

## Informe Final

Programa Universitario de Investigación en Desarrollo Industrial -PUIDI-  
(nombre del programa universitario de investigación de la Digi)

Bonita, pero en la lista negra por invasora: análisis demográfico y genético de *Oeceoclades maculata* en tres ecosistemas de Guatemala  
nombre del proyecto de investigación

58.4.62

Partida presupuestaria

Centro de Estudios Universitario Zacapa -CUNZAC-  
unidad académica o centro no adscrito a unidad académica avaladora

Mervin Emanuel Pérez Pérez – Coordinador  
Giuliana Mariel Martini Palma – Auxiliar de Investigación II  
Carmen Amalia Rodríguez Ortiz – Auxiliar de Investigación II

nombre del coordinador del proyecto y equipo de investigación contratado por DIGI

Zacapa, 29 de febrero del 2024  
lugar y fecha de presentación del informe final dd/mm/año

## **Autoridades**

Dra. Alice Burgos Paniagua  
Directora General de Investigación

Ing. Agr. MARN Julio Rufino Salazar  
Coordinador General de Programas

Inga. Liuba María Cabrera  
Coordinadora del Programa de Investigación

## **Autores**

Dr. Mervin Emanuel Pérez Pérez, Coordinador del Proyecto

Br. Giuliana Mariel Martini Palma, Auxiliar de Investigación II

Br. Carmen Amalia Rodríguez Ortíz, Auxiliar de Investigación I

## **Colaboradores** (si aplica):

Dr. Manuel Alejandro Barrios Izás, Instituto de Investigaciones CUNZAC

Universidad de San Carlos de Guatemala, Dirección General de Investigación (Digi), 2023. El contenido de este informe de investigación es responsabilidad exclusiva de sus autores.

Esta investigación fue cofinanciada con recursos del Fondo de Investigación de la Digi de la Universidad de San Carlos de Guatemala a través de la partida presupuestaria 58.4.62 en el Programa Universitario de Investigación en Desarrollo Industrial -PUIDI-.

Los autores son responsables del contenido, de las condiciones éticas y legales de la investigación desarrollada.

## Índice general

### Contenido

|        |  |    |
|--------|--|----|
| 1      | Índice general.....                                  | 3  |
| 2      | Resumen.....   | 6  |
| 3      | Introducción .....                                   | 7  |
| 4      | Antecedentes .....                                   | 7  |
| 5      | Planteamiento del problema.....                      | 8  |
| 6      | Marco teórico .....                                  | 9  |
| 6.1    | Dinámica poblacional .....                           | 9  |
| 6.2    | Diversidad genética en especies invasoras .....      | 10 |
| 7      | Estado del arte.....                                 | 11 |
| 7.1    | Especie de estudio.....                              | 11 |
| 7.2    | Modelos demográficos -PPM, IPM .....                 | 11 |
| 7.3    | Diversidad genética.....                             | 12 |
| 8      | Objetivos .....                                      | 13 |
| 9      | Hipótesis .....                                      | 13 |
| 10     | Materiales y métodos .....                           | 13 |
| 10.1   | Enfoque de la investigación .....                    | 13 |
| 10.2   | Método .....   | 13 |
| 10.3   | Recolección de la información.....                   | 15 |
| 10.3.1 | Sitio de estudio.....                                | 15 |
| 10.3.2 | Monitoreo demográfico .....                          | 15 |
| 10.3.3 | Colecta de tejidos para análisis demográfico.....    | 15 |
| 10.4   | Revisión de literatura .....                         | 16 |
| 10.5   | Técnicas e instrumentos.....                         | 16 |
| 10.5.1 | Monitoreo demográfico .....                          | 16 |
| 10.5.2 | Modelos matriciales -PPM.....                        | 16 |
| 10.5.3 | Modelos integrales -IPM.....                         | 17 |
| 10.6   | Extracción, purificación y amplificación de ADN..... | 17 |
| 11     | Aspectos éticos y legales (si aplica).....           | 18 |
| 12     | Resultados y discusión.....                          | 18 |

|        |   |    |
|--------|---|----|
| 12.1   | Resultados .....  | 19 |
| 12.1.1 | Características generales de las poblaciones de <i>Oeceoclades maculata</i> en los tres ecosistemas estudiados .....                              | 19 |
| 12.1.2 | Estado y estructura de las poblaciones de <i>Oeceoclades maculata</i> en tres ecosistemas utilizando modelos matriciales -PPM .....               | 21 |
| 12.1.3 | Estado y estructura de las poblaciones de <i>Oeceoclades maculata</i> en tres ecosistemas utilizando modelos integrales -IPM .....                | 22 |
| 12.2   | Descripción del hábitat de <i>Oeceoclades maculata</i> .....  | 25 |
| 12.2.1 | Bosque Urbano (Reserva Natural Privada Monte María, Ciudad de Guatemala) .....  | 25 |
| 12.2.2 | Bosque Seco (Reserva Natural Heloderma, Zacapa) .....   | 25 |
| 12.2.3 | Bosque Latifoliado (Finca Las Marías, Chiquimulilla) .....  | 25 |
| 12.2.4 | Orquídeas terrestres nativas reportadas .....   | 26 |
| 12.3   | Extracción, purificación y amplificación de ADN .....   | 27 |
| 12.4   | Resultados de extracción y amplificación con cebadores ISRR .....   | 28 |
| 12.5   | Resultados de amplificación con cebadores ISRR .....  | 30 |
| 13     | Discusión de resultados .....   | 30 |
| 14     | Conclusiones .....  | 35 |
| 15     | Recomendaciones .....   | 36 |
| 16     | Referencias .....   | 36 |
| 17     | Apéndice .....  | 42 |
| 18     | Vinculación .....   | 42 |
| 19     | Estrategia de difusión, divulgación y protección intelectual .....  | 42 |
| 20     | Aporte de la propuesta de investigación a los Prioridades Nacionales de Desarrollo (PND) identificando su meta correspondiente: .....             | 42 |
| 21     | Orden de pago final .....   | 44 |
| 22     | Declaración del Coordinador(a) del proyecto de investigación .....  | 44 |
| 23     | Aval del Director(a) del instituto, centro o departamento de investigación o Coordinador de investigación del centro regional universitario ..... | 44 |
| 24     | Visado de la Dirección General de Investigación .....   | 45 |

