



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

**ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS SUPERIORES UNIDAD
LEÓN**

TEMA:

**ANÁLISIS FILOGENÉTICO DE ORQUÍDEAS QUE
SE UBICAN EN LA REGIÓN CENTRAL DEL
ESTADO DE VERACRUZ**

MODALIDAD DE TITULACIÓN:

ACTIVIDAD DE INVESTIGACIÓN O TRABAJO PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

LICENCIADA EN CIENCIAS AGROGENÓMICAS

P R E S E N T A:

MARÍA FERNANDA SÁNCHEZ SÁNCHEZ

TUTOR EXTERNO:

DR. JOAQUÍN MURGUÍA GONZÁLEZ

TUTORA INTERNA:

DRA. HARUMI SHIMADA BELTRÁN





Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

**ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS SUPERIORES UNIDAD
LEÓN**

TEMA:

**ANÁLISIS FILOGENÉTICO DE ORQUÍDEAS QUE
SE UBICAN EN LA REGIÓN CENTRAL DEL
ESTADO DE VERACRUZ**

MODALIDAD DE TITULACIÓN:

ACTIVIDAD DE INVESTIGACIÓN O TRABAJO PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

LICENCIADA EN CIENCIAS AGROGENÓMICAS

P R E S E N T A:

MARÍA FERNANDA SÁNCHEZ SÁNCHEZ



**TUTOR EXTERNO:
DR. JOAQUÍN MURGUÍA GONZÁLEZ
TUTORA INTERNA:
DRA. HARUMI SHIMADA BELTRÁN**

Tabla de contenido

RESUMEN	5
1. INTRODUCCIÓN	6
1.1. EVOLUCIÓN	8
1.2. IMPORTANCIA	9
1.3. DESCRIPCIÓN DE MORFOLOGÍA	10
1.3.1. PSEUDOBULBOS	10
1.3.2. RAÍZ	10
1.3.3. FLOR	10
1.3.4. PÉTALOS	11
1.3.5. SEMILLA	11
1.3.6. HOJAS	11
1.4. CARACTERÍSTICAS AMBIENTALES	12
1.5. ORQUÍDEAS UTILIZADAS EN EL PROYECTO QUE HABITAN EN VERACRUZ	13
1.5.1. <i>Bletia purpurea</i>	13
1.5.2. <i>Hintonella mexicana</i>	14
1.5.3. <i>Ionopsis utricularioides</i>	14
1.5.4. <i>Laelia anceps</i>	15
1.5.5. <i>Laelia rubescens</i>	15
1.5.6. <i>Notylia barkeri</i>	16
1.5.7. <i>Vanilla planifolia</i>	17
1.6. ORQUÍDEAS QUE HABITAN FUERA DE VERACRUZ UTILIZADAS EN EL PROYECTO	17
1.6.1. <i>Sobralia bouchei</i>	17
1.6.2. <i>Pholidota chinensis</i>	18
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	19
3. JUSTIFICACIÓN	21
4. OBJETIVOS	22
4.1. OBJETIVO GENERAL:	22
4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS:	22
5. MATERIALES Y MÉTODOS	23
5.1. RECOLECCIÓN DE DATOS	23
5.2. ALINEACIÓN DE SECUENCIAS	24
5.3. MÉTODO DEL MEJOR MODELO	24
5.4. CONSTRUCCIÓN DE ÁRBOLES FILOGENÉTICOS	24
5.5. COMPARACIÓN DE CARACTERÍSTICAS FÍSICAS	24
6. RESULTADOS	25
6.1. RECOLECCIÓN DE DATOS	25
6.2. ALINEACIÓN DE SECUENCIAS	25
6.3. MÉTODO DEL MEJOR MODELO	25
6.4. CONSTRUCCIÓN DE ÁRBOLES FILOGENÉTICOS	26
7. DISCUSIÓN	30
7.2. MÉTODO DE MEJOR MODELO	30
7.3. ÁRBOLES FILOGENÉTICOS	31
7.4. COMPARACIÓN DE CARACTERÍSTICAS FÍSICAS	32

8. CONCLUSIONES	34
8.1 DETERMINAR SI <i>VANILLA PLANIFOLIA</i> ES LA ORQUÍDEA QUE ORIGINÓ A LAS DEMÁS ESPECIES QUE SE ENCUENTRAN EN VERACRUZ.....	34
8.2. DETERMINAR LA FILOGENIA DE ESPECIES DE ORQUÍDEAS QUE SE ENCUENTRAN EN EL ESTADO DE VERACRUZ CON <i>VANILLA PLANIFOLIA</i>	35
8.3. IDENTIFICAR LAS CARACTERÍSTICAS FÍSICAS COMPARTEN LAS ORQUÍDEAS MÁS CERCANAS A <i>VANILLA PLANIFOLIA</i>	35
8.4. ALCANCES Y DELIMITACIONES	35
9. BIBLIOGRAFÍA	37

Índice de figuras

<i>Figura 1. Árbol filogenético con el marcador Ycf1 de las especies que se encuentran en Veracruz.</i>	26
<i>Figura 3. Árbol filogenético con el marcador matk de las especies que se encuentran en Veracruz.</i>	27
<i>Figura 4. Árbol filogenético con el marcador Matk de las especies que se encuentran en Veracruz y especies fuera del país</i>	28
<i>Figura 5. Árbol filogenético con el marcador de psbA las especies que se encuentran en Veracruz.</i>	28
<i>Figura 6. Árbol filogenético con el marcador trnL-trnF de las especies que se encuentran en Veracruz.</i>	29
<i>Figura 7. Árbol filogenético con la concatenación de todos los marcadores de las especies que se encuentran en Veracruz.....</i>	29

Índice de tablas

Tabla 1.....	23
Tabla 2.....	24
Tabla 3.....	26

Resumen

La familia Orchidaceae cuenta con más de 25 000 especies distribuidas en diferentes países, estas plantas se caracterizan por tener flores que cuentan con tres pétalos, tres sépalos y un labelo lo que las hace diferentes a otras plantas. El conjunto de sus características despierta el interés en estudiar el origen de las orquídeas en Veracruz. No se encuentran muchos estudios evolutivos de orquídeas en México, por esa razón, este proyecto es una propuesta para entender cómo surgieron las orquídeas en el Estado de Veracruz, México.

El proyecto propone que *Vanilla planifolia* es la orquídea que dio origen a diferentes especies que habitan en Veracruz, México. Para llevar a cabo el proyecto se busca secuencias de especies de orquídeas en la plataforma del NCBI. Se utilizaron 4 marcadores para comparar los resultados entre ellos (Ycf1, Matk, TrnL-TrnF y psbA-trnH) y con herramientas bioinformáticas se realizó el análisis fogenético, luego se hizo la alineación de secuencias en ClustalX2, se realizó la construcción de los análisis filogenéticos en el programa MrBayes y finalmente, se compararon características físicas de *Vanilla planifolia* y las orquídeas escogidas para el proyecto con *Vanilla planifolia*.

Los árboles filogenéticos muestran una relación entre los géneros *Bletia* y *Laelia* con *Vanilla planifolia*. Además, hay especies que mantuvieron su relación en los árboles de los diferentes marcadores como en el caso de *Hintonella mexicana* e *Ionopsis utricularioides*. Hay que considerar que los análisis no mostraron que *Vanilla planifolia* fuera la orquídea de origen para las especies que se encuentran en Veracruz. Se debe considerar las limitantes que se encontraron en el desarrollo del proyecto como: la poca cantidad de especies con las que se trabajaron, la calidad de las secuencias de los marcadores y los pocos estudios genómicos de orquídeas. No obstante, se propone algunas sugerencias para futuros estudios.

1. Introducción

Las orquídeas son una de las familias más grandes que abarcan gran parte de toda la flora mundial ya que son plantas que tienen pétalos de diferentes formas o colores que de acuerdo con sus características se adaptan a los ambientes tropicales o áridos (Zhang et al., 2018). Al ser un gran número que compone la familia, se piensa que puede ser un grupo muy estudiado, pero, al contrario, son pocos los casos de estudio, en especial, para entender su evolución y cómo se han ido adaptando al mundo. Las orquídeas son plantas que destacan por su singular tamaño en las semillas al ser muy pequeñas (Zhang et al., 2018).

México es un país que cuenta con una inmensa diversidad de flora que varía en cada Estado. Una familia muy conocida es la Orchidaceae ya que se utiliza con diferentes fines como la decoración o para usos medicinales dependiendo de la zona donde esté ubicada (Tejeda-Sartorius, 2013). Por ello, se han desarrollado proyectos para conocer el potencial que tienen en sus relaciones con polinizadores, beneficios para el humano y en la economía. A la fecha tienen pocos conocimientos sobre el origen de las orquídeas en el país o en los estados donde hay un mayor número de especies, uno de ellos es Veracruz (Tejeda-Santorius, 2013).

La familia de orquídeas se compone por una gran variedad de géneros que se encuentran distribuidos en países como Tailandia, Australia, México e India entre otros, y cuentan con más de 27,000 especies en el mundo. Generalmente se encuentran en lugares con temperaturas entre 15 °C a 24 °C, ya que necesitan un ambiente apto para su desarrollo. Por ejemplo, en los bosques secos hay orquídeas con un crecimiento terrestre donde las raíces se relacionan con rocas, mientras que en bosques húmedos tienen un crecimiento epífita donde sus raíces se colocan alrededor de las ramas de los árboles para capturar mejor el agua del ambiente obteniendo un control de humedad en la zona (De la Rosa-Manzano et al., 2014).

Las orquídeas se caracterizan por sus diferencias en colores, formas o tamaños en los pétalos y raíces, que sirven para adaptarse a las condiciones ambientales del lugar donde se desarrollen y su relación con el entorno. Para su adaptación, habitan cerca de plantas con altitudes que proporcionen sombras o troncos, mientras que, en relación con el exterior aprovechan los colores de los pétalos para atraer a polinizadores y contribuir con la reproducción de orquídeas silvestres (Zhang et al., 2018).

Las orquídeas son plantas con un gran atractivo no sólo para el humano, sino también para los polinizadores, que aprovechan los detalles y formas de los pétalos para acercarse a ellas como forma de refugio; existen orquídeas que emiten olores similares a las polinizadoras hembras y atraen a los polinizadores. Por ambos mecanismos las orquídeas toman la oportunidad para

distribuir su polen secretando una sustancia que hará que se pegue el polen en el cuerpo del polinizador (Jonasson, 2015). Esta gran variedad de características convierte a las orquídeas en un interesante foco de estudio.

