

## DIVERSIDAD Y ESTRUCTURA GENÉTICA DE *Asclepias contrayerba* SESSÉ Y MOC. (APOCYNACEAE: ASCLEPIADOIDEAE) EN MÉXICO

Rocío GUTIÉRREZ-CISNEROS<sup>1</sup>, Mariela MEZA-MENESES<sup>1</sup>, Cora VILLAMIL-CARRERA<sup>2</sup>, José Luis MARTÍNEZ-Y-PÉREZ<sup>3\*</sup>, Jorge GONZÁLEZ-ASTORGA<sup>4</sup> y Alba Mónica MONTIEL-GONZÁLEZ<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Licenciatura en Biología, Facultad de Agrobiología, Universidad Autónoma de Tlaxcala. Av. Himno Nacional s/n, Ixtacuixtla, Tlaxcala. C.P. 90120

<sup>2</sup> Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. Av. Universidad, Delegación Coyoacán, Ciudad Universitaria. México, D.F. C.P. 04510

<sup>3</sup> Centro de Investigación en Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Tlaxcala. Av. Himno Nacional s/n, Ixtacuixtla, Tlaxcala. C.P. 90120

<sup>4</sup> Laboratorio de Genética de Poblaciones, Red de Biología Evolutiva, Instituto de Ecología, A.C. Carretera antigua a Coatepec No. 351, Col. El Haya, Xalapa, Ver. C.P. 91070

\*Autor de correspondencia: jlmrpe@hotmail.com

(Recibido: octubre 2013; aceptado: septiembre 2014)

Palabras clave: *Asclepias contrayerba*, diversidad y estructura genética, México, uso tradicional

### RESUMEN

*Asclepias contrayerba* es una de las 250 especies conocidas para el género, que presenta su mayor distribución en el centro, en el noroeste y en el suroeste de México, tiene importancia en la medicina tradicional por la presencia de alcaloides en la raíz. El objetivo de esta investigación fue conocer la diversidad y la estructura genética de cinco poblaciones que se distribuyen en los estados de Tlaxcala, Jalisco y Guerrero, con la finalidad de conocer el efecto del uso tradicional en la pérdida de variación genética de la especie. Para obtener los estimadores genéticos, se utilizó la técnica de electroforesis en geles de almidón para 20 isoenzimas. La diversidad genética estimada muestra que el promedio de alelos por locus es  $A = 2.0$ , el porcentaje de loci polimórfico fue de 100 %, la heterocigosis esperada  $H_E$  fue de 0.413 y la observada  $H_O$  de 0.388, en tanto que el índice de fijación ( $F$ ) fue de 0.142. En cuanto a la estructura genética,  $F_{IT}$  fue de 0.205,  $F_{IS}$  fue de 0.089 y  $F_{ST}$  fue de 0.128. La diversidad genética global puede considerarse alta comparada con otras especies con los mismos atributos de historia de vida. Aunque en dos localidades, una en Tlaxcala y otra en Jalisco, las plantas tienen mayor heterocigosis, debido posiblemente al efecto de los polinizadores con distribución amplia. En tanto que las poblaciones de Guerrero y de Jalisco tienen mayor cantidad de plantas homocigotas, lo cual puede ser causado por algún fenómeno que limita la presencia de polinizadores. Finalmente, los resultados indican que el uso tradicional de la raíz no tiene influencia sobre la diversidad y estructura genética de la especie.

Key words: *Asclepias contrayerba*, diversity and genetic structure, Mexico, traditional use

## ABSTRACT

*Asclepias contrayerba* is one of the 250 species known for the genus and have your distribution in the center, northwest and southwest of Mexico, they have importance in the medicinal folk by the presence of precursors of alkaloids in the root. The principal objective of this work is know the diversity and genetic structure of five populations localized in Tlaxcala, Jalisco and Guerrero and known the effect of traditional use in the reduction of genetic variation. The genetic populations values has been obtained by electrophoresis with starch gel for 20 isozymes. The genetic diversity estimate for the mean of alleles by locus is  $A = 2.0$ , the percentage of polymorphic loci is  $P = 100\%$ , the calculated heterozygosity  $H_E$  is of 0.413 and the observed  $H_O$  of 0.388, the fixation index ( $F$ ) is of 0.142. For genetic structure,  $F_{IT}$  is of 0.205,  $F_{IS}$  of 0.087 and  $F_{ST}$  of 0.128. The global diversity genetic is considered as high respect to others species with similar live history. However, to population level, the two of Tlaxcala and one of Jalisco the plants have high heterozygosity, probably by widespread pollination. In the populations of Guerrero and Jalisco, there are plants with high homocytosis and can be by some phenomenon that limit the presence of pollination. By end, the results have demonstrated that the traditional use of the root don't have influence on the diversity and genetic structure of this specie.