## Índice de Figuras

|   |    |
|---|----|
| Figura 1 Ciclo de vida hipotético de <i>Oeceoclades maculata</i> . El tamaño de los individuos por categoría está dado por el área foliar: plántulas (S1: $\leq 26.4$ cm <sup>2</sup> ), juveniles (S2: 26.4 – 50.5 cm <sup>2</sup> ) y dos categorías de adultos (S3: 50.51-108.5 cm <sup>2</sup> ; S4: $> 108.5$ cm <sup>2</sup> ). Las líneas punteadas representan categorías de tamaño que son reproductivas y aportan con nuevos individuos a la población (FS3, FS4). Diagrama modificado de Ackerman et al. (2020)..... | 17 |
| Figura 2 Distribución estable de categorías de tamaño en las poblaciones de <i>Oeceoclades maculata</i> estudiadas. ....  | 22 |
| Figura 3 Análisis de elasticidad para las poblaciones bajo estudio utilizando el modelo integral. ....  | 23 |
| Figura 4 Distribución de tamaños estable en las tres poblaciones bajo estudio utilizando el modelo integral. ....   | 24 |
| Figura 5 Análisis de la calidad del ADN extraído de muestras de tejido fresco (izquierda) y muestras de tejido preservado en etanol al 96% (derecha). ....  | 29 |
| Figura 6 Análisis de la amplificación de marcadores ISSR en <i>Oeceoclades maculata</i> utilizando el protocolo de PCR de Ueno et al. (2015) (imagen superior) y ajustando temperaturas con PCR de gradiente (imagen inferior).....   | 30 |

## Índice de Tablas

|  |    |
|--|----|
| Tabla 1 Estructura de tamaños de la población inicial en los tres ecosistemas evaluados. ....                                      | 19 |
| Tabla 2 Parámetros poblacionales en los tres ecosistemas bajo estudio. ....  | 20 |
| Tabla 3 Tasa de crecimiento poblacional y el aporte de los parámetros vitales de las poblaciones que más aportan a $\lambda$ ..... | 21 |
| Tabla 4 Tasa de crecimiento poblacional $-\lambda$ de las poblaciones en los tres ecosistemas utilizando el modelo integral. ....  | 22 |
| Tabla 5 Listado de orquídeas terrestres nativas reportadas en los tres ecosistemas estudiados. ....                                | 26 |
| Tabla 6 Concentraciones de ADN en ng/ $\mu$ l estimadas por el método de fluorescencia en Qubit 3.0. ....                          | 29 |

## 1 Resumen

*Oeceoclades maculata* es una orquídea terrestre que, al ser una especie exótica invasora, presenta alto riesgo para la biodiversidad del país, ecosistemas locales y especies nativas. Por lo tanto, estudiarla es prioridad. El objetivo de esta investigación fue utilizar modelos demográficos y análisis moleculares para conocer su estado poblacional e identificar los parámetros vitales que mejor expliquen su tasa de crecimiento poblacional  $-\lambda-$ . Tres ecosistemas fueron seleccionados para el estudio: bosque urbano, seco y latifoliado. Se establecieron entre 4-5 parcelas de 0.1 Ha por ecosistema, realizando dos censos, uno en la época seca y otro en la lluviosa. En cada parcela los individuos fueron marcados (para un total de mil noventa y nueve plantas) registrando los parámetros: crecimiento (área foliar), sobrevivencia, fecundidad (floración y fructificación), número y distribución de tamaño de nuevos individuos y probabilidad de establecimiento. El valor de  $\lambda$  fue mayor a uno (poblaciones en expansión) para los bosques seco y latifoliado, y menor a uno (población en senescencia) en el bosque urbano. Estos valores parecen ser explicados por la distribución de tamaño estable y el reclutamiento. Adicionalmente, se siguió el método de extracción y amplificación de ADN previamente conocido para la especie, pero el protocolo de PCR descrito no presentó bandas de amplificación de los segmentos ISSR, por lo que se realizó una PCR de gradiente. Además, el material vegetal fresco presentó mayor concentración de ADN que el preservado con etanol al 95%. Por lo tanto, se recomiendan cambios al método de extracción y amplificación para el ADN de esta especie. Así mismo, se listan algunas estrategias para su control y erradicación, las cuales deben contemplar acciones que reduzcan la sobrevivencia, crecimiento y fecundidad de los individuos, pero de forma diferenciada por ecosistema.

**Palabras clave:** Especies invasoras, modelos de proyección matricial, modelos de proyección integral, bosque urbano, bosque latifoliado, bosque seco

## Abstract

*Oeceoclades maculata* is a terrestrial orchid that, being an invasive exotic species, presents a high risk to the country's biodiversity, local ecosystems, and native species. Therefore, studying it is a priority. The objective of this research was to use demographic models and molecular analysis to determine its population status and identify the vital parameters that best explain its population growth rate  $-\lambda-$ . Three ecosystems were selected for the study: urban, dry, and broadleaf forests. Between 4–5 plots of 0.1 ha per ecosystem were established, carrying out two censuses, one in the dry season and the other in the rainy season. In each plot, the individuals were marked (for a total of one thousand ninety-nine plants) recording the parameters: growth (leaf area), survival, fecundity (flowering and fruiting), number and size distribution of new individuals, and probability of establishment. The value of  $\lambda$  was greater than one (expanding populations) for the dry and broadleaf forests and less than one (senescent population) in the urban forest. These values seem to be explained by stable size distribution and recruitment. Additionally, the previously known DNA extraction and amplification method for the species was followed, but the PCR protocol described did not present amplification bands of the ISSR segments, so a gradient PCR was performed. In addition, the fresh plant material presented a higher DNA concentration than preserved material with 95% ethanol. Therefore, changes to the extraction and amplification method are recommended for DNA from this species. Likewise, some strategies for its control and eradication are listed,

which should contemplate actions that reduce the survival, growth, and fecundity of individuals, but in a differentiated manner by ecosystem.