El enfoque siempre dependerá de la problemática que el investigador esté buscando resolver. Existen varios estudios sobre la composición morfológica de las especies de orquídeas, su relación o mecanismos de defensa con algunos insectos, métodos de conservación e incluso estudios sobre su impacto en la economía (Sarmah et al., 2017). Pero son pocos los proyectos que tienen un enfoque en la evolución de las orquídeas, que muestren un interés por conocer en qué momento surgieron o qué relación tienen con otras especies.

Resulta interesante estudiar la evolución en orquídeas debido a que existen muchas especies silvestres y algunas cuyo origen es por cruzar dos especies de orquídeas. Por lo que la relación entre las especies sea cada vez más grande a comparar (De L. y Medhi R., et al., 2013). Ahora, ya se cuenta con estudios en los que mencionan el posible origen de las orquídeas fue en el continente de Oceanía. Posiblemente, las orquídeas se segregaron hasta llegar a nuestro continente, pero no hay datos sobre la primera especie en aparecer en América (De L. y Medhi R., et al., 2013).

Por desgracia, no hay estudios previos de un análisis filogenético de la familia Orchidaceae en México que nos pueda dar datos previos sobre algún género o especie que se considere la de origen o de la cual se segregaron otras especies de orquídeas en este país. Por ello esta investigación se enfocó en la pregunta: ¿Quién es el ancestro común de las orquídeas en la zona centro del Estado de Veracruz? Proponiendo que *Vanilla planifolia* sea el ancestro común de orquídeas que se ubican en la zona centro de Veracruz.

En este proyecto se busca conocer la especie de origen de las orquídeas que se encuentran en la zona centro del Estado de Veracruz, se propone que la *Vanilla planifolia* es la orquídea de origen para otras especies que se ubican en el mismo Estado. Para conocer la respuesta se hizo una comparación de características físicas de *Vanilla planifolia* con otras especies. Esta es una propuesta de cómo pudo ser el origen de las orquídeas que se encuentran en la parte centro del Estado de Veracruz.

Vanilla planifolia es una orquídea que se encuentra de forma silvestre en las zonas centro y sur del Estado de Veracruz y en algunas zonas del Estado de Puebla que colinda con Veracruz, como el caso de Cuetzalan. Esta orquídea se encuentra registrada en documentos históricos de la época de los Aztecas donde se habla de ella y se conoce que se ocupaba para rituales o para remedios naturales (Liu et al., 2014). Así que desde hace varios siglos ha sido una planta con gran valor y provecho para el humano como en la actualidad, que se utiliza para la producción de vainilla y es un producto que tiene importancia en la economía.

Para desarrollar el proyecto y contestar la pregunta se eligieron 8 especies de orquídeas que habitan en el Estado de Veracruz para compararlas con *Vanilla planifolia* y se analizó la filogenia, se

compararon los resultados con diferentes marcadores y se identificaron las características físicas que comparten con *Vanilla planifolia*. Se utilizaron los datos de especies de orquídeas que se encuentran en Veracruz y se realizó un alineamiento para buscar el mejor modelo para hacer el árbol filogenético de las especies seleccionadas y comparar las orquídeas más cercanas a *Vanilla planifolia* con sus características físicas.

1.1. Evolución

La familia Orchidaceae cuenta con más de 27,000 especies en diferentes partes del mundo. Crecen en lugares con bosques secos o húmedos. En los bosques secos, las orquídeas pueden llevar a cabo un crecimiento terrestre donde se relacionan con rocas alcalinas. En cambio, en los bosques húmedos, tienen un crecimiento tipo epífita; el cual ayuda a capturar mejor el agua del ambiente y promueve un control de humedad en la zona, este tipo de crecimiento hace que se ubiquen en ramas de árboles con alturas de más de 5 metros (De la Rosa-Manzano et al., 2014).

Son una familia compuesta por una gran variedad de géneros y especies que se encuentran distribuidas en países como Tailandia, Australia, México e India entre otros lugares. Las orquídeas varían en colores, formas y tamaños que les ha permitido adaptarse a las distintas condiciones ambientales donde habitan y tener un desarrollo óptimo, así como mantener una relación con sus polinizadores que a su vez permite el aumento de orquídeas en la zona donde se encuentran (De la Rosa-Manzano et al., 2014).

Las diferentes especies de orquídeas se caracterizan por la combinación particular de colores y las formas de sus pétalos (Murguía G. y Lee, 2007) convirtiéndolas en gran atractivo como planta de ornato, así como para los polinizadores cuyo papel es destacable para su propagación. Hay que resaltar que suelen tener un ciclo de vida largo debido a que en ocasiones su Estado de prefloración dura hasta 7 años, lo que ocasiona no contar con sus flores por un largo periodo afectando el no conocer las características de las flores (Zhang et al., 2018).

Investigaciones previas sugieren que las orquídeas pudieron surgir en la época del Cretácico tardío. Esto se determinó al realizar pruebas con un fósil de una orquídea encontrada en la República Dominicana (Zhang et al., 2017; Ramírez et al., 2007). Otros estudios especifican que su lugar de origen es la zona ubicada en Australia hace 100 millones de años y gracias a la especiación, las orquídeas llegaron al sur de Asia y a América Latina, distribuyéndose en sus bosques (Givnish et al., 2016).

Lamentablemente, en México no hay estudios previos acerca de cuál es el posible origen evolutivo de las orquídeas que se encuentran en este país, no obstante, existen investigaciones que nos brindan información de orquídeas que habitan en México y describen algunas características de las orquídeas que se puede utilizar para comparar entre especies. Algunos escritos, mencionan que

la orquídea *Vanilla planifolia* ha estado presente desde la existencia de los Aztecas quienes la usaban para realizar rituales (Rodríguez-López, 2016). Entonces la presencia de la *Vanilla planifolia* es clave para conocer el origen de las orquídeas en Veracruz (Rodríguez-López, 2016).

En algunos estudios se ha propuesto que existe un parecido con las familias Burmanniaceae, Hypoxidaceae e incluso a las Liliales, pero esto solo por los parecidos físicos en la forma y color de los pétalos. Sin embargo, hay que considerar que las especies que se pueden tomar como muestra de la evolución son muy difíciles de encontrar o posiblemente ya no existan provocando un sesgo en la información (Dressler, 1982).

1.2. Importancia

Estas plantas se logran posicionar dentro de las primeras 10 más vendidas en diferentes países, algunos de los países que están en el mercado de venta de orquídeas son Estado Unidos, Australia, India y Malasia entre otros, que logran tener ventas de más de un millón de dólares. Las ventas de orquídea en estos países aumentan en el mercado en épocas festivas del país, por lo que se puede deducir que son plantas importantes económicamente (Sarmah et al., 2017).

En Veracruz, se encuentran diferentes canales para la venta de orquídeas uno de ellos es la reproducción por hijuelos de las especies y otro es por reproducción in vitro, reproduciendo alrededor de 15 000 orquídeas. En algunos casos las compras de orquídeas se hacen a través de individuos en comunidades que se encuentran en el entorno. La venta de las orquídeas suele ser alrededor de las personas que se dedican a reproducirlas o llegan por intermediarios a las tiendas (Murguía-González et al., 2016).

No obstante, las orquídeas no sólo tienen importancia económica, sino que también cultural, ambiental y para la producción de alimentos. En el primer caso, las orquídeas se han utilizado en diferentes culturas para realizar rituales; por ejemplo, en África donde se utiliza la orquídea *Cyrtorchis aruata* para rituales de fertilidad; en el segundo caso, su importancia ambiental deriva por promover el control de humedad en bosques captando el agua y en el último caso, un ejemplo es la *Vanilla planifolia* que se utiliza para consumo a nivel mundial (Liu et al., 2014).

1.3. Descripción de morfología

Las orquídeas se caracterizan por sus bellos colores, formas y estructuras impresas en los pétalos que la diferencian de otras flores. Así, cuentan con tonos que pasan por un amarillo brillante a un violeta intenso con manchas rojas. La estructura física de las orquídeas es diferente a la de otras plantas debido a que tiene 3 pétalos, 3 sépalos y un labelo. Sus raíces destacan porque en algunas especies se encuentran expuestas (Guerra Lu & Huamaní Yupanqui, 1995).

1.3.1. Pseudobulbos

Los pseudobulbos son importantes para poder almacenar el agua y los nutrientes necesarios para el desarrollo de las orquídeas, se encuentran en diferentes formas como cilíndrico, ovoide, globoso o elipsoide dependiendo de la especie de la orquídea. Los pseudobulbos sirven para dar origen a las raíces (Freuler, 2008).

1.3.2. Raíz

Las raíces son una parte fundamental de cualquier planta, en el caso de las orquídeas sus raíces suelen ser de color verde claro y llegan a ser más largas de 10 centímetros, en algunos casos, no son para absorber nutrientes esto depende de su hábito de crecimiento. Por ejemplo, existe el crecimiento epífita en el que las raíces sirven para sostener a la orquídea en los árboles, pero no tomará los nutrientes de este; también, existe el crecimiento terrestre donde las raíces se encuentran debajo de la tierra para sostener a la orquídea. El tipo de crecimiento depende de la especie de orquídea (Tejeda-Sartorius et al., 2017).

Otro punto que hay que mencionar sobre las raíces es que proporcionan información acerca del estado de la orquídea, a través del color presente, por ejemplo, si el color es un verde grisáceo se puede deducir una falta de nutrientes, si es un tono verde claro significa que se está preparando para el crecimiento de una nueva vara y si es un color café oscuro, las orquídeas está en un proceso de marchitamiento (Tejeda-Sartorius et al., 2017).

1.3.3. Flor

La flor de la orquídea es la parte atractiva, que la ha convertido en una flor de ornato popular. Las flores se encuentran en diferente cantidad y de esto, dependerá el tamaño de los pétalos. Por ejemplo, *Laelia anceps* solo puede dar 4 flores con tamaño de 15 centímetros, mientras que otras orquídeas, como *Encyclia cordigera* cuenta con 10 flores que miden menos de 8 centímetros (Tejeda-Sartorius et al., 2017).

La posición de la flor es diferente en cada orquídea, ya que algunas se encuentran de forma basal, axial o apical (Freuler, 2008). Su tiempo de floración llega a variar entre las especies, dependiendo del tamaño de las flores, las orquídeas de una longitud mediana a grande tienen una duración de 8 semanas, mientras que, las flores de una longitud más corta florecen por 4 semanas (Tejeda-Sartorius et al., 2017).

1.3.4. Pétalos

Los pétalos son una parte importante de las orquídeas, ya que es la característica que diferencia a la familia de otras familias de plantas. En sus flores se presentan en tres pétalos y tres sépalos, el pétalo que se encuentra en medio se conoce como labelo y este permite que los insectos se coloquen correctamente para la polinización (Freuler, 2008). Los pétalos son de diferentes formas, colores y tamaños; además dentro de los pétalos hay pequeños detalles como figuras hechas por otras tonalidades dando un espectáculo visual llamativo para humanos y, sobre todo, para los polinizadores (Freuler, 2008).