## INTRODUCCIÓN

Con alrededor de 250 especies conocidas el género *Asclepias* L. se distribuye en Norteamérica, Sudamérica y África (Woodson 1954). De éstas, 68 se presentan en México y 38 son endémicas (Juárez-Jaimes y Lozada 2003, Juárez-Jaimes *et al.* 2007). *Asclepias contrayerba* Sessé y Moc. es muy conocida y utilizada en el estado de Tlaxcala (Aguilar 1997) por sus efectos terapéuticos contra algunos dolores corporales, intoxicaciones y envenenamientos, debido posiblemente a la presencia de alcaloides en la raíz (Cardoso y Flores 1998). Esta especie se distribuye también en los estados de Chihuahua, Durango, Nayarit, Jalisco, Michoacán, Estado de México, Puebla, Oaxaca, Chiapas, San Luis Potosí, Tamaulipas, Campeche, Tabasco y Veracruz, en ambientes con bosques de sabino, pino y encino (Juárez-Jaimes y Lozada 2003).

Los primeros estudios de genética de poblaciones en plantas, con electroforesis de enzimas en geles de almidón, se efectuaron en *Avena fatua* y *A. barbata* (Marshall y Jain 1969, Marshall y Allard 1970a,b), desde entonces, se han realizado en especies vegetales con importancia económica como *Phaseolus vulgaris* (Bassiri y Adams 1977), *Oryza sativa* (Tso y Chen 1997), *Tulipa* spp. (Booy y van Raamsdonk 1998), *Agave fourcroydes* (Colunga-Garciamarin *et al.* 1999), *Fragaria xananassa* (Gálvez *et al.* 2001) y *Lilium* spp. (Arzate-Fernández *et al.* 2005). Actualmente se considera que los marcadores enzimáticos siguen siendo una herramienta útil para conocer cómo se distribuye la variación genética dentro y entre poblaciones silvestres (Crochet 2000, Magallán *et al.* 2009).

La información obtenida con estos estudios ha permitido conocer que las especies endémicas o con distribución restringida tienen, en promedio, menor diversidad genética que especies con distribución más amplia, sin presentar mucha diferencia en la forma de cómo se distribuye la diversidad genética entre las poblaciones (Hamrick y Godt 1996), aun cuando se comparan especies del mismo género con distribución amplia o restringida (Gitzendanner y Soltis 2000, Cole 2003), lo que refleja que la estructura genética tiene un fuerte componente filogenético (Cabrera-Toledo *et al.* 2010). Los resultados de estos trabajos han proporcionado las bases para la toma de decisiones en la formulación de planes de manejo, conservación y protección de especies que se encuentran en alguna categoría de riesgo (Prior *et al.* 1997, Petit *et al.* 1998, Gutiérrez-Espeleta *et al.* 2000, Grativol *et al.* 2001, Ernest *et al.* 2003).

Por tal motivo, el objetivo de la presente investigación fue determinar la variabilidad y la estructura genética en cinco poblaciones de *Asclepias contrayerba* localizadas en los Estados de Tlaxcala, Jalisco y Guerrero, con la finalidad de cuantificar estimadores del promedio de alelos por locus, el porcentaje de loci polimórficos, las heterocigosis y los estadísticos  $F$  de Wright (Hartl y Clark 1989).

## MATERIALES Y MÉTODOS

Para conocer los sitios donde previamente se ha recolectado *Asclepias contrayerba*, se consultaron las bases de datos y se revisaron ejemplares botánicos

de los herbarios MEXU del Instituto de Biología de la UNAM, ENCB del Instituto Politécnico Nacional, XAL del Instituto de Ecología, A.C. y TLXM de la Universidad Autónoma de Tlaxcala (Thiers 2013), verificando su identificación taxonómica. Con base en dicha información, se visitaron las localidades para la recolección de muestras de hojas frescas de 20 individuos, las cuales se depositaron en sobres de papel aluminio etiquetados con el nombre de la localidad y el número de individuo, se colocaron en bolsas de Lykra y se almacenaron en un contenedor portátil de nitrógeno líquido hasta llegar al laboratorio donde se mantuvieron en un ultracongelador REVCO a  $-70^{\circ}\text{C}$  hasta su uso. De cada muestra individual se utilizaron 250 mg de tejido y se lavaron con agua destilada; para facilitar su maceración se adicionó nitrógeno líquido y se agregaron 500  $\mu\text{l}$  de Buffer de extracción al 4 % preparado con Tris 0.1 M, Polivinil Pirrolidona (PVP) al 4 %, Ácido Etilendiaminotetracético (EDTA) 0.001 M, Ácido Clorhídrico (HCl) 0.01 M, Cloruro de Magnesio ( $\text{MgCl}_2$ ) 0.01 M y  $\beta$ -Mercaptoetanol al 0.1 % (González-Astorga *et al.* 2004).

