el efecto multiplicativo de la fragmentación, pues no solo es la reducción del ambiente lo que afecta a la especie, sino también el aislamiento de los fragmentos, que al superar la capacidad de dispersión de los vectores de dispersión (polen y semilla), condena a la extinción a las poblaciones remanentes de los fragmentos aislados.

La falta de diferenciación genética y las tasas de migración calculadas para *A. aurantiaca* podría explicarse como derivado del comportamiento de su principal vector de flujo de polen, el colibrí *P. superciliosus*, aunque el hábitat común de este colibrí es el interior del bosque, los estudios disponibles sugieren que éstos presentan una alta permeabilidad (Borgella *et al.*, 2001), por lo que se esperaría que el flujo génico se mantenga en las

condiciones previas a la fragmentación o incluso que se hayan incrementado, como en otros casos (Newman y Tallmon, 2001). Sin embargo, es claro que en el marco de la fragmentación, con la reducción y el aislamiento actuando en conjunto sobre la población, el efecto es mayor en especies de entrecruza obligada y mixta, al depender de forma relativa de la capacidad de movimiento del polinizador o del dispersor, que en las especies auto compatibles (Honnay y Jacquemyn, 2007). Aunque hay una especie tropical y polinizada por colibríes, *Heliconia acuminata* que parece no ser afectada por la reducción ni el aislamiento (Bruna y Kress, 2002).

La heterocigosis esperada, mayor a la observada en el ambiente de fragmento, puede interpretarse como un claro efecto de la fragmentación, indicando que la reproducción no es al azar, manifestándose como un exceso de homocigotos. De la misma forma que en *Scutellaria montana*, una Lamiaceae de ambiente templado (Cruzan, 2001). Sin embargo al analizar las muestras de fragmento por separado el efecto se diluye.

Aunque para los análisis de  $F$  de Wrigth finales sólo se analizaron los *loci* de APX y CPX los resultados son ilustrativos de los efectos nulos de la fragmentación, en las medidas de diferenciación. Coincidiendo en la tendencia con el estudio de Cole (2003) con 274 especies. Sin embargo, mientras la población total pareciera estar en equilibrio cuando se analiza su distribución en cada una de las subpoblaciones considerando el estado reproductivo, es decir subdividiendo la población en el tiempo, se evidencia la alteración en el flujo génico.

Aunque se supone que los efectos de la Fragmentación deberían ser más evidentes en ambientes tropicales, debido a que interactúan con una mayor cantidad de especies que en otros ecosistemas. Sin embargo los resultados no son concluyentes, respondiendo más bien a las características particulares de la especie en la que se enfocan los estudios, como por ejemplo el sistema reproductivo.

## VI. CONCLUSIONES

La fragmentación es un conjunto de alteraciones en el tiempo y el espacio de los procesos ecológicos y constituye una presión evolutiva capaz de modificar las dinámicas demográficas y ecológicas que impactan en las frecuencias alélicas de las poblaciones de *A. aurantiaca* en los fragmentos de la EBT Los Tuxtlas.

La presencia de *A. aurantiaca* de 1/3 en fragmentos cercanos a la zona núcleo menores a 40 ha. demuestra que es una especie interior; es decir, es una especie que requiere un mínimo de hábitat disponible o su tamaño poblacional se reduce y, en consecuencia, tiende a extinguirse.

*A. aurantiaca* durante la época de floración experimenta un desfase en la población que permite identificar al menos dos grupos de plantas: las tempranas, (es decir, plantas que a la mitad del periodo de floración, principios de noviembre, están en el término de la fenología) y tardías (plantas que en este mismo periodo se encuentra en estado vegetativo o apenas con el primordio de la inflorescencia).

Los resultados demográficos indican un efecto debido a la fragmentación del hábitat, manifestado como modificación en la estructura reproductiva o fenológica. Ésta puede estar relacionada con un aumento en la disponibilidad de luz en los fragmentos, homogenizando el ambiente y modificando la tasa de desarrollo, con lo cual se reduce el desfase entre las cohortes. Debido a esto, hay un aumento en el número de individuos que se reproducen al mismo tiempo, por lo que se incrementa la probabilidad de reproducción de los individuos en los fragmentos. Este efecto demográfico no se refleja claramente en la estructura genética de todos los *loci*, pues entre muestras fue semejante, pero entre cohortes reproductivas y vegetativas en el *locus* APX es evidente la pérdida o muy baja frecuencia de un alelo en las cohortes tardías (vegetativas) de fragmento, y en la cohorte reproductiva (temprana) de la muestra 1 de continuo. Por su parte, la heterocigosis promedio resultó ser baja, al igual que la diferenciación genética, lo cual es debido probablemente al relativamente alto flujo génico.