**Keywords:** Invasive species, matrix projection models, integral population models, urban forest, broadleaf forest, dry forest.

## 2 Introducción

Las invasiones biológicas son consideradas como una de las mayores amenazas para la conservación de la diversidad biológica, siendo las plantas uno de los organismos con mayor probabilidad de invasión por estar ligadas a actividades antropogénicas como la agricultura, agroforestería y mercado de ornamentales. Entre los factores que contribuyen a la invasión de especie se resaltan las características propias del hábitat que pueden estar relacionadas a un cambio en el régimen de disturbio y disponibilidad de recursos (Moles et al., 2008), como suele pasar en ambientes riparios en donde la remoción de la cobertura vegetal se da por cambios en los niveles de inundación y energía, generando la disponibilidad de nuevos nichos que incrementa la probabilidad de invasión (Richardson *et al.*, 2007). Las invasiones pueden darse también por las condiciones y composición del paisaje en donde la fragmentación de bosques, agricultura extensiva e intensiva, desarrollo urbano y redes de transporte y acceso vial son las actividades que promueven la invasión de especies (Vilà & Ibáñez, 2011). Adicionalmente, existen procesos evolutivos y genéticos que le permite, a una especie, ser exitosa en los procesos de colonización e invasión dotándolos de una mayor tolerancia ante un amplio espectro de condiciones ambientales, plasticidad fenotípica, capacidad de endogamia o cualquier otra forma de reproducción asexual, habilidades en la dispersión y tasas relativamente altas de crecimiento y competitividad (Ueno *et al.*, 2015), atributos que les permite sobrevivir, reproducirse, dispersarse e interactuar con las especies residentes (Rojas-Sandoval & Acevedo-Rodríguez, 2015).

En Guatemala se registra un total de 1422 especies exóticas, de las cuales 147 son categorizadas como de alto riesgo y grave amenaza para los ecosistemas, hábitat y especies locales, por lo que están incluidas en la lista negra del Consejo Nacional de Áreas Protegidas (CONAP, 2011). De las 147 especies, 10 de ellas corresponde al grupo de “plantas y árboles” que incluye a la orquídea terrestre, *Oeceoclades maculata* (Lindl.) Lindl (CONAP, 2011). Esta especie es originaria de la región tropical de África, introducida al continente americano, posiblemente en los años 1500 a través de los barcos que transportaban esclavos hacia Sudamérica (Ueno *et al.*, 2015). Actualmente, *O. maculata* está ampliamente distribuida en el Neotrópico y se considera una de las especies con el mayor éxito invasivo (Cohen & Ackerman, 2009; Ueno *et al.*, 2015). Sin embargo, en el país no se cuenta con información basada en ciencia que permita la generación de planes de control y erradicación de la especie, siendo anecdótica la mayoría de los datos existente para esta y muchas otras especies invasoras identificadas.

## 3 Antecedentes

Una especie exótica invasora es aquella que se extiende o propaga fuera de su rango de distribución natural y que tiene un impacto negativo en la biodiversidad, ecosistemas locales y especies nativas (IPBS, 2023). La invasión, producto de un proceso de transporte que mueva las especies por las actividades humanas, se introduce a nuevos ecosistemas, y si estas pueden

conformar poblaciones autosostenibles, se dispersan a nuevas regiones o extienden su rango de distribución. Las especies exóticas invasoras han sido la causa del 60% de las extinciones que han ocurrido a nivel global, el costo económico asociado al impacto de éstas se registró en más de 400 billones de dólares para el año 2019, y que ha repercutido de forma significativa en la disponibilidad de activos materiales e inmateriales para uso del humano, así como en la salud de la sociedad (IPBS, 2023).

En Guatemala el esfuerzo por estudiar a las poblaciones de especies exóticas invasoras ha sido poco en el grupo de las plantas, pero hay ejemplos importantes en otros taxones. Por ejemplo, el registro del hongo *Batrachochytrium dendrobatidis* (hongo quítrido) en el 2004, a quien se le atribuye la mortalidad de ranas que habitan los bosques nubosos del país (Mendelson III *et al.*, 2004). La prevalencia del hongo ha generado que las poblaciones locales de ranas se extingan o presenten una tendencia a la baja (de León *et al.*, 2019). También se puede mencionar el impacto del Pez Diablo en el ecosistema de mangle dentro del área protegida Reserva de Usos Múltiples Monterrico, ya que, a la presencia de esta especie invasora se le adjudica la inestabilidad de los sedimentos en las riberas, aumento de la turbidez del agua y contaminación por putrefacción de los peces que son desechados por los pescadores (Castillo Cabrera *et al.*, 2022). Para el Lago de Petén Itzá se han reportado seis especies de peces exóticos invasores, introducidas principalmente por acuaristas, y que su distribución obedece a fondos lodosos, actividad antropogénica, baja transparencia y profundidad, entre otros (Ponciano-Núñez *et al.*, 2021); mientras que para el Río Usumacinta se reportan siete especies exóticas (Barrientos *et al.*, 2018).

Un estudio reciente actualiza el reporte de las especies introducidas de plantas para Guatemala en 614 especies, de éstas el 43% son naturalizadas (poblaciones viables), 39% son cultivadas y el resto de las especies pueden sobrevivir, pero las poblaciones no son autosostenibles (MacVean & Zin, 2023). En este estudio se resalta la existencia de 17 especies invasoras que pueden tener un impacto significativo en la economía, ambiente y sociedad. Se cita a *Oeceoclades maculata*, como uno de los casos más conocidos en el país, en el que su introducción obedece a su importancia ornamental y trasfondo económico (MacVean & Zin, 2023). Sin embargo, no se tiene conocimiento de su dinámica poblacional y estructura molecular, parámetros que pudieran estar explicando el éxito de su establecimiento y expansión en el país, ya que estudios recientes indican que está distribuida en todos los departamentos de Guatemala (Mó & Monzón Sierra, 2023). El objetivo del presente estudio es evaluar el estado poblacional y estructura molecular de *Oeceoclades maculata* en tres ecosistemas del país, con la intención de recomendar prácticas o estrategias de erradicación.