Se recortaron fragmentos (0.5 x 2.0 cm) de papel filtro, colocando ocho en cada mortero para humedecerlos con el extracto y posteriormente dividirlos en dos tubos Eppendorff. Previamente, dichos tubos fueron etiquetados con el número de individuo y la localidad correspondiente a cada muestra. Los tubos se colocaron en gradillas y éstas se guardaron en bolsas de plástico selladas herméticamente para almacenarlas en el ultracongelador hasta su uso en el corrimiento electroforético. La preparación del gel de almidón al 12 % se realizó colocando en un matraz Erlenmeyer 54 g de almidón y 450 ml de amortiguador para gel pH 8.0 el cual contiene 1.0902 g de Tris 0.009 M, así como 0.7758 g de L-Histidine y Ácido Propiónico al 0.005 M. La mezcla se calentó en un horno comercial de microondas durante cuatro minutos, retirándolo cada minuto para agitarlo con fuerza para evitar la formación de grumos y obtener un líquido transparente.

A la cámara de electroforesis se le agregó el amortiguador electrodo pH 8.0 preparado con Tris 0.4 M y Ácido Cítrico monohidratado 0.105 M. Para el corrimiento electroforético se utilizaron los sistemas PK (Poulik) y R este último durante 9 h a 35 mA y 200 V conectado a una fuente de poder EC 1000-90. Con base en el protocolo para cícadas, el sistema PK fue utilizado con las enzimas alcohol deshidrogenasa (ADH), aldolasa (ALD), hexoquinasa (Hk), acotinas (ACO), Shikimato deshidrogenasa (SDH), enzima málica (ME), fosfoglucoisomerasa (PGI), fosfoglucomutasa (PGM), esterasa (EST), 6-fosfato gluconato

deshidrogenasa (6PGD) y glutamato oxalacetato transaminasa (GOT).

El sistema R se utilizó con las enzimas diaforasa (DIA), peroxidasa anódica (Px), menadiona reductasa (MNR), fosfatasa ácida (ACPH), malato deshidrogenasa (MDH), fosfoglucoisomerasa (PGI), fosfoglucomutasa (PGM), esterasa (EST), 6-fosfato gluconato deshidrogenasa (6-PGD), glutamato oxalacetato transaminasa (GOT) e isocitrato deshidrogenasa (IDH) (Wendel y Weeden 1989).

Una vez finalizado el proceso de electroforesis, el gel fue dividido en tres o cuatro capas, desechando la primera y las otras fueron colocadas en una charola con los respectivos reactivos para la tinción correspondiente a cada enzima, el gel teñido se fijó en alcohol etílico al 70 % durante 5 minutos. La lectura de las bandas se realizó en una cámara clara analizando los genotipos de cada individuo, por población y por locus (Wendel y Weeden 1989), considerando que el locus estaba determinado por un alelo, entonces se tienen tres genotipos, a saber: 1,1 (homocigoto), 1,2 (heterocigoto) y 2,2 (homocigoto), de esta forma fueron capturados y analizados con el programa TFPGA (Miller 1997). Posteriormente, con estas bases de datos se obtuvieron los estimadores de diversidad genética: número promedio de alelos por locus ( $A$ ), heterocigosis observada ( $H_O$ ) y esperada ( $H_E$ ), así como los estadísticos  $F$  de Wright ( $F_{IT}$ ,  $F_{IS}$  y  $F_{ST}$ ) (Hartl y Clark 1989).

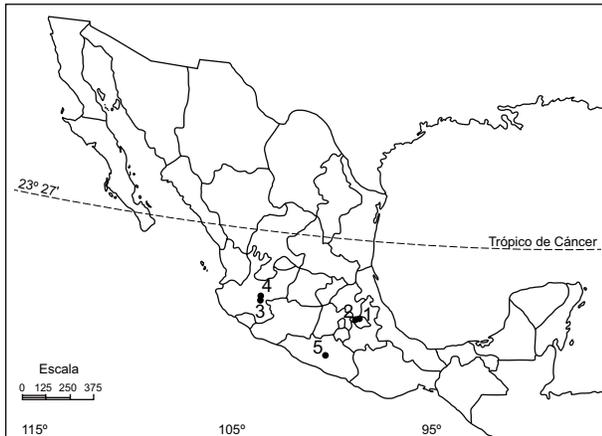
## RESULTADOS

### Obtención de muestras

Con base en la información contenida en los ejemplares botánicos revisados en las colecciones nacionales, se tomaron referencias de 31 localidades donde se ha recolectado *Asclepias contrayerba* y se observó que su presencia es anual a partir del mes de julio y hasta diciembre. Posteriormente se realizaron visitas a todas las localidades para la recolección de material fresco y ejemplares botánicos para ser depositados en el herbario TLXM de la Universidad Autónoma de Tlaxcala (Thiers 2013). Sin embargo, solo en las localidades de Eduardo Neri (Guerrero), Atlangatepec e Ixtacuixtla (Tlaxcala), La Primavera (Jalisco) y en las cercanías de la ciudad de Guadalajara (Jalisco) se obtuvo material fresco para este estudio **Fig. 1**.