1.3.5. Semilla

Las semillas son de un tamaño minúsculo de 1-2 mm de largo y 0.5-1 mm de ancho (McKendrick, 2000). El embrión ocupa una porción muy pequeña esto permite tener el peso adecuado para suspenderse en el aire y viajar a distancias largas. Sin embargo, esta capacidad se ve afectada cuando se trata de orquídeas terrestres porque su distancia para esparcirse no es tan amplia, así que permanecen en la misma zona (Jersáková y Malinová, 2007).

1.3.6. Hojas

Las hojas tienen una función necesaria para las orquídeas, en primer lugar, sirven como protección ya que suelen ser de un tamaño grande tanto largo como en ancho de 10 a 50 centímetros (Murguía G. y Lee, 2007), por ello se encuentran en diferentes formas como lanceolada, ovada, acicular o linear; en segundo lugar, porque con ellas se puede visualizar el estado de las orquídeas a través del color, Así se conoce si falta algún nutriente o si se están preparando para la etapa de floración. Estos colores son desde un verde oscuro hasta un verde con tonos cafés (Freuler, 2008).

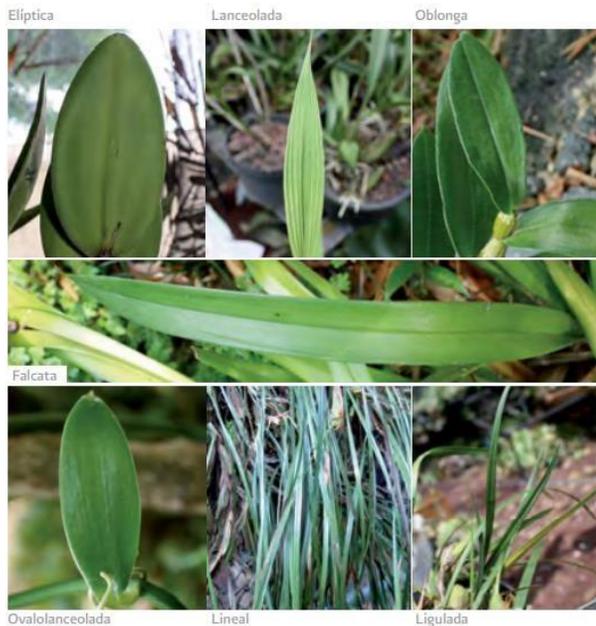


Imagen 1. Clasificación de hojas. Fotografía tomada de (Menchaca García & Moreno Martínez, 2011).

1.4. Características ambientales

Las orquídeas se encuentran en muchas partes del mundo como en zonas tropicales, áridas o templadas (López-Selva, 2016). En una zona tropical las orquídeas necesitan utilizar plantas con alturas lo suficientemente altas para captar la humedad en el ambiente, además de que el árbol debe contar con la luz y sombra necesaria para proteger a la orquídea; en una zona templada, las orquídeas se pueden encontrar en el suelo, sin depender de otra planta por lo que las condiciones del suelo deben ser buenas y en una zona más cálida, deben de resistir a los cambios en las temperaturas (Guerra Lu & Huamaní Yupanqui, 1995).

Por ello, las condiciones ambientales son un factor importante para el desarrollo de la orquídea y la ubicación donde se establezca debe ser estratégica para poder recibir los recursos óptimos. Así que se debe considerar un control de humedad para en el ambiente para almacenar el 70% de agua, establecerse cerca de árboles altos para tener sombra, equilibrar el pH del agua que absorbe de 5.5 a 6.0, además, la temperatura no debe exceder de 15 °C-25 °C (De L. y Medhi R.,2013). De manera adicional, se debe de cuidar de otros elementos como los insectos y plantas que interactúan con las orquídeas para la distribución de su polen y obtención de sombra (Jersáková y Malinová, 2007).

Los organismos que están alrededor de las orquídeas son fundamentales para su desarrollo, por ejemplo, las lombrices ayudan a tener una tierra fértil para las orquídeas terrestres. Con otros organismos forman una relación donde los polinizadores ayudan a esparcir las semillas, en cambio,

las orquídeas tienen la forma en los pétalos para resguardar al polinizador en caso de lluvia o para descansar. Por ello, es necesario cuidar de estos organismos y analizar que su participación sea buena con la orquídea (Jersáková y Malinová, 2007).

Los polinizadores son atraídos por sus colores vivos y formas de los pétalos y al posicionarse en ellos, se lleva a cabo la polinización esto ocurre por ejemplo; cuando los pétalos tienen una forma curva y son de una longitud larga, ocasionan que el insecto entre en el espacio que se forma en el pétalo y al ser estrecho el espacio de fondo, debe salir por el otro extremo, en el proceso en el que el polinizador se mueve la orquídea suelta una sustancia pegajosa que se adhiere al cuerpo del insecto y así se pueda llevar el polen (Jersáková y Malinová, 2007).

1.5. Orquídeas utilizadas en el proyecto que habitan en Veracruz

1.5.1. *Bletia purpurea*

Bletia purpurea es una orquídea terrestre que se encuentra en las zonas tropicales de México hasta Costa Rica, se encuentra en zonas con temperaturas de 29 °C a 16°C, humedad mayor al 60 % y con una disponibilidad de luz (Serrano Flores, 2016; American Orchid Society-AOS, 1988). Es una orquídea compuesta por pseudobulbos tuberosos, en su presentación tienen de 3 a 7 flores y pueden encontrarse en racimos o no. El color de sus pétalos es de rosa a un tono violeta y en ocasiones no cuentan con hojas alrededor (Palestina & Sosa, 2002).



Imagen 2. *Bletia purpurea*. (Internet Orchid Species Photo Encyclopedia, s.f.). Se consultó el 15 de junio de 2022.

1.5.2. *Hintonella mexicana*

Hintonella mexicana una especie que se considera endémica de la Sierra Madre del Sur. Son plantas pequeñas con los pseudobulbos ovoides, cada bulbo cuenta con sus hojas y el estigma está cerca de la base. Cuenta con flores distribuidas como ramificación de un color blanco con un labelo que tiene manchas pardo y la máxima cantidad de flores que tiene es de 6 que florecen del otoño hasta primavera. Se encuentran cerca de arroyos o en alturas de más de 1,000 metros (Beutelspacher, 2013).



Imagen 3. *Hintonella mexicana* (Internet Orchid Species Photo Encyclopedia, s.f.). Se consultó el 15 de junio de 2022.

1.5.3. *Lonopsis utricularioides*

Lonopsis utricularioides es una orquídea con un crecimiento epífita ya que crece en las ramas de árboles en ambientes tropicales, se encuentra desde México hasta Panamá. Esta orquídea crece en bosques tropicales con climas de 10 °C- 35 °C y sombra del 30 %; es una orquídea muy corta que tiene 6 flores en su rama, los pétalos pueden encontrarse en tonos claros como blancos a morados claros, en el labelo se puede encontrar manchas o nervadura con tonos más oscuros a los pétalos, con formas curvas con un ápice muy agudo y los pseudobulbos son pequeños que casi no se notan (Batista et al., 2010).

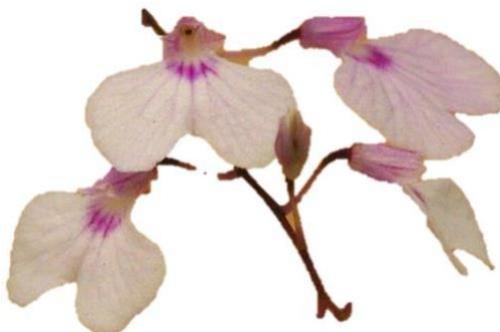


Imagen 4. *Ionopsis utricularioides* (Internet Orchid Species Photo Encyclopedia, s.f.). Se consultó el 15 de junio de 2022.

1.5.4. *Laelia anceps*

Las Laelias son un grupo de orquídeas que se ha descrito de manera más precisa. Esta orquídea es de tipo epífita, se encuentra en bosques cálidos y tienen una altura de 25 a 50 centímetros, cuenta con pseudobulbos ovoides de color verde claro. Las flores tienen alturas de 5 centímetros con un ancho de 8 centímetros, con colores de rosa a violeta y su labelo tiene características como franjas moradas a tonos rojizos. Esta orquídea fue importada de Inglaterra, pero tuvo una buena aceptación a las condiciones ambientales de México, es por este cambio que se desarrollaron subespecies (Castillo-Pérez et al., 2020; Halbinger & Soto, 1997).



Imagen 5. *Laelia anceps* (Internet Orchid Species Photo Encyclopedia, s.f.). Se consultó el 15 de junio de 2022.

1.5.5. *Laelia rubescens*

Orquídeas de crecimiento epífita en bosques tropicales o cálidos con altura de 15 a los 40 centímetros, sus pseudobulbos son ovoides con tonos de color verde a amarillo. Las flores son pequeñas con alturas de 7 centímetros, los tonos de los pétalos pueden ser blancos o violetas y su labelo suele tener manchas de tono violeta con algunas manchas de color amarillo o blanco. No se conoce su lugar de origen, pero también tuvo presencia en Inglaterra, esta orquídea se desarrolla en varios estados del sur

de México y en el Caribe (Halbinger & Soto, 1997).



Imagen 6. *Laelia rubescens*. (Internet Orchid Species Photo Encyclopedia, s.f.). Se consultó el 15 de junio de 2022.

1.5.6. *Notylia barkeri*

Se encuentra en muchos Estados de México como Jalisco, Chiapas, Veracruz y Tabasco; crece cerca de zonas donde se producen naranjos, que tengan suficiente luz y poca sombra para poder desarrollarse (Hernández Orta et al., 2019). Es una orquídea que se encuentra en ramas delgadas de los árboles, sus flores son pequeñas de color verde con blanco y puede haber más de 20 por racimo, además de que se encuentran floreciendo por casi todo el año. Es una orquídea con un olor particular, que ayuda a tener una polinización regular ya que atrae a las abejas (Hernández, 2009).



Imagen 7. *Notylia barkeri* (Internet Orchid Species Photo Encyclopedia, s.f.). Se consultó el 15 de junio de 2022.

1.5.7. *Vanilla planifolia*

El género *Vanilla* se conforma por más de 100 especies que se distribuyen de manera silvestre en el sur de México y el Caribe, estas especies se caracterizan por su aroma. *Vanilla planifolia* se encuentra en bosques tropicales de México. La orquídea tiene un tallo de verde oscuro que llega a una longitud de 15 centímetros. Las hojas de la *Vanilla* son planas y ovales que tienen a una longitud en promedio de 20 centímetros. Su fruto es una cápsula larga, en su interior tiene semillas negras (Baltazar Nieto, 2010).