#### **4 Planteamiento del problema**

*Oeceoclades maculata* es una orquídea terrestre invasora considerada como una especie de alto riesgo para la biodiversidad del país por el posible desplazamiento de orquídeas terrestres nativas, por lo tanto, el CONAP recomienda realizar acciones de erradicación y control (CONAP, 2011). Sin embargo, la información existente de la especie es anecdótica y se carece de datos cuantitativos que permita formular planes de control, prevención o erradicación. Con la presente propuesta se espera establecer una línea base de monitoreo usando modelos demográficos para conocer la estructura poblacional e identificar los parámetros demográficos (sobrevivencia, crecimiento y fecundidad) que mejor expliquen la tasa de crecimiento poblacional. Así como un análisis de la diversidad genética de la especie que explique el éxito

de colonización e invasión de nuevos hábitats. Esta propuesta puede servir también de base para formular, desde el CONAP, estudios y monitoreos permanentes de otras plantas invasoras de alto riesgo.

## 5 Marco teórico

### 5.1 Dinámica poblacional

Algunos factores que incrementan la probabilidad de que las plantas se vuelvan invasoras parece estar relacionada al mercado de la horticultura, que se comporten como “mala hierba”, que ocurran en distintas zonas de vida, que presenten flores hermafroditas con mecanismos mixtos de reproducción sexual, prósperas en ambientes rurales, que presenten crecimiento vegetativo o clonal y semillas menores a 2 mm (Rojas-Sandoval & Acevedo-Rodríguez, 2015). Estos atributos propios de la especie y las condiciones o estados del hábitat, especialmente aquellos con algún grado de disturbio, favorecen el establecimiento y dominancia de estas especies. De hecho, el abandono de tierras antes utilizadas para la agricultura u otro uso ha favorecido la formación de bosques con una estructura y composición dominada por especies introducidas (“*novel forest*”) (Abelleira-Martínez *et al.*, 2009; Colón *et al.*, 2011). Generalmente, a estas especies invasoras se les categoriza como promisorias de la pérdida de la diversidad biológica, además de que generan cambios importantes en el ciclo de nutrientes a través del incremento de la biomasa y producción primaria, incremento y cambios en la tasa de fijación de nitrógeno, componentes que determinan la dirección y magnitud del impacto a nivel de ecosistema (Ehrenfeld, 2003; Mack *et al.*, 1998). La interacción de especies invasoras con otras especies locales (flora o fauna) y con el ecosistema es muy compleja, y su control o erradicación requiere de monitoreos recurrentes que fundamenten las acciones de manejo para reducir, o eliminar, el potencial impacto negativo.

Una de las técnicas utilizadas para el control de estas especies es la remoción mecánica y el uso de herbicidas o pesticidas comerciales, pero estos elevan los costos de mantenimiento y resultan en otros impactos negativos al ecosistema u otras especies nativas, además de favorecer la acumulación de contaminantes en suelo y reservorios de agua. Otro mecanismo para intervenir poblaciones de especies invasivas es el uso de controles biológicos como herbívoros o patógenos, ya que reducen la aptitud de la especie de interés para que no sea vista como una preocupación ecológica y económica (Seastedt, 2015). Adicionalmente, el estudio demográfico es un método alternativo en el que pueden identificarse, dentro del ciclo de vida de las especies, las categorías de tamaño que mejor expliquen la tasa de crecimiento poblacional, y de esta forma, dirigir las acciones de prevención y control que puedan implementarse en el mediano y largo plazo. Por ejemplo, en la especie invasora *Rhododendron ponticum* L., la estrategia funcional para el control de la población se relaciona a la remoción de individuos adultos reproductivos que son la fuente de semillas para establecimiento de nuevos individuos (Harris *et al.*, 2009). Adicionalmente, el establecimiento de plántulas es crítica dentro del ciclo de vida de *R. ponticum*, ya que depende de lugares húmedos y sombreados, condiciones favorecidas por la densa copa de individuos adultos, por lo que una remoción de estos cambia el microclima, haciendo lugares más secos e iluminados que limitan el establecimiento y sobrevivencia de nuevos reclutas (Dehnen-Schmutz & Williamson, 2006; Harris *et al.*, 2009). Para el caso de la planta invasora *Rubus discolor* Boiss (sinónimo de *R. praecox* Bertol), las estrategias de control se enfocan en reducir la producción de clones en poblaciones existentes

y la reducción de producción de semillas para limitar el establecimiento de nuevas poblaciones (Lambrecht-McDowell & Radosevich, 2005). La reproducción sexual, o fecundidad, parece ser el parámetro que mejor explica las altas tasas de crecimiento en especies invasoras cuando se compara con especies locales, la cual es consistente con el modelo de presión de propágulos (*propagule pressure*) durante los procesos de invasión (Burns *et al.*, 2013; Colautti *et al.*, 2006). Uno de los propósitos de esta propuesta es identificar cuáles de los parámetros poblacionales evaluados en los modelos demográficos (sobrevivencia, crecimiento y fecundidad) aportan más a la tasa de crecimiento de *O. maculata* para sugerir planes de control y prevención a mediano y largo plazo.

## 5.2 Diversidad genética en especies invasoras

El análisis de polimorfismos permite estimar la variación genética entre y dentro de poblaciones y como esta se ve afectada por el tamaño de la población, estructura de cruzamiento, historia de vida, aislamiento y patrones de migración. Otros factores como las mutaciones y la deriva génica también tienen un rol importante de la diversidad genética de las poblaciones (Casillas & Barbadilla, 2017; Johnston *et al.*, 2019). La diversidad genética es importante en la habilidad que puedan tener los organismos para adaptarse a cambios ambientales, establecerse en nuevos espacios ambientales o geográficos, resistir ante patógenos, defenderse de otros organismos e interactuar con otras especies, entre otros.