## VII. LITERATURA CITADA

- Aizen M.A. y P. Feinsinger. 1994. Forest fragmentation, polination, and plant reproduction in dry forest, Argentina. *Ecology* 75(2): pp. 330-351
- Acquaah G. 1992. *Practical Protein Electrophoresis for Genetic Research*. Discorides Press. Portland. 127 p.
- Armbruster P. y D.H. Reed. 2005. Inbreeding Depression in Benign and Stressful environments. *Heredity*. 95(3): pp. 235-242
- Arulsekar S. y D. E. Parfitt. 1986. Isozyme analysis procedures for stone fruits, almond, grape, walnut, pistachio, and fig. *Hort Science*. 21:4; pp. 928-933
- Boege E. y H. Rodríguez. 1992. Introducción E. Boege y H. Rodríguez (Eds.). *Desarrollo y Medio Ambiente en Veracruz*. Fundación Friedrich, Instituto de Ecología, Veracruz y Centro de Investigaciones y Estudios Superiores en Antropología Social, México, p. 303
- Borgella Jr. R., A.A. Show y T.A. Gavin. 2001. Species Richness and Pollen Loads of Hummingbirds Using Forest Fragments in Southern Costa Rica. *Biotropica*. 33(1): pp. 90-109
- Bruna E.M. 1999. Seed germination in rainforest fragments. *Nature*. 402; p. 139
- Bruna E.M. y W.J. Kress. 2002. Habitat Fragmentation and the Demographic Structure of an Amazonian Understory Herb (*Heliconia acuminata*). *Conservation Biology*. 16 (5): pp. 1256-1266
- Calvo-Irabién L. M. 1989. Demografía y Dinámica Poblacional de *Aphelandra aurantiaca* en la Selva Alta Perennifolia de Los Tuxtlas, Ver. Tesis profesional. *Universidad Nacional Autónoma de México*, México, D.F.
- 1997a. *Aphelandra aurantiaca*. E. González-Soriano, R. Dirzo and R. C. Vogt (eds.). *Historia Natural de los Tuxtlas*, UNAM-CONABIO, México, D.F. pp. 89-92
- 1997b. Spatial and Temporal Variation of Light in the understory of a tropical rain forest in Veracruz, Mexico. Ver. Tesis doctoral. *Universidad Nacional Autónoma de México*, México, D.F.
- Calvo-Irabién L. M. y A. Islas-Luna. 1999. Predispersal Predation of an Understory Rainforest Herb *Aphelandra aurantiaca* (Acanthaceae) in Gaps and Mature Forest. *American Journal of Botany*. 86(8); pp. 1108-1113
- Cano S.Z. 2002. *Como escribir una tesis: pequeño manual de reglas básicas*. Ciencias FC-UNAM 65 Enero-Marzo. 68-75
- Charlesworth D. y J.R. Pannell. 2001. Mating system and population structure in the light of coalescence theory. J. Silvertown y J. Antonovics (eds.). *Integrating Ecology and Evolution in a Spatial Context*. Blackwell Scientific, Londres, pp. 73-95
- Cheliak W. M. y J. A. Pitel. 1984. *Techniques for Starch Gel Electrophoresis of Enzymes from Forest Tree Species*. Canadian Forestry Institute, Toronto, 49 p.
- Clarke G. M. y A. G. Young. 2000. Introduction: genetics, demography and the conservation of fragmented populations. A.G. Young y G. M. Clarke (eds.). *Genetics, Demography and Viability of Fragmented Populations*. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 1-8
- Cole T.C. 2003. Genetic Variation in Rare and Common Plants. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematic*. 34: pp. 213-237
- Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (Conabio). 2008. Los Tuxtlas <[www.conabio.gob.mx/conocimiento/regionalizacion/doctos/rhp\\_080.html](http://www.conabio.gob.mx/conocimiento/regionalizacion/doctos/rhp_080.html)>, última consulta: 20 de Febrero de 2008
- Comisión Nacional Forestal y Dirección General de Desarrollo Forestal Gerencia Regional X Golfo Centro (Conafor). 2006. *Plan Sectorial Forestal. Actualización 2006-2030*. Gobierno de la República y Gobierno del Estado de Veracruz, México, pp. 62-89.