Imagen 8. *Vanilla planifolia*. (Internet Orchid Species Photo Encyclopedia, s.f.). Se consultó el 15 de junio de 2022.

1.6. Orquídeas que habitan fuera de Veracruz utilizadas en el proyecto

1.6.1. *Sobralia bouchei*

Sobralia es un género de orquídea del cual se han hecho estudios sobre sus nuevas especies como las que se encuentran en Costa Rica. Se desarrollan en bosques tropicales en lugares con mucha sombra, sus raíces están cubiertas de velamen, (una capa de celular muertas para protegerlas), no tienen pseudobulbos y sus flores son grandes de forma redonda con tonos morados (Baranow et al., 2017). Sin embargo, es un género difícil de describir porque es escasa la información taxonómica ya que no se ha tenido el material suficiente para los estudios morfológicos (Baranow et al., 2017).



Imagen 9. *Sobralia bouchei* (Internet Orchid Species Photo Encyclopedia, s.f.). Se consultó el 15 de junio de 2022.

1.6.2. *Pholidota chinensis*

Es una orquídea epífita con origen en China, así que se encuentra en sus bosques con humedad máxima de 60 % y en zonas donde no le de mucha luz, por ende, su ambiente debe ser de una temperatura de 14 °C – 25 °C. Las características de esta orquídea es que sus pseudobulbos tienen una pequeña separación de su rizoma con una forma ovoide, suelen tener de 20 flores que sus pétalos son de color blanco con sépalos lanceolados (Xinqi et al., 2009). Se ha usado esta especie para estudios en medicina por sus propiedades para calmar dolores, así que es una especie con gran importancia medicinal (Luo et al., 2018).



Imagen 10. *Pholidota chinensis* (Internet Orchid Species Photo Encyclopedia, s.f.). Se consultó el 15 de junio de 2022.

2. Planteamiento del problema

La diversidad de orquídeas que se encuentran en Veracruz es mayor a 1,000 especies, a pesar de que no se han identificado todas las orquídeas localizadas en bosques (Krömer et al., 2010). Hay que agregar que estas plantas tienen una manera singular de atraer a la investigación por sus hermosos colores, formas de pétalos, tamaños y hábitos de crecimiento que se diferencian de otras plantas (Murguía et al., 2016). Es por esas razones que se puede encontrar investigaciones previas acerca de descripciones sobre los ambientes donde se ubican y descripciones generales sobre las especies, como el hallazgo de *Cypripedium molle* y *Goodyera brachyceras* en Río Blanco (Vargas-Rueda et al., 2019).

El interés en las orquídeas ha sido muy diverso con enfoques económicos y aprovechar el potencial de las orquídeas como planta de ornato, también existen un enfoque para estudiar la relación con sus polinizadores ya que es muy interesante cómo ocurre esa interacción (Liu et al., 2014). Sin embargo, son escasos los estudios de su relación evolutiva, ya que se pueden encontrar pocos estudios en países europeos y asiáticos donde buscan entender su relación o el origen de esta familia (Liu et al., 2014).

Es por lo que en este proyecto se busca fomentar la información acerca de las relaciones evolutivas de las orquídeas para entender mejor la historia de esta familia tan peculiar. El conocer la filogenia de las orquídeas ayudaría a explicar las características que tiene en común y cómo esto se relaciona con otras plantas, polinizadores o su ambiente. Información valiosa que aportará conocimiento para realizar proyectos futuros.

En el proyecto se busca contestar preguntas cómo son:

¿Qué especie da origen a las orquídeas en la zona centro del Estado de Veracruz?

¿Qué parecidos físicos tienen las orquídeas en la región?

¿Comparten características entre especies de este clado?

De esta manera, se busca conocer el origen de la diversidad de orquídeas en el Estado. Para poder llevar a cabo este proyecto se realizó un análisis con un grupo de especies que habitan en Veracruz considerando los datos que se encuentran en la base de datos el NCBI (Centro Nacional de Información Biotecnológica, por sus siglas en inglés).

Para entender la relación evolutiva de las orquídeas en el país y cómo fue la segregación por la que pasaron y formar diferentes especies de orquídeas, también, se puede comprender la ecología de esta familia y los rasgos físicos o del entorno que compartan las especies en el Estado de Veracruz, o su presencia en otras partes; por último, es una manera de contribuir a la información de las orquídeas que se conoce en nuestro país y que puedan surgir más proyectos.

Hay que considerar que no se encuentra mucha información acerca del origen de orquídeas en México, ni de algunas orquídeas que se encuentran en el Estado de Veracruz. Así que este proyecto se considera como una de las primeras investigaciones que trata de dar una respuesta al origen de *Vanilla planifolia* y su relación evolutiva con otras orquídeas que habitan en ambientes similares

3. Justificación

Conocer el origen de cualquier especie de planta nos da los datos necesarios para comprender su relación con otros organismos en el mundo y cómo sus características son una forma de adaptación a la zona donde crecen. Por eso, estudiar el origen evolutivo de las orquídeas brinda información para entender las relaciones de las características físicas que tienen y cómo estas ayudan con su relación con polinizadores y con el ambiente. Además de que con la ayuda de otras ramas de la ciencia se puede analizar su historia molecular (Zhang et al., 2018).

El proyecto busca aportar datos para el estudio de las orquídeas, así que se escogieron especies de orquídeas que se distribuyen por el Estado de Veracruz ya sea porque son endémicas del estado o porque se cuenta con un registro de que habitan en el Estado por las condiciones ambientales óptimas para su desarrollo, además de considerar especies que se dan fuera de Veracruz y especies fuera de México para examinar su cercanía con *Vanilla planifolia*.

Al carecer de información previa que explique la relación de origen en las orquídeas ubicadas en Veracruz, este sería el primer proyecto que trate de explicar la relación entre especies de orquídeas distribuidas en la parte centro y sur del Estado y que brinde información para entender cómo se han ido segregando las diferentes especies de orquídeas y cómo cambian algunas características físicas dependiendo si existe alguna relación entre los clados.

Con los resultados obtenidos de los árboles filogenéticos sobre los clados, se procedió a realizar una comparación de algunas características físicas entre las orquídeas escogidas como el color y forma de los pétalos o rasgos que se puedan apreciar fácilmente, para comprobar si tiene algún parentesco con *Vanilla planifolia* además de se analizaron las condiciones ambientales donde se desarrollan para conocer cuáles son los parámetros para su desarrollo.

La información será de interés para la evolución en plantas y para la conservación en las orquídeas, pues esta familia tiene especies en peligro de extinción y conociendo la relación de algunas especies se puede realizar procedimientos de conservación (Chugh & Rao, 2009). Además, da la oportunidad de realizar más comparaciones filogenéticas con orquídeas de otros países o continentes para enriquecer los conocimientos sobre las orquídeas y saber si hay algunas especies relacionadas con orquídeas que se encuentren en otros continentes.

4. Objetivos

4.1. Objetivo general:

Analizar la relación evolutiva entre los taxones escogidos de orquídeas con *Vanilla planifolia*.

4.2. Objetivos específicos:

1. Determinar la filogenia de especies de orquídeas que se encuentran en el Estado de Veracruz con *Vanilla planifolia*.
2. Identificar las características físicas que comparten las orquídeas más cercanas a *Vanilla planifolia*
3. Determinar si *Vanilla planifolia* es la orquídea que originó a las demás especies que se encuentran en Veracruz.

5. Materiales y métodos

5.1. Recolección de datos

Se escogieron especies de orquídeas dentro de la base de datos del NCBI que contaran con los siguientes marcadores: Ycf1, Matk, psbA-trnH y trnL- trnF. En la Tabla 1 se muestran los nombres de las orquídeas que se eligieron para el proyecto, con el ID de la secuencia para los marcadores plastídicos (*Ycf1*, *Matk*, *psbA-trnH* y *trnL-trnF*).

Tabla 1. Nombre de las especies de orquídeas utilizadas para el proyecto con el ID de la secuencia de acuerdo con el marcador en la especie.

número	Especie	Marcadores plastidios			
		ycf1	matk	TRNL-TRNF	psbA-trnH
1	<i>Bletia purpurea</i>	EU490722.1	EU490678.1	AY008451.1	MH621803.1
2	<i>Erycina echinata</i>	FJ562510.1	AF350616.1	AF350695.1	FJ564063.1
3	<i>Hintonella mexicana</i>	FJ562874.1	DQ315890.1	DQ315918.1	FJ564237.1
4	<i>Ionopsis utricularioides</i>	FJ562470.1	AF350625.1	AF350704.1	FJ564022.1
5	<i>Laelia anceps</i>	KR908936.1	AF263794.1	AF267021.1	KR908819.1
6	<i>Laelia rubescens</i>	KR908946.1	EU214368.1	KM385961.1	KR908828.1
7	<i>Notylia barkeri</i>	FJ563142.1	AF350624.1	AF350703.1	FJ563998.1
8	<i>Oncidium sphacelatum</i>	FJ562574.1	AF350643.1	AF350722.1	FJ564129.1
9	<i>Vanilla planifolia</i>	JN181530.1	AJ581443.1	AY557223.1	MF348723.1

Para hacer una comparación se utilizaron especies de orquídeas que se encuentran fuera de México para entender la relación con *Vanilla planifolia* y las otras especies que se encuentran en el Estado de Veracruz (Tabla 2).

Tabla 2. Nombre de las especies de orquídeas utilizadas para el proyecto con el ID de la secuencia de acuerdo con el marcador en la especie

número	Especie	Marcadores plastidios	
		ycf1	matk
1	<i>Bletia purpurea</i>	EU490722.1	EU490678.1
2	<i>erycina echinata</i>	FJ562510.1	AF350616.1
3	<i>hintonella mexicana</i>	FJ562874.1	DQ315890.1
4	<i>Ionopsis utricularioides</i>	FJ562470.1	AF350625.1
5	<i>Laelia anceps</i>	KR908936.1	AF263794.1
6	<i>Laelia rubescens</i>	KR908946.1	EU214368.1
7	<i>Notylia barkeri</i>	FJ563142.1	AF350624.1
8	<i>Oncidium sphacelatum</i>	FJ562574.1	AF350643.1
9	<i>vanilla planifolia</i>	JN181530.1	AJ581443.1
10	<i>Sobralia bouchei</i>	EU490781.1	EU490708.1
11	<i>Bulbophyllum viguieri</i>	MN619244.1	MN618761.1
12	<i>Pholidota chinensis</i>	MN889927.1	KF361635.1

5.2. Alineación de secuencias

Las secuencias que se seleccionaron (Tabla 1 y 2) se colocaron en el programa de *ClustalX2* se analizó la cantidad de espacios que había entre ellos para saber si las secuencias tenían un nivel de calidad alto o no. Para el alineamiento se utilizó *Gblocks* para eliminar los espacios mejorando la condición del alineamiento.