Las poblaciones de especies invasoras generalmente muestran una reducción de la diversidad genética (Lee, 2002). Esto suele suceder porque una fracción de la población original migra o es trasladada a un nuevo espacio geográfico llevando consigo solamente algunos alelos de la población original, por lo que se encuentra sujeta a efectos de cuello de botella y bajos tamaños poblacionales (Frankham, 2005). Dentro de este nuevo espacio geográfico los colonizadores se enfrentan a espacios ambientales diferentes que pueden tener factores favorables como la ausencia de depredadores y competidores, pero también puede haber factores ambientales adversos que ejercen selección sobre la población colonizadora reduciendo la aptitud de los individuos y minimizando la tasa de supervivencia y reproducción (Charlesworth, 1987). La depresión por endogamia es uno de los riesgos más importantes a los que se enfrentan las especies invasoras, ya que incrementan la probabilidad de que se expresen alelos recesivos deletéreos (Nieminen *et al.*, 2001).

Las poblaciones migrantes pueden reducir la depresión por endogamia a través de la purga de los alelos recesivos deletéreos o bien a través de la introducción de nuevos alelos en migraciones posteriores. De acuerdo con Smith *et al.* (2020), las traslocaciones continuadas a larga distancia mediada por humanos han permitido a las poblaciones invasoras reducir el impacto de la endogamia. Por ejemplo, las introducciones continuas de *Phalaris arundinaceae* L. de Norte América a Europa han aliviado los efectos de cuello de botella en las regiones donde se introdujo, además de mostrar un incremento en la diversidad genética por el surgimiento de nuevos genotipos (Lavergne & Molofsky, 2007). La hibridación de la especie invasora con especies nativas puede facilitar la introgresión de alelos que alivien las fuerzas de selección sobre la especie invasora o incluso extender el rango de distribución en las áreas colonizadas (Owens *et al.*, 2016). La duplicación del genoma, más común en plantas, puede incrementar la heterocigosidad y la plasticidad fenotípica de la especie que amplía su rango de distribución. Otras especies, aunque carezcan de una alta diversidad genética pueden poseer alta plasticidad fenotípica facilitada por procesos epigenéticos (Duncan *et al.*, 2014). Esta

propuesta pretende analizar la diversidad genética de la especie para discutir el éxito de colonización e invasión en los ecosistemas aquí evaluados.

## 6 Estado del arte

### 6.1 Especie de estudio

*Oeceoclades maculata* (ver en apéndices, Fotografía 1) es una orquídea terrestre nativa de África y ampliamente distribuida en el Neotrópico (Ackerman, 2007; Cohen & Ackerman, 2009; Ueno *et al.*, 2015). La combinación de atributos anatómicos relaciona a la especie con una forma de vida terrestre o epífita y la asocia con ambientes xerofíticos, húmedos, o con alta intensidad lumínica, y son estos los atributos ambientales que podrían explicar, en parte, su éxito invasivo (Riverón-Giró *et al.*, 2017). El mecanismo de reproducción a nivel de flor es variable en todo su rango de distribución, por ejemplo, en Brasil domina el mecanismo de apareamiento mixto que permite una polinización cruzada a través de agentes bióticos (mariposas), mientras que la población en la Isla de Puerto Rico es autógama mediada por agentes abióticos (lluvia) (JMRBV. Aguiar *et al.*, 2012; J. M. R. B. V Aguiar & Pansarin, 2013), este último como un mecanismo que asegura un éxito reproductivo en ausencia de polinizadores y que ha sido reportado en otras orquídeas como *Acampe rígida* (Buch.-Ham. ex Sm.) P.F.Hunt en China (Fan *et al.*, 2012). Con la presencia de un mecanismo de reproducción autógamo en *O. maculata* se espera que las poblaciones presenten una baja diversidad genética, pero que este mecanismo le confiere la capacidad de establecerse en nuevos sitios y producir progenie a través de una reproducción uniparental (González-Díaz & Ackerman, 1988; Ueno *et al.*, 2015). *O. maculata* tiene la capacidad de colonizar y establecerse en bosques maduros con historia de disturbios y suelen ser muy abundantes (Cohen & Ackerman, 2009; Rojas-Sandoval & Acevedo-Rodríguez, 2015), pero pareciera no competir por el mismo nicho con orquídeas terrestres nativas, ya que *O. maculata* prefiere de sitios con topografía generalmente plana (Cohen & Ackerman, 2009).

### 6.2 Modelos demográficos -PPM, IPM-

El uso de modelos demográficos (de matrices o integrales) es el método ideal para estudiar y conocer el estado actual de poblaciones, sean estas plantas invasoras o especies con alguna categoría de amenaza, herramienta que ha sido utilizada para proponer planes de manejo y conservación de orquídeas (Tremblay & Hutchings, 2003). Estos modelos demográficos se han usado para evaluar el impacto de huracanes en la viabilidad y extinción de la orquídea *Lepant-hes caritensis* Tremblay & Ackerman (Crain, 2014); estado de las poblaciones de *L. rubripetala* Stimson, 13 años después utilizando como base lo esperado o pronosticado bajo los escenarios de modelos matriciales (Schödelbauerová *et al.*, 2010), así como el estudio de su dinámica transitoria antes de alcanzar la distribución de etapa estable (Tremblay *et al.*, 2015); efecto de la remoción de árboles en la dinámica poblacional de la orquídea *Cypripedium calceolus* L. (Hurskainen *et al.*, 2017); para evaluar el efecto de largo plazo de fenómenos atmosféricos como huracanes en las poblaciones de las orquídeas *Broughtonia cubensis* (Lindl.) Cogn. y *Dendrophylax lidnensis* (Lindl.) Bentham ex Rolfe (Mújica *et al.*, 2013); uso de modelos matriciales e integrales en *Brassavola cucullata* (L.) R.Br. para conocer los parámetros que influyen en la persistencia de la especie en poblaciones pequeñas (Ackerman *et al.*, 2020), entre otros.