- Conzatti C. y L. C. Smith. 1981. *Flora Sinóptica Mexicana*. Instituto Politecnico Nacional-Centro Nacional de Enseñanza Técnica Industrial, México, 333 p.
- Crow J.F. y M. Kimura. 1970. *An Introduction to Population Genetics Theory*. Harper and Row, London, pp. 36-39
- Cruzan M.B. 2001. Population Size and Fragmentation Threshold for the Maintenance of Genetic Diversity in the Herbaceous Endemic *Scutellaria montana* (Lamiaceae). *Evolution*. 55(8); pp. 1569-1580
- Cunningham S.A. 2000. Effects of Habitat Fragmentation on the Reproductive Ecology of Four Plant Species in Mallee Woodland. *Conservation Biology*. 14(3); pp. 758-768
- Daniel T.F. 2000. Additional Chromosome Numbers of American Acanthaceae. *Systematic Botany*. 25(1); pp. 15-25
- Dennis A. 1997. Effects of Livestock Grazing on Forest Habitat. M. W. Schwartz (ed.). *Conservation in Highly Fragmented Landscapes*. Chapman and Hall, New York, pp. 313 - 341
- Dirzo R. y A. Miranda. 1991. Altered patterns of herbivore and Diversity in the forest understory: a case of the possible causes of contemporary defaunation. P.W. Price, T.M. Lewinsohn, G.W. Fernandez y W.W. Benson (eds.). *Plant-Animal Interactions: evolutionary ecology in tropical and temperate forest*. John Wiley and Sons, New York, pp. 273-297
- Dirzo R. 1992. Diversidad Florística y Estado de Conservación de las Selvas Tropicales de México. J. Sarukhán y R. Dirzo (eds.). *México ante los retos de la biodiversidad*. Comisión Nacional para el Cuidado y Uso de la Biodiversidad, México, pp. 267-281
- Dirzo R. C.C. Horvitz, H. Quevedo y M.A. López. 1992. The effects of gap size and age on the understory herb community of a tropical Mexican rain forest. *Journal of Ecology*. 80; pp. 809-822.
- Dirzo R. González-Soriano. E. y R. Vogt. 1997. La Selva de las Tuxtlas. E. Gonzales-Soriano, R. Dirzo y R. C. Vogt. *Historia Natural de los Tuxtlas*. Universidad Nacional Autónoma de México-Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, México, D.F. pp. 3-6
- Dirzo R. 2001 Central American Environmental. S.A. Levin (ed.). *Enciclopedia de biodiversidad*. Academic Press, Massachusetts, Vol 1; pp. 665-676
- Donaldson J. I Nänni C. Zachariades y J. Kemper. 2002. Diversity and Plant Reproductive Success in Renosterveld Shrublands of South Africa. *Conservation Biology*. 16 (5): 1267-1276.
- Ellstrand N. C. y D.R. Eland. 1993. Populations genetic consequences of small population size: implications for plant conservation. *Annual Review of Ecology and Systematic*. 24: 217-242
- EBT-IBUNAM. Estación de Biología "Los Tuxtlas" del Instituto de Biología de la Universidad Nacional Autónoma de México. 2007. Aspectos bióticos de la región <[www.ibiologia.unam.mx/tuxtlas/localizacion/aspectos/centro.htm](http://www.ibiologia.unam.mx/tuxtlas/localizacion/aspectos/centro.htm)>, última consulta: 18 de Enero de 2007a
- EBT-IBUNAM. Estación de Biología "Los Tuxtlas" del Instituto de Biología de la Universidad Nacional Autónoma de México. 2007. Localización de la estación <[www.ibiologia.unam.mx/tuxtlas/localizacion/frame.htm](http://www.ibiologia.unam.mx/tuxtlas/localizacion/frame.htm)>, última consulta: 4 de Febrero de 2007b
- Estrada A. 1992. La Selva de los Tuxtlas: ¿islas de extinción o de conservación de la flora y fauna de Veracruz? E. Boege y H. Rodríguez (Eds.). *Desarrollo y Medio Ambiente en Veracruz*. Fundación Friedrich Ebert, Instituto de Ecología, Veracruz y Centro de Investigaciones y Estudios Superiores en Antropología Social, México, pp. 112-135
- Estrada A. R. Coates-Estrada y D.A. Meritt Jr. 1997. Anthropogenic landscape changes and avian diversity at los Tuxtlas, Mexico. *Biodiversity and Conservation*. 6; pp.19-43
- Estrada A., P. Cammarano y R. Coates-Estrada. 2000. Bird species richness in vegetation fences and in strips of residual rain forest vegetation at Los Tuxtlas, Mexico. *Biodiversity and Conservation*. 9; pp. 1399-1416