5.3. Método del mejor modelo

Se hizo esta prueba para obtener el mejor modelo a utilizar para cada marcador en el programa *JModelTest*, Los resultados se muestran en la Tabla 3, y se tomó la información para la construcción de los árboles filogenéticos.

5.4. Construcción de árboles filogenéticos

Para las secuencias con los marcadores Ycf1, Matk, trnL-trnF y psbA se construyeron los árboles con el método de máxima verosimilitud en *MrBayes* el análisis se hizo con 50 000 000 de generaciones. Con el archivo de salida que proporciona el programa se colocó en *FigTree* para tener la construcción del árbol filogenético de cada marcador y la concatenación de todos.

5.5. Comparación de características físicas

Con los resultados de las filogenias se hizo una comparación visual sobre las características físicas que comparten las especies que se relacionaron y se analizó qué tan cercana es la relación de las especies escogidas con *Vanilla planifolia*.

6. Resultados

6.1. Recolección de datos

Se buscó información sobre orquídeas que se encuentran en el Estado de Veracruz, para ello, se analizaron diferentes artículos, libros y se preguntó a personas que se dedican a la venta y cultivo de orquídeas. Se procedió a hacer una búsqueda en la plataforma del NCBI de las especies seleccionadas que contarán con los cuatros marcadores *ycf1*, *Matk*, *psbA-trnH* y *trnL- trnF* para evitar resultados no favorecedores.

6.2. Alineación de secuencias

Las secuencias de las Tablas 1 y 2 se colocaron en el programa de *ClustalX2* y se analizó la cantidad de las secuencias, al contar con zonas con varios espacios y bajar el nivel de calidad, se colocaron en Gblocks para limpiar las secuencias y aumentar su calidad. Los marcadores que mostraron mejor calidad fueron *Matk*, *psbA-trnH* y *trnL-trnF* y *Ycf1* mostró que las secuencias tenían varios espacios, del mismo modo, al concatenar los marcadores no existía mucho material que coincidiera. Se necesita que los archivos de salida del programa sean en formato *(.nxs)* para que se puedan utilizar en el programa *MrBayes*.

6.3. Método del mejor modelo

Se utilizó el programa *JModelTest* donde se analizó cada marcador con las orquídeas dentro y fuera de Veracruz. Las condiciones de programación fueron iguales para todos los marcadores, así que se cargó el formato de salida *(.phy)* en la plataforma de *JModelTest* y de acuerdo con el método marcado en la sección de AIC se colocó en la Tabla 3.

Tabla 3. Resultados del método del mejor modelo para los 4 marcadores utilizados.

Método del mejor modelo			
Especies dentro de Veracruz		Especies fuera de Veracruz	
Marcador	Mejor modelo	Marcador	Mejor modelo
YCF1	TPM1uf+I	YCF1	TPM1uf+G
Matk	TIM1+G	Matk	TPM1uf+I
psbA	TPM1uf+G	psbA	-
trnL-trnF	TIM1+G	trnL-trnF	-
Todos	TPM1uf+I	Todos	-

Tabla 3. Método del mejor modelo. En esta tabla se muestran los resultados de los marcadores en *ModelTest*, los marcadores con “-” no cuentan con secuencias para su estudio al momento de realizar el proyecto. la sección “todos” se refiere al conjunto de los marcadores.

6.4. Construcción de árboles filogenéticos

La construcción de los árboles filogenéticos se hizo en el programa de *MrBayes*, donde se subió el archivo (*nexus*), se programó para un análisis de 50 000 000 de generaciones y se marcó el mejor modelo para cada marcador. Al finalizar el análisis el archivo de salida se colocó en FigTree para graficar el árbol filogenético de cada marcador. A continuación, se muestran los resultados.



Figura 1. Árbol filogenético con el marcador *Ycf1* de las especies de orquídeas que se encuentran en Veracruz.

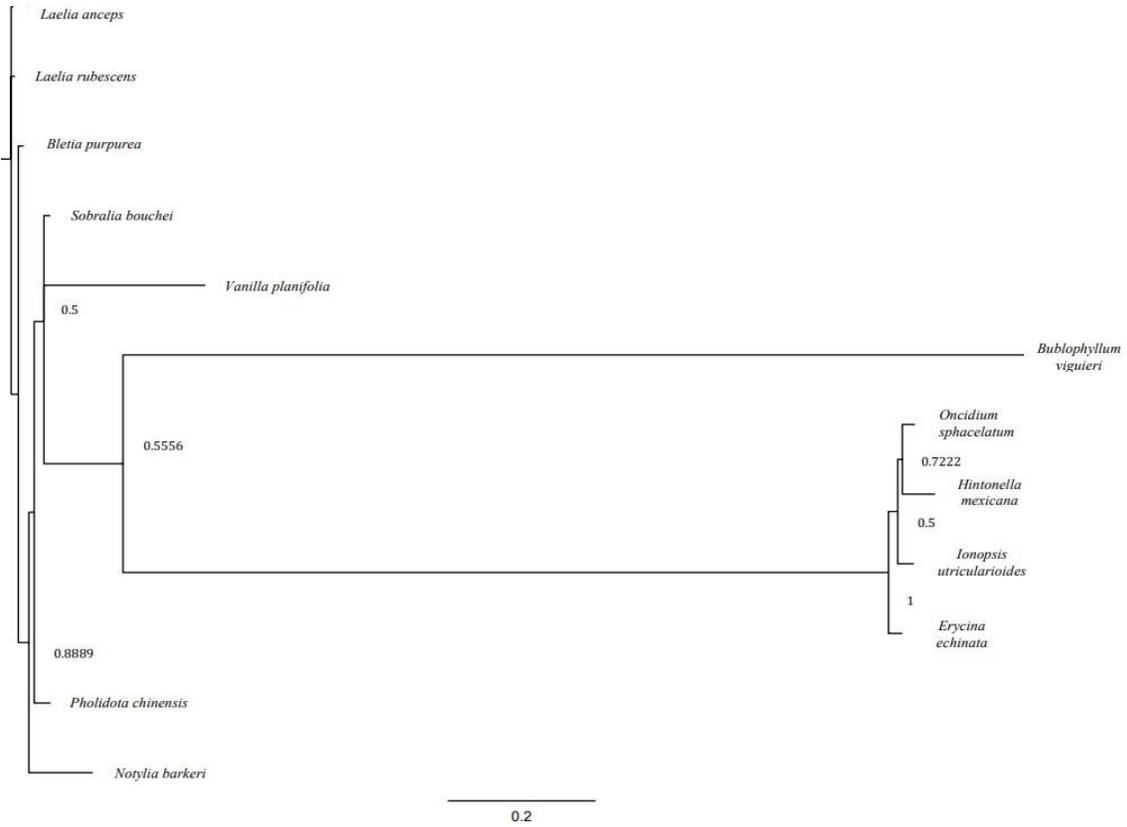


Figura 2. Árbol filogenético con el marcador *Ycf1* de las especies de orquídeas que se encuentran dentro y fuera de Veracruz.

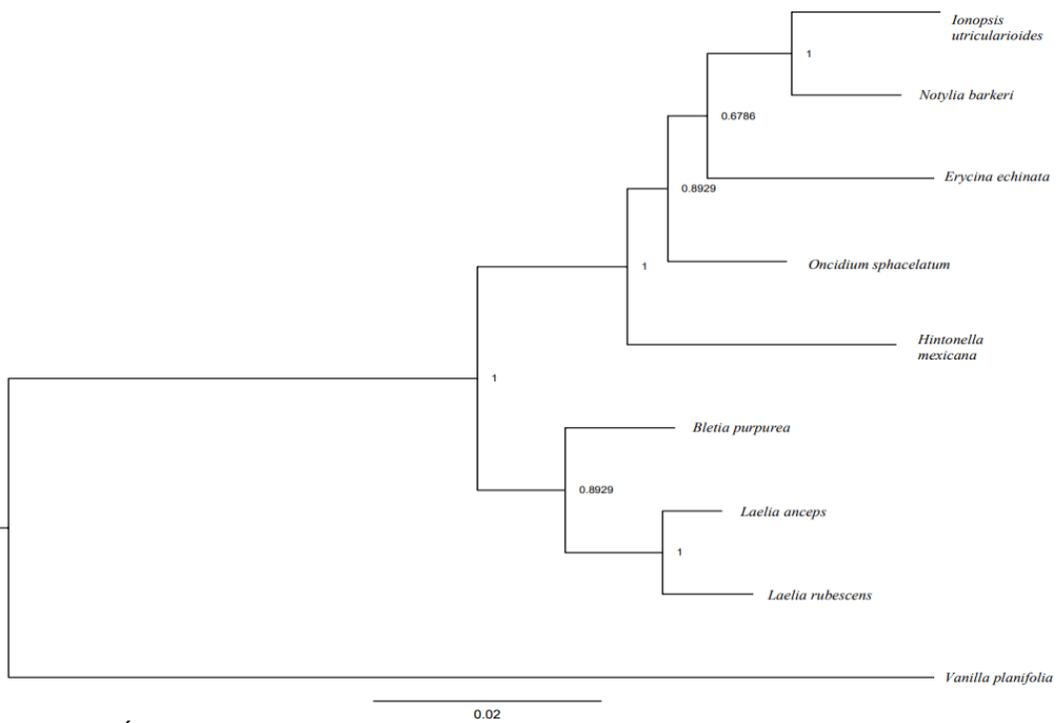


Figura 3. Árbol filogenético con el marcador *matk* de las especies de orquídeas que se encuentran en Veracruz.