Para el caso de *O. maculata* se cuenta con un estudio realizado en México en donde utilizaron modelos de proyección poblacional (PPMs) basado en categorías de tamaño (o etapas) para estimar la tasa de crecimiento poblacional ( $\lambda$ ) (Riverón-Giró *et al.*, 2019). Aunque estos modelos son ampliamente utilizados, pueden tener algunos problemas de sesgo y alta varianza por definirlos en etapas, por lo que para esta propuesta se usará también el modelo de proyección integral (IPMs), que refiere cómo la distribución de tamaño de los individuos cambia durante un período de tiempo describiendo parámetros de sobrevivencia, crecimiento y reproducción (o fecundidad) (Easterling *et al.*, 2000; Merow *et al.*, 2014). Estos modelos, IPMs, son más precisos y no sobreestiman  $\lambda$  cuando la dimensionalidad de la matriz es baja (Ramula *et al.*, 2009), como en el caso del estudio en México que contenía 4 categorías de tamaño para las poblaciones evaluadas (Riverón-Giró *et al.*, 2019). Para esta propuesta se espera realizar ambos modelos para compararlos, y así contar con las bondades de ambos para explicar su capacidad de invasión y recomendar los posibles controles que puedan hacerse en las poblaciones de esta orquídea invasora en el mediano y largo plazo.

### 6.3 Diversidad genética

La diversidad genética refleja la habilidad que tiene una especie determinada para adaptarse a ciertas condiciones ambientales, y la capacidad de seguir evolucionando en respuesta a cambios ambientales particulares. Entender los niveles de diversidad y estructura genética de las poblaciones facilita la discusión sobre el estado actual de las especies y los factores que la vulneran, para posteriormente crear las bases para formular planes de manejo y estrategias de protección y prevención basadas en ciencia. Por ejemplo, algunas especies muestran baja diversidad genética que se relaciona a la historia evolutiva y aislamiento geográfico, por lo que, de no tomar acciones concretas para su protección o control, la diversidad genética continuará erosionándose por endogamia (Liu *et al.*, 2020). La orquídea *Caladenia huegelii*, por ejemplo, muestra poblaciones genéticamente divergentes y una débil diferenciación genética que permitiría priorizar estrategias de conservación y programas de reintroducción con mínimos efectos negativos en la genética de las poblaciones (Swarts *et al.*, 2009). Una débil diferenciación genética también fue observada entre poblaciones geográficamente distantes de la orquídea *Liparis loeselii* sugiriendo un flujo génico entre ellas y que terminan siendo genéticamente equivalentes (Pillon *et al.*, 2007). Parece ser entonces que altos niveles de variación genética entre poblaciones de orquídeas no es un prerrequisito para un proceso de colonización exitoso (Sun, 1997). La orquídea invasora *O. maculata*, que es el objeto de estudio de esta propuesta, parece coincidir con el patrón descrito para otras orquídeas, ya que se reporta una baja diversidad genética intrapoblacional y marcadamente divergentes (Ueno *et al.*, 2015). Aunque existe información genética de la especie para regiones tropicales (Brasil), es importante contar con datos locales para abordar las estrategias de control y prevención de una forma más puntual, ya que existen factores socioambientales que difieren entre regiones y que podrían ser claves en la estructuración de estas acciones.

## 7 Objetivos

### Objetivo general

- Conocer el estado y estructura (demográfica y genética) de las poblaciones de la orquídea invasora, *O. maculata*, en tres tipos de ecosistemas (urbano, bosque seco y bosque latifoliado).

### Objetivos específicos

- Identificar, con base a la tasa de crecimiento poblacional, si las poblaciones de *O. maculata* están aumentando, disminuyendo o en equilibrio.
- Identificar el grupo de individuos que más aporta a la tasa de crecimiento poblacional de *O. maculata* por tipo de ecosistema.
- Comparar la estructura poblacional (demográfica y genética) de *O. maculata* en las tres localidades bajo estudio para discutir su capacidad de invasión.
- Evaluar, a través de un revisión bibliográfica y datos de campo, un posible impacto de *O. maculata* a orquídeas terrestres nativas con base a los nichos ecológicos ocupados.

## 8 Hipótesis

- La tasa de crecimiento poblacional será distinta en los tres ecosistemas bajo estudio, comportamiento dado por la estructura y distribución de tamaños de los individuos que conforman cada población.
- La diversidad genética será baja en las poblaciones bajo estudio y no variará entre localidades.
- El nicho ecológico de *O. maculata* será distinto a los que ocupan las orquídeas terrestres nativas, por lo que el impacto por posible desplazamiento y uso de recursos no es significativo.

## 9 Materiales y métodos

### 9.1 Enfoque de la investigación

El enfoque de la investigación fue cuantitativo.

### 9.2 Método

Para cumplir con los objetivos planteados en la propuesta, se necesitaron actividades de laboratorio y trabajo de campo para marcar, medir y supervisar a los individuos de las tres poblaciones, y la colecta de tejido vegetal (hojas) para el análisis genético. Así como una revisión de literatura, elaboración de informes y análisis utilizando diversos paquetes estadísticos del programa R (ejemplo: IPMpack, Popbio, Popdemo).

Para realizar el levantamiento de datos en campo, el Centro Universitario de Zacapa -CUN-ZAC- cuenta con el material para iniciar el trabajo de campo (ejemplo: cinta forestal, etiquetas de aluminio, cintas métricas) y el equipo necesario para imprimir las hojas de datos. Para el

desarrollo y ejecución del proyecto se cuenta con el recurso humano calificado, por ejemplo, el Coordinador del Proyecto ha realizado estudios demográficos utilizando los modelos aquí propuestos con la especie endémica de Puerto Rico *Gesneria pauciflora* Urb. (Pérez *et al.*, 2018, 2019), así como en el análisis demográfico de la orquídea *Brassavola cucullata* (L.) R. Br. en la Isla de Saba y St. Eustatius en las Antillas Menores (Ackerman *et al.*, 2020). Adicionalmente, la Unidad Académica avaladora de la propuesta cuenta con un laboratorio y personal calificado para realizar el trabajo molecular, por ejemplo, el Dr. Barrios apoyó con la extracción, purificación y amplificación de las muestras de ADN de las tres poblaciones bajo estudio.