### Diversidad genética

Se realizó un análisis previo con las enzimas mencionadas anteriormente en los sistemas PK y R. El sistema PK fue descartado debido a que no se



**Fig. 1.** Mapa de localización de poblaciones de *A. contrayerba*. 1-Atlangatepec, Tlaxcala, 2-Ixtacuixtla, Tlaxcala, 3-La Primavera, Jalisco, 4-Guadalajara, Jalisco y 5-Eduardo Neri, Guerrero

obtuvo actividad enzimática, en el sistema R pudo observarse actividad de MNR, DIA, MDH. La ACPH solo presentó resolución en Eduardo Neri, Guerrero, por lo cual fue descartada del análisis. La MDH presentó dos loci; DIA y MNR presentaron un loci cada una, resultando un total de cuatro loci (**Cuadro I**).

Los estimadores de diversidad genética de *A. contrayerba* mostraron que el porcentaje de loci polimórficos promedio fue  $P = 100\%$  para las cinco poblaciones analizadas, en tanto que el número promedio de alelos por locus fue de  $A = 2.0$ . Respecto a la heterocigosis observada, el promedio fue  $H_O = 0.389 \pm 0.117$  y para la heterocigosis esperada promedio fue  $H_E = 0.413 \pm 0.031$  (**Cuadro II**).

Por último, para detectar el exceso o escasez de genotipos heterocigotos, se compararon las heterocigosis observadas y esperadas, con el índice de fijación ( $F$ ), el cual indica que las poblaciones de Atlangatepec ( $F = -0.045$ ) e Ixtacuixtla ( $F = -0.031$ ),

Tlaxcala, así como la Primavera, Jalisco ( $F = -0.544$ ) presentaron exceso de heterocigotos; mientras que en Eduardo Neri, Guerrero ( $F = 0.141$ ) y Guadalajara Jalisco ( $F = 0.102$ ) existe exceso de homocigotos.

### Estructura genética

En el **cuadro III** se presentan los estadísticos  $F$  de Wright, donde se observa que el coeficiente de endogamia para las cinco poblaciones ( $F_{IT}$ ) es estadísticamente distinto de cero y positivo, con una media de  $0.205 \pm 0.087$ . La endogamia local ( $F_{IS}$ ) es de  $0.089 \pm 0.098$  y por último la diferenciación genética ( $F_{ST}$ ) es de  $0.128 \pm 0.019$ , lo que indica que la diferencia genética representa cerca del 13 % de la variación genética total de la especie.

### Distancias genéticas

Las distancias genéticas y geográficas de las cinco poblaciones de *A. contrayerba* se muestran en el **cuadro IV**. La distancia genética promedio es de  $0.139 \pm 0.397$ . La distancia genética mayor ( $D=0.236$ ) se presentó entre Atlangatepec, Tlaxcala y La Primavera, Jalisco, separadas geográficamente por 579.45 km. La distancia genética menor ( $D=0.015$ ) se presentó entre Ixtacuixtla y Atlangatepec, Tlaxcala separadas por tan solo 45.11 km (**Fig. 2**). El análisis de correlación y la prueba de Mantel entre las distancias genéticas ( $Y$ ) y geográficas ( $X$ ) indican que no existe relación alguna entre ellas,  $F(1,8 \text{ GL}) = 0.259$   $p = 0.624$ ; prueba de Mantel  $r = 0.031$ ,  $p = 0.275$ .

El fenograma (**Fig. 2**) construido con las distancias genéticas (Nei 1972) muestra tres grupos. Atlangatepec e Ixtacuixtla, Tlaxcala forman un grupo más relacionado y separado de las demás poblaciones. Eduardo Neri, Guerrero y Guadalajara Jalisco forman otro grupo un tanto consistente pero están separados de la población de La Primavera que queda sola en este contexto.

**CUADRO I.** FRECUENCIAS ALÉLICAS DE CUATRO LOCI ENZIMÁTICOS PARA LAS CINCO POBLACIONES DE *A. contrayerba* SESSÉ y MOC

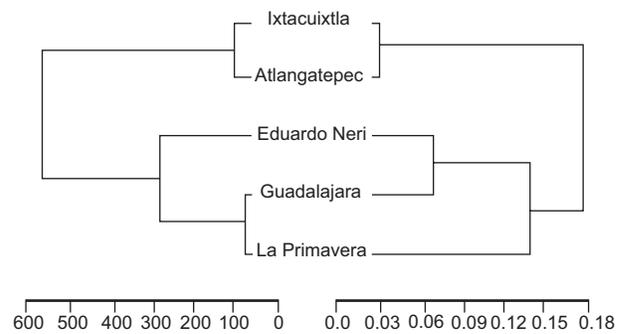
| Enzima Alelo | Población         |                        |                       |                      |                    |       |
|--------------|-------------------|------------------------|-----------------------|----------------------|--------------------|-------|
|              | E. Neri, Guerrero | Atlangatepec, Tlaxcala | Ixtacuixtla, Tlaxcala | Guadalajara, Jalisco | Primavera, Jalisco |       |
| MDH1         | 1                 | 0.719                  | 0.353                 | 0.500                | 0.833              | 0.353 |
|              | 2                 | 0.281                  | 0.647                 | 0.500                | 0.167              | 0.647 |
| MDH2         | 1                 | 0.765                  | 0.353                 | 0.467                | 0.500              | 0.941 |
|              | 2                 | 0.235                  | 0.647                 | 0.533                | 0.500              | 0.059 |
| MNR          | 1                 | 0.353                  | 0.147                 | 0.147                | 0.529              | 0.441 |
|              | 2                 | 0.647                  | 0.853                 | 0.853                | 0.471              | 0.559 |
| DIA          | 1                 | 0.324                  | 0.529                 | 0.529                | 0.441              | 0.235 |
|              | 2                 | 0.676                  | 0.471                 | 0.471                | 0.559              | 0.765 |