- Falconer D.S. 1989. *Introduction to Quantitative Genetics*. Longman Scientific & technical, New York, pp. 51-103
- Foré S. A. y S. I. Guttman. 1999. Genetic structure of *Helianthus occidentalis* (Asteraceae) in a preserve with fragmented habitat. *American Journal of Botany*. 86(7): pp. 988-995
- Gobeil J.F. y M.A. Villard. 2002. Permeability of three boreal forest landscape types to bird movements as determined from experimental traslocations. *Oikos*. 98; pp. 447-458
- Groom M. y T.E. Preuninger. 2000. Population type can influence the magnitude of inbreeding depression in *Clarkia consinna* (Onagraceae). *Evolutionary Ecology*. 14; pp. 155-180
- Haila Y. 2002. A Conceptual Genealogy of Fragmentation Research: From Island Biogeography to Landscape Ecology. *Ecological Applications*. 12(2): pp. 321-334
- Hamilton M.B. 1999. Tropical tree gene flow and seed dispersal. *Nature*. 401; pp. 129
- Hamrick J.L. y M.J.W. Godt. 1990. Allozyme diversity in plant species. A.H.D. Brown, M. T. Clegg, A. L. Kahler, y B.S. Weir (eds.). *Plant Population genetics, breeding and genetic resources*. Sinauer Associates, Massachusetts, pp. 43-63
- Hamrick J.L. y M.J.W. Godt. 1996. Effects of the life history traits on genetic diversity in plant species. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B Biological Sciences*. 351; pp. 1291-1298
- Hamrick J.L. y J.D. Nason. 1996 Consequences of dispersal in plants. O. E. Rodees, Jr., R. K. Chesser, y M. H. Smith (eds.). *Populación dynamics in ecological space and time*. University of Chicago Press, Chicago, pp. 1-11.
- Hanski I. 1998. Metapopulation Dynamics. *Nature*, 396; pp. 41-49
- Hanski I. y O. Ovaskainen. 2001. The metapopulation capacity of a fragmented landscape. *Nature* 404; pp. 755-758
- Hanski I. y O. Ovaskainen. 2003. Metapopulation theory for fragmented landscapes. *Theoretical Population Biology*. 64; pp. 119-127
- Hartl D.L. y A.G. Clark. 1989. *Principles of Population Genetics* 2ª Ed. Sinauer Associates, Inc. Sunderland, Massachusetts. 146 p.
- Hedrick P. W. 1985 (2000). *Genetics of Population*. Jones and Bartlett, USA, 675 p.
- Honnay O. y H. Jacquemyn. 2007. Susceptibility of Common and Rare Plant Species to the Genetic Consequences of Habitat Fragmentation. *Conservation Biology*. 21(4): pp. 1-9
- Horvitz C.C. y D.W. Schemske. 1984. Effects of Ants and an Ant-Tended Herbivore on Seed production of a Neotropical Herb. *Ecology*. 65(5): pp. 1369-1378
- Horvitz C.C. y D.W. Schemske. 1994. Effects of Dispersers, Gaps, and Predators on Dormancy and Sheedling Emergence in a Tropical Herb. *Ecology*. 75(7): pp. 1949-1958
- Ibarra-Manriquez G. y S. Sinaca-Colin. 1987 *Listado Florístico de México VII. Estación de Biología Tropical Los Tuxtlas, Veracruz*. Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F. 68 p.
- Ingarsson P.K. 2002. A Metapopulation Perspective on Genetic Diversity and Differentiation in Partially Self-Fertilizing Plants. *Evolution*. 56(12): pp. 2368-2373
- Islas-Luna M.A. 1995. Efecto de Depredadores y Polinizadores en el Reclutamiento de *Aphelandra aurantiaca* una Especie de los Tuxtlas. Ver. Tesis Profesional, Biología, *Universidad Nacional Autónoma de México*, México, D.F.
- Jules E.S. 1998. Habitat Fragmentation and Demographic Change for a Common Plant: *Trillium* in Old-Growth Forest. *Ecology*. 79(5): pp. 1645-1656
- Lande 1998. Anthropogenetic, Ecological and Genetic Factors in Extinction and Conservation. *Research on Populations Ecology*. 40(3): pp. 259-269
- Laurance W.F., M.A. Corchane, S. Bergen, P.M. Fearnside, P. Delamonica, C. Baber, S. D´angelo y T. Fernandez. 2001. Environment: the future of the Brazilian Amazon. *Science*. 291(4): pp. 38-39