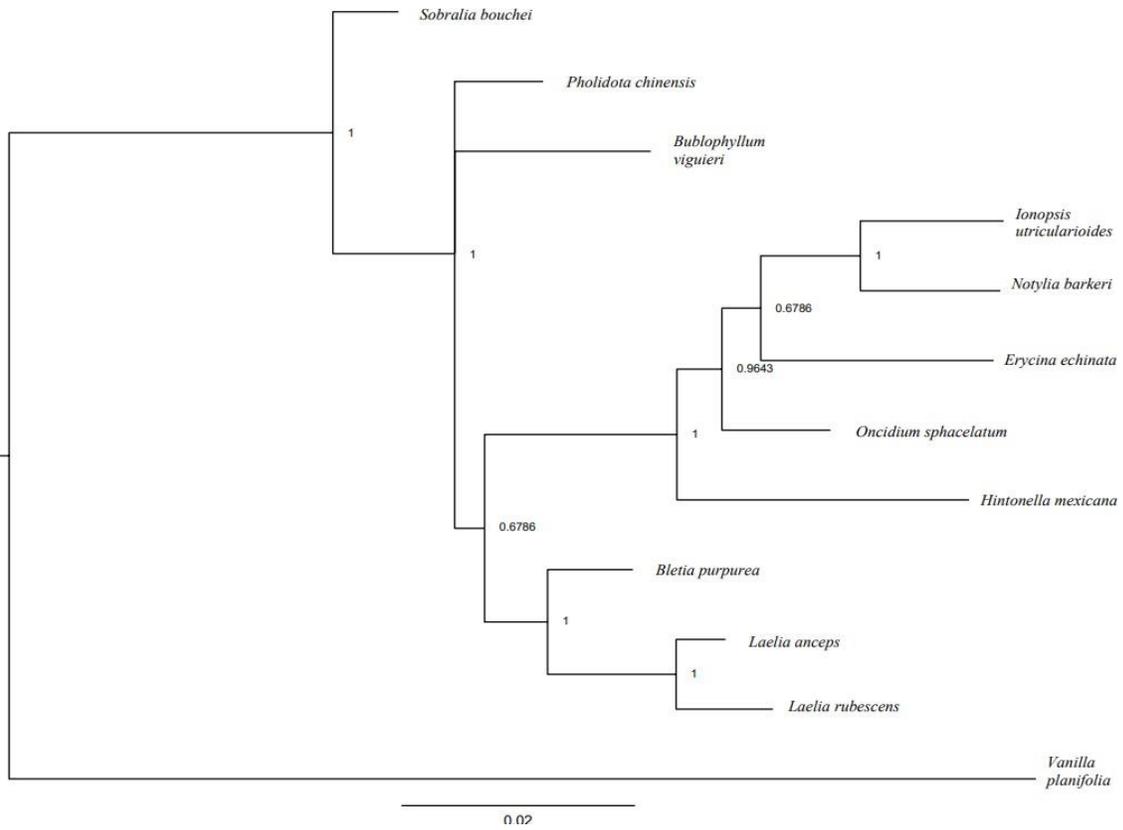


Figura 4. Árbol filogenético con el marcador *Matk* de las orquídeas que se encuentran en Veracruz y especies fuera del país.

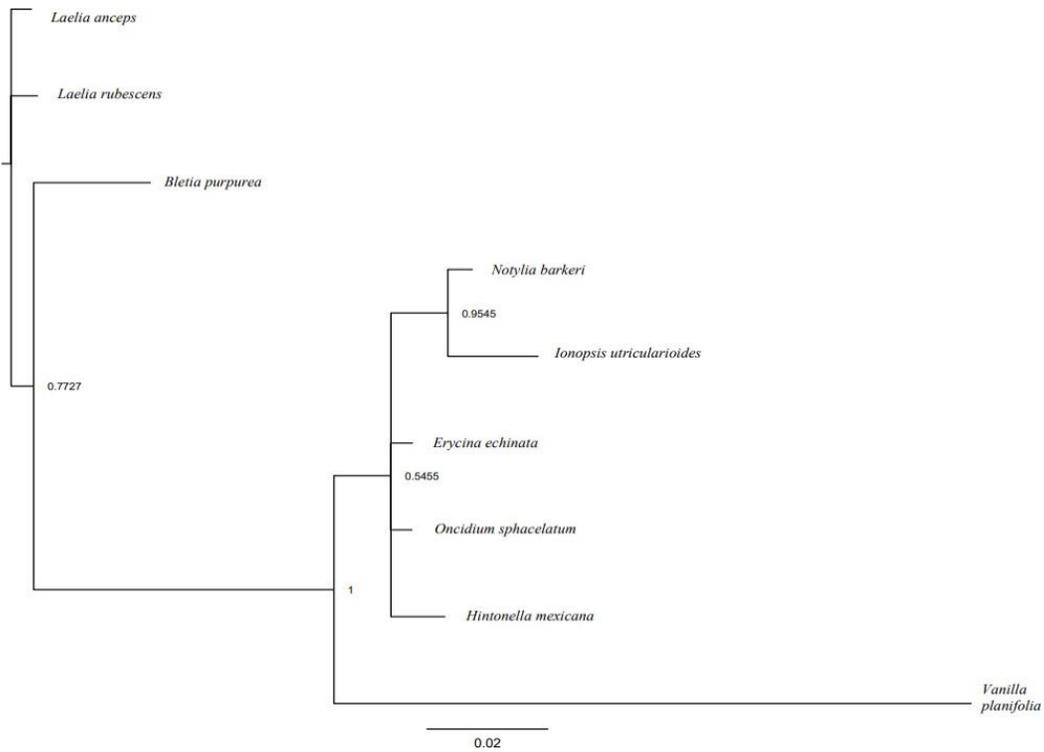


Figura 5. Árbol filogenético con el marcador de *psbA* las orquídeas que se encuentran en Veracruz.

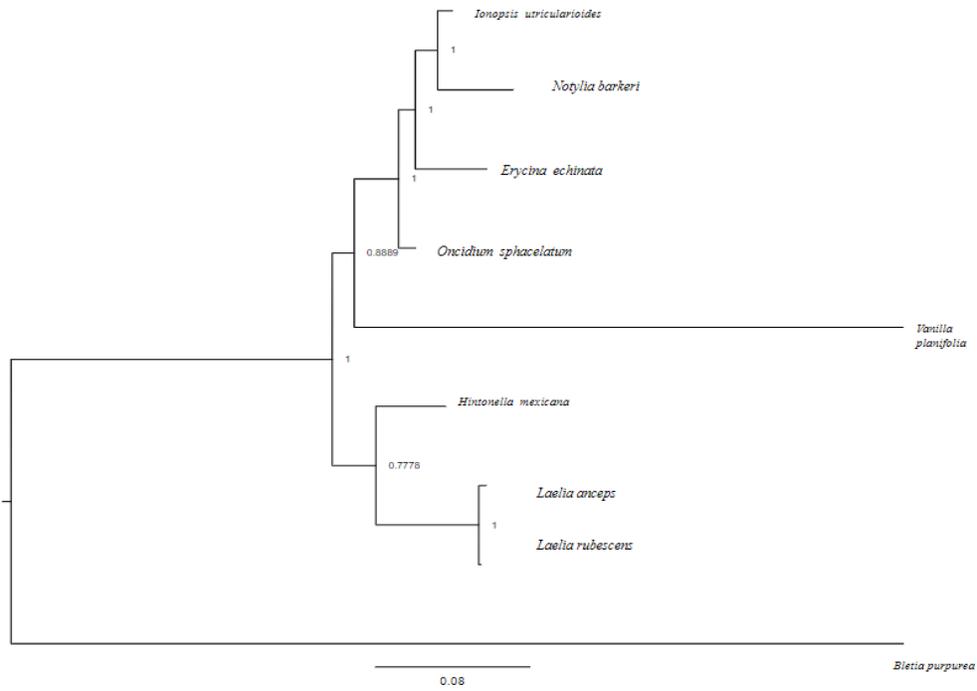


Figura 6. Árbol filogenético con el marcador trnL-trnF de las especies de orquídeas que se encuentran en Veracruz.

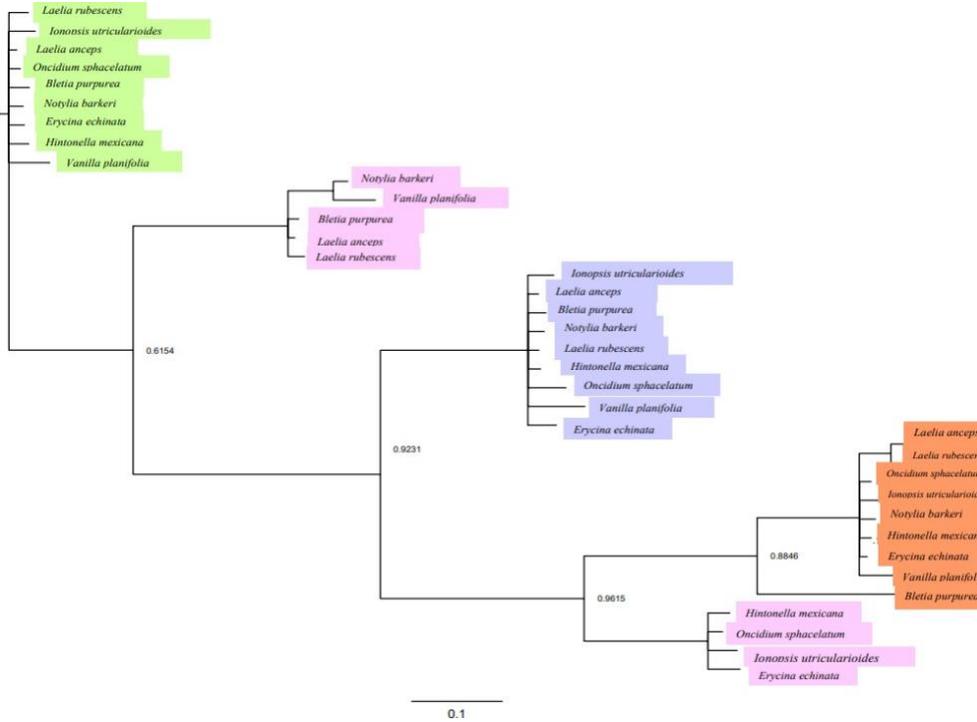


Figura 7. Árbol filogenético con la concatenación de todos los marcadores de las especies de orquídeas que se encuentran en Veracruz.

7. Discusión

7.1. Alineamiento en *ClustalX2*

Los resultados de los alineamientos con los diferentes marcadores mostraron que las secuencias no se alineaban en las primeras y últimas posiciones, es por ello por lo que se recurrió a Gblocks para eliminar aquellos espacios y contar con una mejor calidad de alineamientos. Las secuencias con los marcadores *Matk*, *psbA* y *trnL* fueron las que mejor calidad mostraron ya que eran mínimo los espacios que se presentaban. Por otro lado, las secuencias del marcador *ycf1* con especies de Veracruz y en el exterior mostraron no tener buen alineamiento como se puede ver en la figura del anexo.

Se hizo un alineamiento de todos los marcadores juntos, pero se encontró con muchos espacios al principio y al final así que al utilizar Gblocks se quitaron tantos espacios que solo quedó las posiciones en las que coinciden. Así que los resultados son una muestra previa de cómo podría ser la relación entre las especies de acuerdo con el marcador, pero no se afirma que sea de ese modo, entonces en futuros proyectos se puede hacer mejoras con las especies a utilizar y los marcadores.

Durante la búsqueda de secuencias se seleccionó el marcador *trnD* que mostró la mejor calidad de las secuencias en el alineamiento; el problema que se presentó al utilizar este marcador es que no todas las especies de orquídeas contaban con él en la plataforma del NCBI. Se espera que en un futuro aumente la investigación en especies de orquídeas así se podría utilizar este marcador para reafirmar los datos de esta investigación.