**CUADRO II.** ESTIMADORES DE DIVERSIDAD GENÉTICA EN CINCO POBLACIONES DE *Asclepias contrayerba* SESSÉ y MOC. EN MÉXICO ( $P <= 0.05$ ) DONDE N: PROMEDIO DE INDIVIDUOS ANALIZADOS POR POBLACIÓN; P: PORCENTAJE DE LOCI POLIMÓRFICOS; A: NÚMERO DE ALELOS PROMEDIO POR LOCUS, *HO*: HETEROCIGOSIS OBSERVADA; *HE*: HETEROCIGOSIS ESPERADA. *F*: ÍNDICE DE FIJACIÓN,  $F = 1 - (HO/HE)$

| Población              | N     | A | %P  | HO    | HE    | F      |
|------------------------|-------|---|-----|-------|-------|--------|
| E. Neri, Guerrero      | 16.75 | 2 | 100 | 0.473 | 0.415 | 0.141  |
| Atlangatepec, Tlaxcala | 17.0  | 2 | 100 | 0.398 | 0.416 | -0.045 |
| Ixtacuixtla, Tlaxcala  | 15.75 | 2 | 100 | 0.423 | 0.437 | -0.031 |
| Guadalajara, Jalisco   | 16.5  | 2 | 100 | 0.487 | 0.442 | 0.102  |
| Primavera, Jalisco     | 17.0  | 2 | 100 | 0.162 | 0.355 | -0.544 |
| Media                  | 16.6  | 2 | 100 | 0.389 | 0.413 | 0.142  |
| Desviación estándar    | 0.523 | 0 | 0   | 0.118 | 0.031 | 0.328  |

**CUADRO III.** ESTADÍSTICO *F* DE WRIGHT PARA CUATRO LOCI ENZIMÁTICOS EN CINCO POBLACIONES DE *A. contrayerba* SESSÉ y MOC

|                     | FIT   | FST   | FIS    |
|---------------------|-------|-------|--------|
| MDH1                | 0.045 | 0.123 | -0.089 |
| MDH2                | 0.272 | 0.097 | 0.194  |
| MNR                 | 0.211 | 0.135 | 0.088  |
| DIA                 | 0.293 | 0.156 | 0.162  |
| Media               | 0.205 | 0.128 | 0.089  |
| Desviación Estándar | 0.087 | 0.019 | 0.097  |



**Fig. 2.** Fenogramas de distancias genéticas (derecha) y distancias geográficas (izquierda) de cinco poblaciones de *A. contrayerba* Sessé y Moc. en México

**DISCUSIÓN**

**Variación genética**

Con base en los estimadores de diversidad (**Cuadro II**) se observa que los individuos de las localidades de Ixtacuixtla, Atlangatepec y La Primavera presentan mayor heterocigosis, lo que se traduce en variación genética alta, favorecida posiblemente por polinizadores que tienen distribución amplia (Woodson 1954) aun cuando una de ellas se encuentra muy separada geográficamente de las otras dos.

Las poblaciones de Guadalajara y Eduardo Neri, separadas geográficamente por más de 500 km, presentan individuos homocigotos, lo que significa que se presentan procesos de endogamia y deriva génica en donde lo más probable es que el intercambio de flujo génico entre ellas y con las demás poblaciones no está siendo efectivo y la propagación observada puede ser atribuida más a una reproducción asexual que a la sexual.