- Leigh G. E. 1982 Why are There so Many Kinds of Tropical Trees? G.A. Leigh, A. R. Stanley y D. M. Windsor (eds.). *The Ecology of a tropical Forest Seasonal Rhythms and Long-term Changes*. Smithsonian Institute Press, Washington D.C. pp. 63-66
- Levejoy E. T. 1992 Biological diversity in fragmented landscapes. J. Sarukhán, y R. Dirzo. *Mexico Contrast the Challenges of Biodiversity*. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, México, pp. 268-273
- Linhart Y.B. y M.C. Grant. 1996. Evolutionary Significance of Local Genetic Differentiation in Plants. *Annual Review of Ecology and Systematics*. 27; pp. 237-277
- Louda S.M. 1982. Limitation of Reclutment of the Shrub *Haplopappus scuarrosus* (Asteraceae) by Flower and Seed- Feeding Insects. *Journal of Ecology*. 70; pp. 43-53
- Lundberg S y Ingvarsson P.K. 1998. Population Dynamics and Resource Limited Plants and Their Pollinators. *Theoretical Population Biology*. 54; pp. 44-49
- Martinez-Ramoz M., E. Alvarez-Buylla, J. Sarukhán y D. Piñero. 1988. Treefall Age Determination and Gap Dynamics in a Tropical Forest. *Journal of Ecology*. 76; pp. 700-716.
- Matsumura Ch. y I. Washitani. 2000. Effects of population size and pollinator limitation on seed-set of *Primula sieboldii* populations in a fragmented landscape. *Ecological Research*. 15; pp. 307-322
- McDade L. A. 1984. Systematics and Reproductive Biology of the Central American Species of the *Aphelandra pulcherrima* complex (Acanthaceae). *Annals of Missouri Botanical Garden*. 71; pp. 104-165
- McDade L. A. 1985. Breeding System of Central American *Aphelandra* (Acanthaceae). *American Journal of Botany*. 72(10): pp. 1515-1521
- McDade L. 1990. Hybrids and phylogenetic systematics. I. Patterns of character expression in hybrids and their implications for cladistic analysis. *Evolution*. 44 (6): pp. 1684-1700
- McDade L. y J.A. Weeks. 2004. Nectar in Hummingbird Polinated Neotropical Plants I: Patterns of Production and Variability in 12 species. *Biotropica*. 36(2): pp. 196-215
- Miranda M. y E. Hernandez-X. 1963. Los tipos de Vegetación de México y su clasificación. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*. 28; pp. 29-179
- Nagyaki T. 1989. Gustave Malécot and the transition from Classical to Modern Population Genetics. J.F. Crow y W. F. Dave (eds.). *Perspectives on Genetics*. University of Wisconsin Press, Wisconsin, pp. 103-121
- Newman D. y D.A. Tallmon. 2001. Experimental Evidence for Beneficial Fitness Effects of Gene Flow in Recently Isolated Populations. *Conservation Biology*. 15(4): pp. 1054-1063
- Ostermeijer J.G.B., M.W. Eijck y J. C. M. Nijs 1994. Offspring fitness in relation to population size and genetic variation in the rare perennial plant species *Gentiana pneumonanthe* (Gentianaceae). *Oecologia*. 97(3): pp. 289-296
- Paland S. y B. Schmid. 2003. Population Size and the Nature of Genetic Load in *Gentiana germanica*. *Evolution*. 57(10): pp. 2242-2251
- Primack R. 2001. Causes of Extinction. S.A. Levin (ed.). *Enciclopedia de biodiversidad*. Academic Press, Massachusetts, Vol 2; pp. 697-713
- Rolstad J. 1991. Consequences of Forest fragmentation for the dynamics of bird populations: conceptual issues and evidence. *Biological Journal of the Linnean Society*. 42; pp. 149-163
- Rzedowski J. 1978. *Vegetación de México*. Limusa, México, 505 p.
- Rzedowski J. 1991. Diversidad y orígenes de la flora fanerógama de México. *Acta Botanica Mexicana*. 14; pp. 3-21
- Sarukhán J. y R. Dirzo. 2001. Biodiversity Rich Countries. S.A. Levin (ed.). *Enciclopedia de biodiversidad*, Academic Press, Massachusetts, Vol 1; pp. 419-436
- Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (Semarnat). 2001. Reserva de la Biosfera Los Tuxtlas (RBLT). Borrador. *Programa de Manejo de la Reserva de la Biosfera Los Tuxtlas*. 124 p.