7.2. Método de mejor modelo

Para obtener el mejor modelo se utilizó JModelTest en cada marcador, dando como resultados los siguientes: en *Matk* con solo especies de Veracruz se utilizó TIM1+G y con especies fuera del Estado se utilizó TPM1uf+I, con el marcador *Ycf1* que solo cuenta especies de Veracruz fue TPM1uf+I y con especies fuera del Estado TPM1uf+G, con el marcador *psbA* se usó TPM1uf+G, con el marcador *trnL-trnF* se utilizó TIM1+G y con la concatenación de todos los marcadores se utilizó TPM1uf+I.

Estos modelos no se encuentran en el programa de MrBayes, Se sustituyó el modelo con GTR para abarcar mayores posibilidades como la frecuencia de las bases, así se utilizó el número que representa al modelo, esto se menciona para consideración en los resultados del proyecto y tener en cuenta por si esta situación provoca variaciones. Además, en el programa se construyeron los árboles considerando entre 50 a 60 millones de generaciones en el análisis de los diferentes marcadores, con el fin de obtener una probabilidad de 0.01.

Un problema que se presentó es que, aunque se aumentaran las generaciones en 3 marcadores los resultados no llegaron a la probabilidad de 0.01 quedando en rangos de 0.09 a 0.05, sólo con el marcador *psbA* se logró llegar a 0.01 en 50,000,000 de generaciones. Se desconoce la razón por la que sucede esto, se intentó aumentar el número de generaciones, pero no tuvo éxito la prueba, dando como resultados mayores probabilidades.

7.3. Árboles filogenéticos

Cuando se hizo la construcción de los árboles filogenéticos se utilizó el archivo de salida. Tree de MrBayes en el programa de FigTree. Los resultados son variables entre los marcadores a pesar de utilizar las mismas especies en todos los marcadores. Solo hay dos árboles filogenéticos con más especies debido a que se crearon para analizar si existe una relación de *Vanilla planifolia* con otras orquídeas que crecen en otros países. Los resultados de los árboles filogenéticos fueron los siguientes:

El marcador *Ycf1* (Figura 1) con especies solo del Estado de Veracruz muestra tres ramificaciones en el que se encuentra *Notylia barkeri*, *Vanilla planifolia* de manera independiente y la última sección se muestra a *Bletia purpurea* con relación a las *Laelias*; se muestra una ramificación donde se encuentra el resto de las especies, esta rama representa que pasaron varios años para obtener la relación debido a que hay una distancia con las otras especies. Se considera que estos resultados pueden ser ambiguos porque en el alineamiento algunas secuencias no coincidían con el resto.

El marcador *Matk* (Figura 3) se señalan 2 ramificaciones en una está *Vanilla planifolia* y la otra lleva a una división donde podemos observar dos grupos en él se encuentran divididas las orquídeas, el primero lleva a la relación de *Bletia purpurea* con las *Laelias*; en el siguiente grupo se encuentran el resto de las orquídeas relacionadas en cadena, *Oncidium sphacelatum* y *Erycina echinata* se encuentra cerca al igual que con el marcador *Ycf1*. Entonces con estos dos marcadores podemos verificar que las relaciones de orquídeas que permanecieron pueden ser por los colores y formas que comparten de los pétalos.

El marcador *psbA* (Figura 5) las orquídeas *Bletia purpurea* y las *Laelias* se encuentran en ramificaciones independientes pero muy cerca, del punto donde surge *Bletia* hay otra rama que lleva al resto de orquídeas donde su relación permanece como en los marcadores anteriores. Podemos verificar que *Hintonella mexicana* y *Oncidium sphacelatum* mantienen su relación por la forma de los pétalos, las otras orquídeas mantienen su relación por ser del mismo género y por compartir un color similar en los pétalos; *Ionopsis utricularioides* y *Notylia barkeri* muestran una cercanía, es posible que sea porque sus flores son en grupo a diferencia de las otras orquídeas.

En el caso del marcador *trnL-trnF* Figura 6 el árbol filogenético presento la misma cercanía entre especies como en los árboles anteriores pero su relación se representa de forma diferente; por mencionar, el caso de *Oncidium sphacelatum* y *Erycina echinata* se encuentran cerca, pero en ramificaciones diferentes además de estar alejadas de *Hintonella mexicana* que en los otros casos se encontraban muy cerca. Lo mismo ocurre con la representación de las *Laelias* y *Bletia purpurea*. También, se debe mencionar que *Vanilla planifolia* se encuentra relacionada con *Oncidium* y *Erycina* esto puede ser por la presencia del color amarillo en sus pétalos.

En los árboles filogenéticos donde se agregaron especies que suelen crecer en otros países con el marcador *Matk* (Figura 4) muestran que las especies del exterior tienen una relación con las orquídeas que crecen en Veracruz y a *Vanilla planifolia* se le muestra en una ramificación independiente al resto, mientras que, con el marcador *ycf1* (Figura 2) parece que *Vanilla planifolia* tiene una aproximación con *Sobralia bouchei* y *Pholidota chinensi*. Al estar muy disperso los resultados se propone realizar una comparación con las mismas especies, pero otro marcador, al momento de realizar este proyecto no se contaba con datos de un marcador *psbA* o *trnL* de las especies del exterior.

Finalmente, la (Figura 7) muestra la relación de todos los marcadores juntos donde se puede apreciar que el color verde representa al marcador *psbA*, el color rosa el marcador *ycf1*, el naranja el marcador *trnL-trnF* y el morado el marcador *Matk*. Se aprecia que *ycf1* se divide en la filogenia donde *Hintonella mexicana*, *Lonopsis utricularioides*, *Erycina echinata* y *Oncidium sphacelatum* se relacionan con las especies del marcador *Matk*.

7.4. Comparación de características físicas

Las características físicas que comparten las orquídeas utilizadas con *Vanilla planifolia* son pocas, esto puede ser porque tienen diferente forma, tamaños y colores en los pétalos; se encuentra más fuerte la relación de orquídeas que comparten alguna de las características mencionadas. Por ejemplo, las orquídeas como *Notylia barkeri* o *Lonopsis utricularioides* se encuentran lejos de *Vanilla planifolia* debido a que sus flores son muy diferentes. No obstante, no se puede afirmar que sean las únicas características que determinan la relación de las plantas.

Tal vez existan características del medio ambiente o genéticas que participan en la determinación de la relación, podemos notar que en los árboles que se obtuvieron en este proyecto *Vanilla planifolia* tiene mayor relación con *Bletia purpurea* y las orquídeas del género *Laelia*, que tampoco

tiene colores o formas similares en los pétalos así que no aplica lo dicho en el párrafo anterior. Es posible que sean otros genes los que provoquen la relación entre las especies, pero no es posible saberlo por la falta de estudios en orquídeas.

8. Conclusiones

El proyecto abre la puerta a más estudios filogenéticos de orquídeas en México, debido a que es el primer trabajo que propone las relaciones evolutivas tomando un grupo de especies del Estado de Veracruz y con este ejemplo se pueden desarrollar propuestas para especies de otros Estados o del continente. Sin embargo, hay que considerar que la información de orquídeas en la NCBI sobre marcadores que se pueden utilizar son escasos; esto dificulta incrementar la comparación con más especies.

Existen varios temas dentro de las ramas de la investigación que contribuyan al estudio de la evolución que en conjunto contribuyen al conocimiento acerca de una familia de organismos y su relación con otros. En trabajos evolutivos se debe considerar hacer énfasis en propuestas para la conservación con estudios moleculares, de descripción ecológica, conservación de semillas y su relación entre especies. En el caso de este proyecto, se trató de conocer su relación entre características físicas, así que se analizó los resultados de cada objetivo:

8.1 Determinar si *Vanilla planifolia* es la orquídea que originó a las demás especies que se encuentran en Veracruz.

Los resultados de las filogenias hechas en este proyecto son una propuesta de cómo es la relación entre las especies seleccionadas, no podemos afirmar que *Vanilla planifolia* es la orquídea de la cuál surgieron otras especies en el Estado de Veracruz. Pues faltan datos que pueden afectar esta relación, como las especies que no se seleccionaron o las especies que aún no se investigan. Se espera que se desarrollen más estudios de las diferentes orquídeas para utilizar su ADN en estudios de este tipo y mejorar la calidad de los árboles filogenéticos.

Se puede apreciar que las orquídeas de la familia *Bletia* y *Laelias* mantienen una relación en los árboles filogenéticos. También otras orquídeas como *Hintonella* e *Ionopsis* se mantienen cerca en las ramas de cada marcador. El utilizar otras especies que se encuentran en Asia, sirvió para

analizar si *Vanilla planifolia* tiene una cercanía con las especies foráneas o las especies que se encuentran en su entorno. No obstante, los resultados fueron de bajo impacto ya que las relaciones con las especies muestran que *Vanilla planifolia* se encontraba en ramificaciones independientes a las orquídeas de Asia de acuerdo con los marcadores (*ycf1* o *Matk*).

8.2. Determinar la filogenia de especies de orquídeas que se encuentran en el Estado de Veracruz con *Vanilla planifolia*

En el proyecto se utilizaron especies que se encuentran en Veracruz, excluyendo a las orquídeas que no son endémicas del Estado. Otra razón, es porque se utilizaron las especies que tuvieran los mismos marcadores, así no existiera un cambio en el árbol filogenético por la presencia de una especie con otro marcador. Si en un futuro hay más información de otras especies se podría realizar de nuevo el estudio para que se haga cada vez más específico.

Los resultados de los árboles filogenéticos son variables cuando se comparan entre marcadores, a pesar de que se mantienen cerca las mismas especies se presentan en ramificaciones diferentes cambiando su posición. Existen algunas alternativas que mejoren los resultados para entender la relación de las orquídeas que se presenta en el proyecto, además hubo presencia de algunos problemas ya mencionados, que es posible que en proyectos futuros los consideren para ser más específicos.

8.3. Identificar las características físicas comparten las orquídeas más cercanas a *Vanilla planifolia*

El análisis en los árboles filogenéticos muestra que las especies que se relacionan comparten algunas características como pertenecer al mismo género, en otras orquídeas el color y la forma de los pétalos y en otras por la cantidad de flores que producen. Probablemente se necesita una comparación de más características a fondo para especificar el parecido entre las especies, pero esto depende de estudios genéticos de cada orquídea que se utilice. Es por eso por lo que no es posible con los datos obtenidos comprobar la hipótesis.