Por otro lado, se observa que la población de Guadalajara presenta valores altos de homocigosis

**CUADRO IV.** DISTANCIAS GEOGRÁFICAS EN KM (ARRIBA DE LA DIAGONAL) Y DISTANCIAS GENÉTICAS (DEBAJO DE LA DIAGONAL), EN LAS CINCO POBLACIONES DE *A. contrayerba* SESSÉ y MOC

| Población              | E. Neri, Guerrero | Atlangatepec, Tlaxcala | Ixtacuixtla, Tlaxcala | Guadalajara, Jalisco | Primavera, Jalisco |
|------------------------|-------------------|------------------------|-----------------------|----------------------|--------------------|
| E. Neri, Guerrero      |                   | 247.57                 | 246.54                | 553.21               | 529.21             |
| Atlangatepec, Tlaxcala | 0.181             |                        | 45.11                 | 590.68               | 579.45             |
| Ixtacuixtla, Tlaxcala  | 0.101             | 0.015                  |                       | 560.47               | 536.44             |
| Guadalajara, Jalisco   | 0.057             | 0.196                  | 0.126                 |                      | 23.88              |
| Primavera, Jalisco     | 0.075             | 0.236                  | 0.189                 | 0.218                |                    |

comparada con La Primavera que tiene valores bajos y ambas se encuentran separadas tan solo por 23.8 km de distancia. Caso especial merece la de Eduardo Neri, ya que es la que se encuentra más separada geográficamente de todas las demás y tiene los valores más altos de homocigosis, además, presenta caracteres vegetativos de mayor tamaño que las otras lo que se corroboró con la visita en campo y con los ejemplares revisados en los herbarios.

Los valores de variación genética mostrada por *A. contrayerba* son más altos que los reportados para algunas especies anuales que tienen distribución restringida (Hamrick y Godt 1990, Magallán *et al.* 2009) y más bajos que los reportados para especies perennes sometidos a explotación comercial (Salazar *et al.* 2010). Se puede considerar que como especie *A. contrayerba* no tiene problemas de deriva génica, pero la variación observada es muy particular en cada localidad y esto implica la importancia de conservarla, ya que si desaparece una población, desaparece mucha información genética. Otro argumento sería el escaso número de individuos observados en campo en las cinco poblaciones estudiadas, el cual no llega a 30 y que la propagación por vía sexual, al menos para Ixtacuixtla, Tlaxcala, sea baja (47 a 65 % de germinación), aunada a un bajo porcentaje de sobrevivencia (López y Rojas 2006).

### Estructura genética

Con los valores obtenidos para el estadístico *F* de Wright (**Cuadro IV**) se observa que  $F_{IS}$  es relativamente bajo (0.087) indicando una ligera endogamia dentro de las poblaciones, lo cual puede deberse a fenómenos de autofecundación ya que *A. contrayerba* es una planta hermafrodita, pero también puede ser el resultado de una reproducción asexual a través de propágulos. Los valores de  $F_{ST}$  (0.128) obtenidos son mayores que los reportados para *Asclepias exaltata* (0.099) la cual se considera con una baja diferenciación genética (Broyles *et al.* 1994). Los datos aquí reportados muestran evidencia de diferenciación genética entre las poblaciones estudiadas, este resultado puede corresponder a que las semillas de esta especie presentan estructuras que les facilitan su dispersión por el viento, o a la presencia de dispersores a gran escala (Broyles *et al.* 1994). Además, se debe considerar la presencia de poblaciones no analizadas aquí que pueden estar más cercanas y favorecer el flujo genético.

Los estimadores de endogamia global ( $F_{IT} = 0.205$ ) no muestran endogamia total y son similares a los reportados en especies de Orchidaceae ( $F_{IT} = 0.190 - 0.120$ ; Case *et al.* 1998) y de la bromelia epífita

*Catopsis berteroniana* ( $F_{IT} = 0.271$ ; Gómez-Ocampo 2007), ambas de importancia comercial y extraídas directamente de su ambiente natural, pero que no presentan evidencia de alguna afectación en la variación genética. Esto puede significar que para *A. contrayerba*, a pesar de contar con un máximo de 30 individuos por población, el efecto de la endogamia en términos de la pérdida de individuos heterocigotos, aún no se ha expresado y por lo tanto no se muestra un efecto significativo.

### Distancias genéticas

Los resultados de las distancias geográficas y de las distancias genéticas (**Fig. 2**), muestran en primer lugar que las poblaciones de Ixtacuixtla y Atlangatepec, ambas en el estado de Tlaxcala, se encuentran geográficamente cercanas (45.11 km) y presentan una distancia genética baja (0.015), es decir, que existe flujo genético entre ellas, debido a la presencia de polinizadores o la dispersión de las semillas por el viento.

En contraste, las dos poblaciones cercanas a la ciudad de Guadalajara, Jalisco y separadas geográficamente por tan solo 23.8 km, presentan una distancia genética más alta (0.218), es decir, existe poco flujo genético entre ellas, lo cual probablemente esté influenciado por algún accidente orográfico o fragmentaciones históricas que limitan el flujo génico. Si comparamos las distancias genéticas con las geográficas de las poblaciones estudiadas, para el caso de Guadalajara y de La Primavera, Jalisco con Eduardo Neri, Guerrero, una menor distancia geográfica no necesariamente corresponde a una mayor distancia genética, como sucede con las de Tlaxcala. Este efecto posiblemente se debe a que el flujo génico se puede presentar vía localidades intermedias que no fueron analizadas en el presente estudio o por la migración de alelos entre poblaciones que se puede dar por el movimiento de polen o semillas, el cual puede ser facilitado por insectos (Woodson 1954) tales como la mariposa monarca (Velázquez 2003).