- Simberloff D. 1992. Do species - area curves predict extinction in fragmented forest? D. Simberloff (ed.). *Tropical Deforestation and Species Extinction*. Chapman & Hall, Londres, pp. 12-24
- Stiles F.G. 1975. Ecology, flowering phenology, and hummingbird pollination of some Costa Rican *Heliconia* species. *Ecology*. 56; pp. 285-302
- Stuber C.W., J.F. Wendel, M.M. Goodman y J. C. S. Smith. 1988. *Techniques and Scoring Procedures for Starch Gel Electrophoresis of enzymes from Maize (Zea mays L.)*. Nort Carolina State University, Nort Carolina, 86 p.
- Terborgh J. 1974. Preservation of Natural Diversity: the problem of extinction prone species. *Bioscience*. 24; pp. 715-722
- Toledo V.M. 1975. La estacionalidad de las flores utilizadas por los colibries de una selva humeda en México. *Biotropica*. 7; pp. 63-70
- Tomimatsu H. y M. Ohara. 2002. Effects of Forest Fragmentation on Seed Production of the Understory Herb *Trillium camschatcense*. *Conservation Biology*. 16(5): pp. 1277-1285
- Turner I.M., K.S. Chua J.S.Y., Ong B., C. Soong y H.T.W. Tan. 1996. A century of plant species loss from an isolated fragment of lowland tropical rain Forest. *Conservation Biology*. 10(5): pp. 1229-1244
- Van Treuren R., R. Bijlsma, W. Van Delden y N.J. Ouborg. 1991. The significance of genetic erosion in the process of extinction. I. Genetic differentiation in *Salvia pratensis* and *Scabiosa columbaria* in relation to population size. *Heredity*. 66; pp. 181-189
- Vázquez M.T. 1992. Riqueza Biótica y Conservación en el Trópico Cálido- húmedo Veracruzano. E. Boege y H. Rodríguez (Eds.). *Desarrollo y Medio Ambiente en Veracruz*. Fundación Friedrich Ebert, Instituto de Ecología, Veracruz y Centro de Investigación y Estudios Superiores en Antropología Social, México, pp. 51-58
- Wasshausen D.C. 1975. The Genus *Aphelandra* (Acanthaceae). *Smithsonian Contributions to Botany*. 18; pp. 1-157
- Whitmore T.C. 1984. *Tropical Rain of the Far East*. Oxford Science Publications (Paperback), Oxford, pp. 7-12
- Whitmore T.C. 1998. *An Introduction to Tropical Rain Forest*. Oxford University Press, Oxford, pp. 2-26
- Wolf A. y S.P. Harrison. 2001. Effects of Habitat Size and Patch Isolation on Reproductive Success of a Serpentine Morning Glory. *Conservation Biology*. 15(1): pp. 111-121
- Wolf A., S.P. Harrison y J.L. Hamrick. 1999. Influence of Habitat Patchiness on Genetic Diversity and Spatial Structure of a Serpentine Endemic Plant. *Conservation Biology*. 14(2): pp. 454-463
- Wonnacott T.H. y R.J. Wonnacott. 1998 *Introducción a la Estadística*. Editorial Limusa, Mexico, pp. 293-325; 375-398; 619-624
- Young A.G. 1995. Landscape structure and genetic variation in plants: Empirical evidence. L. Hansson, L. Faringh y H.G. Merriam. (eds.). *Mosaic Landscapes and Ecological Processes*. Chapman & Hall, London, pp. 153-177
- Young A., T. Boyle y A. Brown. 1996. The population genetic consequences of habitat fragmentation for plants. *Trends in Ecology and Evolution*. 11; pp. 413-418
- Young A. A., H.D. Brown y F.A.Zich. 1999. Genetic Structure of Fragmentated Populations of the Endangered Daisy *Rutidosis leptorrhoides*. *Conservation Biology*. 13(2): pp. 256-265