### 9.3 Recolección de la información

#### 9.3.1 Sitio de estudio

Para este proyecto se trabajó en tres localidades que representan distintos tipos de ecosistemas y condiciones de paisaje: Urbano (Reserva Natural Privada Sisters de Maryknoll, Colegio Monte María, nodo metropolitano, Guatemala), Bosque Latifoliado (Área de Conservación Entre Selvas, Finca Las Marías en Chiquimulilla, Santa Rosa) y Bosque Seco (Reserva Natural para la Conservación del Heloderma y el Bosque Seco en Cabañas, Zacapa). En cada ecosistema se establecieron entre 4 y 5 parcelas de un décimo de hectárea (0.01 Ha), se localizaron en áreas con mayor densidad de plantas y con ello una mejor representación de la población. Las parcelas se ubicaron a unos 100 metros entre ellas.

#### 9.3.2 Monitoreo demográfico

Para esta propuesta se realizaron dos censos, el primero durante la época seca (marzo-mayo) y el segundo durante la época lluviosa (agosto-octubre). Una vez demarcadas y establecidas las unidades de muestreo se codificaron y midieron todos los individuos de *O. maculata*. En el primer censo, cada individuo fue codificado utilizando etiquetas de aluminio (ejemplo, Om01) y cinta forestal, se midió el largo y ancho (cm<sup>2</sup>) de las tres hojas más grandes para estimar su tamaño (suma del área foliar de las tres hojas). Adicionalmente, se anotó si la orquídea estaba en fase reproductiva (1: si presentaba inflorescencias, flores o frutos, 0: si está en fase vegetativa) y en el caso de tener flores o frutos, se anotó la cantidad. En el segundo censo se reportó el tamaño y la condición reproductiva de los individuos marcados y que sobrevivieron desde el primer censo. Para esto se reportó con “1” todos aquellos que sobrevivieron y con “0” los que murieron. Se definió como individuo muerto si la parte vegetativa de la orquídea estuviera seca, o si por algún disturbio no logró localizarse (ejemplo, si fue removida totalmente por algún herbívoro, o soterrada por la caída de una rama o tronco de árbol, entre otros). Los nuevos individuos o plántulas (ver en apéndices, Fotografía 2) registrados en el segundo censo fueron codificados y medidos siguiendo la metodología antes descrita.

#### 9.3.3 Colecta de tejidos para análisis demográfico

Las mismas localidades fueron utilizadas para la colecta de tejido foliar para el análisis genético, estas fueron recolectadas durante el primer censo demográfico. Los individuos de donde se extrajo la muestra no fueron los mismos que se utilizaron para el análisis demográfico, ya que la remoción de una parte vegetativa podía influir en la sobrevivencia y crecimiento de las plantas. En las áreas vecinas a las parcelas de monitoreo demográfico, se llevaron a cabo recorridos en búsqueda de orquídeas esperando contar con muestras de tejido foliar de al menos 15 individuos por sitio. Las características de los individuos utilizados para la muestra molecular debían tener, de preferencia, un tamaño entre 12 y 30 cm y con características fenotípicas que reflejen un estado saludable (Ueno *et al.*, 2015). Las muestras fueron resguardadas en tubos Eppendorf con etanol al 95% y trasladadas al laboratorio de biología molecular en las instalaciones de CUNZAC, donde se realizaron los trabajos de extracción y amplificación de ADN.

## 9.4 Revisión de literatura

Durante la fase de laboratorio se hizo una revisión bibliográfica sobre los ecosistemas que colonizan las orquídeas terrestres nativas del país dentro de los ecosistemas bajo estudio. En la fase de campo se identificaron las orquídeas terrestres nativas presentes en las unidades de muestreo y las observadas en recorridos no sistemáticos en las tres localidades.

## 9.5 Técnicas e instrumentos

### 9.5.1 Monitoreo demográfico

Para evaluar el estado actual de las poblaciones de *O. maculata* se utilizó el modelo de matrices de proyección poblacional (PPMs) y el modelo de proyección integral (IPMs). Con estas herramientas se estimó y comparó la tasa de crecimiento poblacional para saber si las poblaciones están creciendo, reduciendo o en equilibrio. Además, se corrieron una serie de análisis (ejemplo, análisis de elasticidad) que nos permitió identificar los individuos, o categorías de tamaño, que mayor aportan a la tasa de crecimiento, como premisa para recomendar posibles estrategias de control y prevención.

### 9.5.2 Modelos matriciales -PPM-

Para el PPMs se definieron cuatro categorías de tamaño (Figura 1) utilizando como parámetro de tamaño el área foliar (largo \* ancho), esto con base a estudios previos realizados con la especie (Riverón-Giró *et al.*, 2019), estas categorías fueron las siguientes: plántulas (S1:  $\leq 26.4$   $\text{cm}^2$ ), juveniles (S2:  $26.4 - 50.5$   $\text{cm}^2$ ), y dos categorías de adultos (S3:  $50.51-108.5$   $\text{cm}^2$ ; S4:  $> 108.5$   $\text{cm}^2$ ). Para el dato de tamaño por individuo, se utilizó la suma del área foliar de las tres hojas más largas, si el individuo tenía menos de tres hojas se consideró la suma del área foliar de las dos hojas o un solo dato de tener una hoja. Para estimar la fecundidad por individuo, se usaron las variables siguientes atendiendo a lo descrito en el paquete Popbio (Stubben & Milligan, 2007): frutos producidos por planta dividido por la totalidad de frutos reportados en la población y número de nuevos reclutas.