## CONCLUSIÓN

La variación genética de *A. contrayerba* tiene valores similares a las reportadas con especies de distribución restringida. No existe endogamia entre las poblaciones a pesar de que éstas se encuentran representadas a veces por menos de 30 individuos. Las de Tlaxcala y una de Jalisco presentan mayor heterocigosis, indicando alta diversidad genética

entre sus individuos. La de Guerrero y la otra de Jalisco presentan mayor grado de homocigosis, mostrando reducida variación genética en su población. El uso de la raíz en medicina tradicional a nivel local no tiene efecto sobre la variación genética de *A. contrayerba*.

### AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido apoyado económicamente por el Programa al Mejoramiento del Profesorado (PROMEP) de la Secretaría de Educación Pública a través de la reincorporación de exbecarios con número UAT-117-EXB otorgado a J. L. Martínez y Pérez. Los autores agradecen a los curadores de los herbarios ENCB, XAL y MEXU las facilidades brindadas para la revisión del material depositado en dichas colecciones. También se agradece el apoyo recibido por Julia Hernández Villa y Janet Nolasco Soto del Laboratorio de Genética de Poblaciones de la Red de Biología Evolutiva del INECOL, A. C. en Xalapa, Ver. Igualmente se agradecen los comentarios de los revisores anónimos que enriquecieron el presente trabajo.

### REFERENCIAS

- Aguilar J.A. (1997). Plantas medicinales de Temetzontla, municipio de Panotla, Tlaxcala, México. Tesis de Licenciatura. Facultad de Biología Agropecuaria. Universidad Autónoma de Tlaxcala. Tlaxcala, México. 74 pp.
- Arzate-Fernández A.M., Mejía C.O., Nakazaki T., Okumoto Y. y Tanisaka T. (2005). Isozyme electrophoretic characterization of 29 related cultivars of lily (*Lilium* spp.). *Plant Breeding* 124, 71-78.
- Bassiri A. y Adams M.W. (1977). Evaluation of common bean cultivar relationships by means of isozyme electrophoretic patterns. *Euphytica* 27, 707-720.
- Booy G. y van Raamsdonk W.D. (1998). Variation in the enzyme esterase within and between *Tulipa* species; usefulness for the analysis of genetic relationships at different taxonomical levels. *Biochem. Syst. Ecol.* 26, 199-224.
- Broyles S.B., Schnabel A. y Wyatt R. (1994). Evidence for long-distance pollen dispersal in milkweeds (*Asclepias exaltata*). *Evolution* 48, 1032-1040.
- Cabrera-Toledo D., González-Astorga J., Nicolalde-Morejón F., Vergara-Silva F. y Vovides A.P. (2010). Allozyme diversity levels on two congeneric *Dioon* spp. (Zamiaceae, Cycadales) with contrasting rarities. *Plant Syst. Evol.* 290, 115-125.
- Cardoso P. y Flores B. (1998). Análisis químico de *Asclepias contrayerba* Sessé y Moc. del estado de Tlaxcala. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias Químicas. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Puebla, México. 79 pp.
- Cole C.T. (2003). Genetic variation in rare and common plants. *Ann. Rev. Ecol. Evol.* 534, 213-237.
- Colunga-Garciamarin P., Coello-Coello J., Eguiarte L.E. y Piñero D. (1999). Isozymatic variation and phylogenetic relationships between henequen (*Agave fourcroydes*) and wild ancestor *A. angustifolia* (Agavaceae). *Am. J. Bot.* 86, 115-123.
- Crochet P.A. (2000). Genetic structure of avian populations-allozymes revisited. *Mol. Ecol.* 9, 1463-1469.
- Case M.A., Mlodozienec H.T., Wallace L.E. y Weldy T.W. (1998). Conservation genetics and taxonomic status of the rare Kentucky lady's slipper: *Cypripedium kentuckiense* (Orchidaceae). *Am. J. Bot.* 85, 1779-1786.
- Ernest H.B., Boyce W.M., Bleich V.C., May B., Stiver S.J. y Torres S.G. (2003). Genetic structure of mountain lion (*Puma concolor*) populations in California. *Conserv. Genet.* 4, 353-366.
- Gálvez J., Clavero I., López-Montero R., Sánchez-Sevilla J. F. y López-Aranda J. M. (2001). Isozyme characterization of genetic resources in strawberry. *SHS Acta Horticulturae* 567, 69-72.
- Gitzendanner M.A. y Soltis P.S. (2000). Patterns of genetic variation in rare and widespread plant congeners. *Am. J. Bot.* 87, 783-792.
- Grativol A.D., Ballou J.D. y Fleischer R.C. (2001). Microsatellite variation within and among recently fragmented populations of the golden lion tamarin (*Leontopithecus rosalia*). *Conserv. Genet.* 2, 1-9.
- Gómez-Ocampo Z. (2007). Diversidad genética de una bromelia de importancia comercial. Tesis de Maestría, Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional, Unidad Oaxaca. Instituto Politécnico Nacional, Oaxaca, México. 52 pp.
- González-Astorga J., Cruz-Angón A., Flores Palacios A. y Vovides A.P. (2004). Diversity and genetic structure of the Mexican endemic epiphyte *Tillandsia achyrostachys* E. Morr. ex Bakers var. *achyrostachys* (Bromelias). *Ann. Bot.* 94, 545-551.
- Gutiérrez-Espeleta G.A., Kalinowski S.T., Boyce W.M. y Hedrick P.W. (2000). Genetic variation and population structure in desert bighorn sheep: implications for conservation. *Conserv. Genet.* 1, 3-15.
- Hamrick J.L. y Godt M.J. (1990). Allozyme diversity in plant species. En: *Plant Population Genetics, Breeding, and Genetic Resources*. (A.H.D. Brown, M.T. Clegg, A.L. Kahler y B.S. Weir, Ed.). Sinauer Associates, Inc Publ. Sunderland, MA, EUA. pp. 43-63