## ANEXO I

### MATERIALES Y PROTOCOLOS DE EXTRACCIÓN, ELECTROFORESIS DE ALMIDÓN Y TINCIÓN

#### *Material Para Extracción de Isoenzimas*

- Mortero de cerámica con pistillo
- Nitrógeno líquido
- Buffer de extracción
- Tubos Eppendorf de 1.5 ml
- Pipetas de 1 ml
- Centrífuga a 5000 rpm
- Ultracongelador a -70°C
- Papel Whatman absorbente
- Potenciómetro Calibrado

#### *Material Para la Elaboración del Buffer de Extracción Fosfatos-Veg*

##### Buffer de fosfatos (3/4) pH 7.1

- |   |         |
|---|---------|
| ▪ $\text{KH}_2\text{PO}_4$ (Fosfato de potasio monobásico)              | 0.978 g |
| ▪ $\text{K}_2\text{HPO}_4$ (Fosfato de potasio dibásico)                | 0.489 g |
| ▪ A 100 ml de solución Stock, para obtener el Buffer de Trabajo añadir: |         |
| ▪ PVP 360   | 1.0 g   |
| ▪ $\text{NADP}^+$   | 10 mg   |
| ▪ $\text{NAD}^+$  | 20 mg   |
| ▪ EDTA  | 372 mg  |
| ▪ Ácido Ascórbico   | 18 mg   |
| ▪ Albúmina Sérica Bovina  | 500 mg  |

##### VEG II (1/4)

- |                             |          |
|-----------------------------|----------|
| ▪ Ácido Bórico              | 31 m     |
| ▪ Tergitol 15-S-9           | 2 ml     |
| ▪ PEG 800                   | 2 mg     |
| ▪ PVP 40                    | 7 mg     |
| ▪ PVP 360                   | 1 mg     |
| ▪ Ácido Ascórbico           | 0.88 mg  |
| ▪ NAD                       | 0.02 mg  |
| ▪ ASB                       | 0.1 mg   |
| ▪ Piridoxal 5 Fosfato       | 0.005 mg |
| ▪ Sucrosa                   | 0.27 mg  |
| ▪ Cisterna HCl              | 0.19 mg  |
| ▪ Mercaptoetanol            | 1 ml     |
| ▪ Ajustar el pH con NaOH 1M |          |

## ANEXO II

### MATERIAL PARA LA ELECTROFORESIS

#### *Buffers (Arulsekar y Parfitt, 1986)*

- Matraz de precipitado de 1000 ml
- Potenciómetro calibrado
- Agitador electromagnético
- “Moscas”
- Pipetas de 1, 5 y 10 ml
- Agua destilada
- Solución de HCl al 50, 25 y 10%
- Soluciones de NaOH al 4, 2 y 0.5 M
- Solución de ácido cítrico al 1 M

#### *Gel de Almidón al 13% (Stuber, 1988)*

- Almidón
- Buffer del gel
- Matras Kitasato
- Tapón de hule
- Mechero Bunsen
- Base con anillo de acero
- Malla de asbesto
- Manguera
- Máquina de vacío
- Mesa nivelada
- Placa de vaciado

#### *Corrimiento (Stuber, 1988)*

- Buffer de la charola
- Charola de electroforesis
- Fuente de energía y cables.
- Ladrillo refrigerante
- Refrigerador a 4 °C
- Rieles de acrílico
- Toallas absorbentes
- Película de plástico
- Hilo de nylon
- Solución saturada de amido black
- Ligas
- Popotes