8.4. Alcances y delimitaciones

Se espera que con este proyecto se dé una explicación acerca del origen de las orquídeas en Veracruz, porque se busca que la relación de las especies escogidas con *Vanilla planifolia* demuestren el origen de la presencia de orquídeas en el Estado. De igual importancia, se busca

ampliar la información evolutiva de las orquídeas en México y proporcionar datos de acuerdo con la comparación de rasgos físicos que se analizaron en el proyecto. Se espera que este proyecto, fomente el interés por nuevos estudios ecológicos, tomar como sugerencia las orquídeas utilizadas para más análisis filogenéticos y proponer otra especie para el origen.

Por otro lado, existen limitaciones en el proyecto como: Las pocas especies que cuentan con secuencias en la plataforma del NCBI, además de no contar con todos los marcadores; dificultan la amplitud de especies que habitan en Veracruz y conocer la relación entre todas ellas. Es entendible la situación ya que aún hay orquídeas de forma silvestre que no se han nombrado; por lo que suena complicado encontrar el origen de las orquídeas. Otro rasgo importante, es contar con las especies elegidas de manera física para comparar más rasgos como el hábito de crecimiento, forma de raíz, hojas, etc. que nos brinden datos sobre por qué se relacionan.

9. Bibliografía

1. American Orchid Society-AOS (1988), Manual sobre el cultivo de las orquídeas. Florida pp5-18.
2. Chugh, S., Guha, S., & Rao, I. U. (2009). Micropropagation of orchids: A review on the potential of different explants. *Scientia Horticulture*, 122(4), 507–520.
3. Baltazar Nieto, P. (2010). *Caracteres morfológicos de vainilla (Vanilla planifolia J) utilizados por el agricultor en la selección de material reproductivo en cuatro municipios del Totonacapan, México* (Maestría en ciencias) Colegio de Postgraduados. 29-31.
4. Baranow, P., Dudek, M., & Szlachetko, D. L. (2017). *Brasolia*, a new genus highlighted from *Sobralia* (Orchidaceae). *Plant Systematics and Evolution*, 303(7), 853-871
5. Batista, AD, de Carvalho Freitas, CW, Peluzio, LE, da Paz, AA, & Maia, E. (2010). Caracterização da espécie *Ionopsis utricularioides* (Sw) Lindley 1926. *Revista Ponto de Vista*, 6 (1), 31-38.
6. Beutelspacher, C. R. & Moreno-Molina, I. (2013). Primer registro de *Hintonella mexicana* Ames, y *Erycinahyalinobulbon* (La Llave & Lex.) NH Williams & MW Chase (Orchidaceae) para Chiapas, México. *Lacandonia*, 7, 63-66.
7. Castillo-Pérez, L. J., Maldonado-Miranda, J. J., Alonso-Castro, Á. J., & Carranza-Álvarez, C. (2020). Efecto de 6-bencilaminopurina y nitrato de potasio sobre la micropropagación in vitro de *Laelia anceps subsp. anceps* (Orchidaceae). *Biotecnia*, 22(1), 32-38.
8. De, L. C., Vij, S.P., & Medhi, R. P. (2013). Post-Harvest Physiology and Technology in Orchids. *Journal of Horticulture*, 01(01), 102.
9. De la Rosa-Manzano, E., Andrade, J. L., Zotz, G., & Reyes-García, C. (2014). Epiphytic orchids in tropical dry forests of Yucatan, Mexico—Species occurrence, abundance and correlations with host tree characteristics and environmental conditions. *Flora-Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*, 209(2), 100-109.
10. Dressler Robert L. (1982). *The orchids natural history and classification*. Harvard University Press, Cambridge, 10-80.

11. Freuler, M. J. (2008). Orquídeas. Editorial Albatros. Buenos Aires. 7-12.
12. Givnish, T. J., Spalink, D., Ames, M., Lyon, S. P., Hunter, S. J., Zuluaga, A., ... & Cameron, K. M. (2016). Orchid historical biogeography, diversification, Antarctica, and the paradox of orchid dispersal. *Journal of Biogeography*, 43(10), 1905-1916.
13. Guerra Lu, J., & Huamaní Yupanqui, H. (1995). Caracterización edafoclimática del hábitat de las orquídeas. Instituto de Investigación de la Amazonia Peruana 9-18.
14. Halbinger, F. y Soto, M. (1997). Laelias de México. Orquídea (México, DF). Revista El Herbario, AMO. 15, 1-160.
15. Hernández, H. P. (2009). Análisis espacial retrospectivo de la polinización de dos especies de orquídeas miniatura: un modelo probabilístico (Tesis de Maestría en Ciencias) El Colegio de la Frontera Sur. Programa de posgrado.
16. Hernández-Orta, CA, Aguilar-Dorantes, KM, Morales-Linares, J., & Bertolini, V. (2019). New records of Orchidaceae Juss for the state from Hidalgo, Mexico. 15 (5), 827-832.
17. Jersáková, J., & Malinová, T. (2007). Spatial aspects of seed dispersal and seedling recruitment in orchids. *New Phytologist*, 176(2), 237-241.
18. Jonasson, S. (2015). Las orquídeas: engañosas joyas de nuestra flora. Monografies de la Societat d' Història Natural de les Balears, núm. 20. Govern de les illesbalears. Conselleria d'Agricultura Medi Ambient i Territori, ed. Llibre Verd de Protecció d'Espècies a les Balears. Palma de Mallorca: Servei de Reprografia Digita. Pp 49-58.
19. Krömer, T., Acebey, A. y Gómez Pompa, A. 2010. Atlas de la flora de Veracruz, un patrimonio natural en peligro. En: A. Gómez-Pompa, T. Krömer y R. CastroCortés (eds.). Gobierno del estado de Veracruz: Comisión del estado de Veracruz para la Conmemoración de la Independencia Nacional y la Revolución Mexicana: Universidad Veracruzana, México. pp
20. Liu, H., Luo, Y. B., Heinen, J., Bhat, M., & Liu, Z. J. (2014). Eat your orchid and have it too: a potentially new conservation formula for Chinese epiphytic medicinal orchids. *Biodiversity and Conservation*, 23(5), 1215-1228.
21. López-Selva, Quintana M. (2016). Orquídeas De Guatemala: Características Principales, EstatusDe Conservación y Generación de conocimiento en la URL. *Revista Eutopía*, 1(2), 205-216.
22. Rodríguez-López, T. R. (2016). La vainilla (*Vanilla planifolia*): perfume y sabor de México que

- conquistóal mundo: I: Historia de la vainilla. Desde El Herbario CICY, 8, 89-92.
23. Luo, D., Wang, Z., Li, Z., & Yu, X. Q. (2018). Structure of an entangled heteropolysaccharide from *Pholidota chinensis* Lindl and its antioxidant and anti-cancer properties. *International Journal of Biological Macromolecules*, 112, 921-928.
 24. McKendrick, S. 2000. Manual para la germinación in vitro de orquídeas. Ceiba Foundation for Tropical Conservation. 9 pp
 25. Menchaca García R. A., Moreno Martínez D. (2011). Manual para la propagación de orquídeas. CONAFOR, Coordinación General de Educación y Desarrollo Tecnológico. 293-298.
 26. Murguía, G.J. y Lee, E.H.E. 2007. Manual de producción de orquídea. Dirección General Editorial. Universidad Veracruzana. Xalapa, Veracruz, México. 88 p.
 27. Murguía-González J, Leyva-Ovalle O-R, Lee Espinoza H.E, Galindo Tovar M.E, Pardío Sedas V.T, Llarena Hernández R.C. (2016) Sistemas de producción de orquídeas en Veracruz, México. *Agroproductividad*. 9(6). 62-66.
 28. Palestina, R. AL., & Sosa, V. (2002). Morphological variation in populations of *Bletia purpurea* (Orchidaceae) and description of the new species *B. riparia*. *Brittonia*, 54(2), 99-111
 29. Ramírez, S. R., Gravendeel, B., Singer, R. B., Marshall, C. R., & Pierce, N. E. (2007). Dating the origin of the Orchidaceae from a fossil orchid with its pollinator. *Nature*, 448(7157), 1042-1045.
 30. Sarmah, D., Kolukunde, S., Sutradhar, M., Singh, B. K., Mandal, T., & Mandal, N. (2017). A review on: in vitro cloning of orchids. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 6(9), 1909-27.
 31. Serrano Flores, E. (2016). Morphogenesis in vitro de *Bletia purpurea* var *purpurea* (Lam) DC(Tesis de Maestría en Ciencias). Colegio de Postgraduados. 6-15.
 32. Tejeda-Sartorius, O. (2013). Las orquídeas de Tepexilotla, Chocaman, Veracruz. *Agro Productividad*, 6(3). 22-27.
 33. Tejeda-Sartorius, O., Téllez-Velasco, M.A.A, & Trejo-Téllez, L. (2017). Ornamental characteristics of wild orchids their propagation with commercial purposes and alternative of ex situ exploitation. *Agroproductividad*, 10, 37-45.
 34. Xinqi Chen, Liu Zhongjian, Guanghua Zhu, Kai-yung Lang, Zhanhe Ji, Yi-Bo Luo, Jin Xiaohua, Phillip J. Cribb, Jeffrey J. Wood, Stephan W. Gale, Paul Ormerod, Jaap J. Vermeulen, Howard P Madera, Dudley Clayton y Alexandra Bell. orquídeas. 2009. En Wu,

ZY, PH Raven y DY Hong, (eds). Flora de China. vol. 25. Science Press, Beijing y Missouri Botanical Garden Press, St. Louis.

35. Vargas-Rueda, A. F., Rivera-Hernández, J. E., Cházaro-Basáñez, M. D. J., & Alcántara-Salinas, G. (2019). Nuevos registros para la flora de Veracruz en el Parque Nacional Cañón del Río Blanco, México. *Acta Botánica Mexicana*, 126, 14-29.
36. Zhang, G. Q., Liu, K. W., Li, Z., Lohaus, R., Hsiao, Y. Y., Niu, S. C., ... & Liu, Z. J. (2017). The *Apostasia* genome and the evolution of orchids. *Nature*, 549(7672), 379-383.
37. Zhang, S., Yang, Y., Li, J., Qin, J., Zhang, W., Huang, W., & Hu, H. (2018). Physiological diversity of orchids. *Plant Diversity*, 40(4), 196-208.
38. Imagen 2-7, 9 y 10. Obtenidas de *Internet Orchid Species Photo Encyclopedia*. Revisado el 15 de junio de 2022 de www.orchidspecies.com
39. Imagen 8. Fotografía obtenida de Naturaleza tropical. 2018. Revisado el 15 de junio de 2022 de <https://naturalezatropical.com/orquidea-vainilla-vanilla-planifolia/>
40. Imagen 1. Fotografía obtenida de Menchaca R., 2009. La vainilla. En: Revista La ciencia y el hombre. Universidad Veracruzana XXII(I).