- Hamrick J.L. y Godt M.J.W. (1996). Conservation genetics of endemic plant species. En: Conservation Genetics. Case Histories from Nature. (J.C. Avise y J.L. Hamrick, Ed.). Chapman y Hall, New York, EUA. pp. 281-304.
- Hartl D.L. y Clark A.G. (1989). Principles of Populations Genetics. 2a. Ed. Sinauer Associates. Sunderland, MA, EUA. 560 pp.
- Juárez-Jaimes V. y Lozada L. 2003. Flora del Valle de Tehuacán-Cuicatlán. Fascículo 37. Asclepiadaceae. Instituto de Biología, UNAM. 57 pp.
- Juárez-Jaimes V., Alvarado-Cárdenas A. y Villaseñor J.L. (2007). La familia Apocynaceae *sensu lato* en México: Diversidad y distribución. Rev. Mex. Biodiv. 78, 459-482.
- López P.E. y Rojas M.R. (2006). Conocimiento tradicional de *Asclepias contrayerba* en Jilotepec, Tlaxcala y evaluación de su propagación. Tesis de Licenciatura, Facultad de Agrobiología, Universidad Autónoma de Tlaxcala, Tlaxcala, México. 62 pp.
- Marshall D.R. y Jain S.K. (1969). Genetic polymorphism in natural populations of *Avena fatua* and *A. barbata*. Nature 221, 276-278.
- Marshall D.R. y Allard R.W. (1970a). Maintenance of isozyme polymorphism in natural populations of *Avena barbata*. Genetics 66, 373-382
- Marshall D.R. y Allard R.W. (1970b). Isozyme polymorphisms in natural populations of *Avena fatua* and *Avena barbata*. Heredity 25, 373-382.
- Magallán H.F., Martínez M., Hernández S.L. y Oyama K. (2009). Estructura genética de poblaciones de *Eriocaulon bilobatum* (Eriocaulaceae). Bol. Soc. Bot. Méx. 85, 81-88.
- Miller M.P. (1997). Tools for populations genetics analysis TFPGA v.1.3: A Windows program for the analysis of allozyme and molecular population genetic data. Computer software distributed by author.
- Nei M. (1972). Genetic distances between populations. Am. Naturalist 106, 283-292.
- Petit R.J., El-Mousadik A. y Pons O. (1998). Identifying populations for conservation on the basis of genetic markers. Conserv. Biol. 12, 844-855.
- Prior K.A., Gibbs H.L. y Weatherhead P.J. (1997). Population genetic structure in the black rat snake: implications for management. Conserv. Biol. 11, 1147-1158.
- Salazar C., Vargas-Mendoza V. y Salvador F.J. (2010). Estructura y diversidad genética de *Annona squamosa* en huertos familiares mayas de la península de Yucatán. Rev. Mex. Biodiv. 81, 759-770.
- Thiers B. (2013) [continuously updated]. *Index Herbariorum*: A global directory of public herbaria and associated staff. New York Botanical Garden's Virtual Herbarium. <http://sweetgum.nybg.org/ih/> 23/10/2013
- Tso S.C. y Chen R. (1997). Isolation and characterization of a group III isozyme of acid phosphatase from rice plants. Bot. Bull. Acad. Sin. 38, 245-250.
- Velázquez L. (2003). La mariposa monarca (*Danaeus plexipus*). FeFeYia 22, 4.
- Wendel J.F. y Weeden N.F. (1989). Visualization and interpretation of plants isozymes. En: Isozymes in Plant Biology. (D.E. Soltis y P.S. Soltis, Ed.) . Portland, Oregon, EUA. pp. 5-45.
- Woodson R.E. Jr. (1954). The North American species of *Asclepias*. Annals of Miss. Bot. Garden 41, 1-211.