#### *Tinción (Stuber, 1988)*

- Charolas con tapadera
- Estufas a 30 °C y 37 °C
- Micropipeta graduable automática de 5-40  $\mu$ l
- Pipetas de 1, 5 y 10 ml
- Balanza analítica digital
- Charolas para pesar reactivos
- Espátulas
- Parafina
- Vaso de precipitado
- Agitadores de vidrio

## ANEXO III

### SISTEMAS DE CORRIMIENTO

*Sistema Tris-Citratos Ph 7.0 – 7.1 (Cheliak y Pitel, 1984)*

Buffer del gel pH = 7.0

Reactivos	Concentración	Peso por Litro
Trisma base	0.01 M	1.211 g
Ácido cítrico	0.003 M	0.6304 g
Nota: Ajustar el pH con ácido cítrico 4 M		

Buffer del electrodo pH = 7.1

Reactivos	Concentración	Peso por Litro
Hidróxido de Sodio	0.016 M	0.8 g
Ácido Bórico	0.3 M	18.54 g
Condiciones de corrimiento: mA 50 ; mV 300 ; 5 horas		

*Sistema Tris-Citratos Ph 8.5 – 8.6 (Cheliak y Pitel, 1984)*

Buffer del gel pH = 8.5

Reactivos	Concentración	Peso por Litro
Tris 7-9	0.018 M	2.0 g
Ácido cítrico	0.003 M	0.6304 g
Nota: Ajustar el pH con ácido cítrico 4 M		

Buffer del electrodo pH = 8.6

Reactivos	Concentración	Peso por Litro
Hidróxido de sodio	0.1 M	4 g
Ácido bórico	0.3 M	18.54 g
Nota: Ajustar el pH con ácido bórico 1 M		
Condiciones de corrimiento: mA 50 ; mV 300 ; 5 horas		

## ANEXO IV

### ENZIMAS Y MÉTODOS DE TINCIÓN

*Sistema Tris-Citratos (Modificado De Mitton) Ph 7.0 – 7.1 (Cheliak Y Pitel, 1984)*

NADHDH (Acquaah, 1992)

Reactivos	Cantidad
B-NADH	55 mg
NBT	35 mg
Tris-HCL 0.2 M pH = 8	120 ml

DIA (Acquaah, 1992)

Reactivos	Cantidad
2-6, diclorofenolindofenol	0.5 mg
<b>B</b> -NADH	30 mg
Tris-HCL 0.2 M pH = 8	120 ml
MTT	2 ml

MNR (Acquaah, 1992)

Reactivos	Cantidad
<b>B</b> -NADH	10 mg
Menadion	10 mg
Tris-HCL 0.05 M pH = 7	120 ml
NBT	2 ml

ME (Acquaah, 1992)

Reactivos	Cantidad
Tris-HCL 0.2 M pH = 8	120 ml
D-L, malato 1 M pH = 8	15 ml
Mg Cl 1 M	2 ml
TPN	3 ml
MTT	3 ml
PMS	1.5 ml

Sistema Tris-Citratos (Modificado De Poulik) Ph 8.5 – 8.6 (Cheliak Y Pitel, 1984)  
EST (Acquaah, 1992)

Reactivos	Cantidad
Sal de azul rápido RR	150 mg
a naftil acetato	6 ml
H <sub>2</sub> O destilada	120 ml
Buffer de fosfatos 6.4	6 ml

ACPH (Acquaah, 1992)

Reactivos	Cantidad
Sal de garnet rápido GB	150 mg
Buffer de acetato de sodio 1 M pH = 5	6 ml
H <sub>2</sub> O destilada	120 ml
Mg Cl 10%	1 ml
A Naftil acido fosfórico	3 ml

APX (Acquaah, 1992)

Reactivos	Cantidad
3,amino 9, etil Carbazole	150 mg
Dimeti9lformamida	15 ml
H <sub>2</sub> O Destilada	120 ml
H <sub>3</sub> O	1 ml
Ca Cl <sub>2</sub> 1%	2 ml
Buffer de acetato de sodio 1 M pH = 5	7 ml

Nota: Las enzimas MNR; PGI y MDH (Vallejos) presentaron bandas muy tenues por lo tanto, no se utilizaron en el presente estudio, en consecuencia los métodos de tinción se omiten.