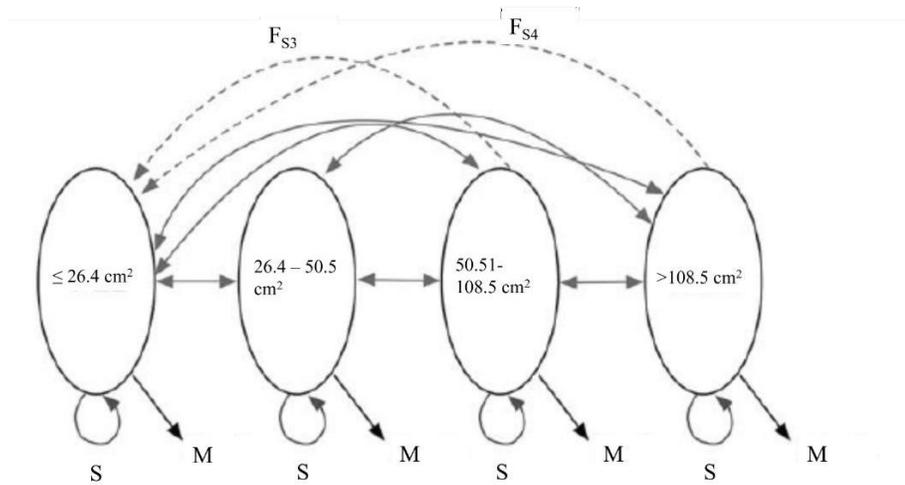


Figura 1 Ciclo de vida hipotético de *Oeceoclades maculata*. El tamaño de los individuos por categoría está dado por el área foliar: plántulas (S1:  $\leq 26.4 \text{ cm}^2$ ), juveniles (S2:  $26.4 - 50.5 \text{ cm}^2$ ) y dos categorías de adultos (S3:  $50.51-108.5 \text{ cm}^2$ ; S4:  $> 108.5 \text{ cm}^2$ ). Las líneas punteadas representan categorías de tamaño que son reproductivas y aportan con nuevos individuos a la población (FS3, FS4). Diagrama modificado de Ackerman *et al.* (2020).

### 9.5.3 Modelos integrales -IPM-

A diferencia del PPM, el modelo de proyección integral (IPMs) no aglomera *a priori* a los individuos en categorías de tamaño, sino que analiza cómo la distribución de tamaño de los individuos cambia de un tiempo  $t$  a un tiempo  $t+1$  describiendo parámetros de sobrevivencia, crecimiento y reproducción (o fecundidad) (Easterling *et al.*, 2000; Merow *et al.*, 2014). Los IPMs se componen de dos funciones, la primera describe la probabilidad de sobrevivencia en un período de tiempo,  $s(z)$ , y la distribución de tamaños ( $z$ ) de los sobrevivientes,  $G(z'|z)$ . La segunda función evalúa la contribución reproductiva de cada individuo e incluye las plantas que florecieron o no (con la condición de que hayan sobrevivido,  $P_{\text{flor}}|z$ ), si florecieron, cuántos frutos produjeron por planta ( $P_{\text{fruto}}|z$ ), la probabilidad de establecimiento ( $P_{\text{est}}$ , una constante) que en este caso fue estimada por la cantidad de nuevos reclutas y la totalidad de frutos producidos, y la distribución de tamaño de los nuevos reclutas o plántulas ( $F_{\text{plántula}}|z'$ ). Los parámetros vitales descritos anteriormente están en función del tamaño en el tiempo  $t$ , por lo que la distribución integrada de *Oeceoclades maculata* fue la siguiente:  $n_{t+1}(z') = \int_{\Omega} s(z) * G(z'|z) + P_{\text{flor}}|z * P_{\text{fruto}}|z * P_{\text{est}} * F_{\text{plántula}}|z'$ , donde  $z'$  es el tamaño de la planta en el tiempo  $t+1$ , y  $\Omega$  representa el tamaño mínimo y máximo de las plantas.

### 9.6 Extracción, purificación y amplificación de ADN

A continuación, se describe la metodología inicialmente planteada en la propuesta. Sin embargo, en la sección de resultados se especifican las modificaciones realizadas para lograr una extracción y amplificación del ADN. En este sentido, el tejido foliar, una vez en el laboratorio, debió ser macerado utilizando nitrógeno líquido, el ADN debía extraerse utilizando el método CTAB descrito por Doyle & Doyle (1987). La purificación debía realizarse utilizando columnas de sílica, buffer de unión, buffer de lavado y buffer de elución. La verificación de la extracción debía realizarse en geles de agarosa al 1%, con SYBR Green en el transiluminador. Para la PCR se tenía contemplado un conjunto de 13 primers ISSR que consisten en las siguientes secuencias [(CA)7-YC, (GT)7-YG, (AG)7-YC, (CAC)4-RC, (CTC)4-RC, (GAG)4-RC, (GTG)4-RC, (CT)8-TG, (CT)8-RA, (CT)8-RC, (CA)6-RY, (CA)6-RG, (GT)6-AY] (Ueno *et al.*, 2015). La reacción de PCR propuesta era de realizarse a un volumen de 25  $\mu\text{L}$  que contuvo lo siguiente: JumpStart REDTaq ReadyMix (1x), ISSR primer (0.4  $\mu\text{M}$ ), muestra de ADN (10ng) y ddH<sub>2</sub>O para aforar a 25  $\mu\text{L}$ . Para la selección de los primers debían evaluarse los polimorfismos detectados utilizando cuatro individuos de cada población. El programa de PCR propuesto inicialmente era: 94 por 2 min de desnaturalización, seguido de 35 ciclos de 94 por 30 s de desnaturalización, 44 a 52 por 30 s de alineamiento, 72 por 2 min de extensión. Finalmente debía realizarse una extensión final de 72 por 5 min. Una vez identificados los primers polimórficos debían usarse para amplificar el resto de las muestras. Los productos de PCR debían correr en geles de agarosa al 2% con buffer TBE 1X, durante 135 min a 90 V. Además de utilizar una escalera de 100pb para identificar la longitud de las bandas amplificadas. Los geles debían visualizarse en luz ultravioleta en el transiluminador.

## **10 Aspectos éticos y legales**

Para este estudio no fue requerida una opinión favorable de un comité de bioética o permisos, o licencias. Sin embargo, el coordinador ya contaba con una licencia de investigación y permisos para realizar colectas de especímenes vegetales (gestionada desde el Herbario USCG) en caso hubiese sido necesario.

## 11 Resultados y discusión

### 11.1 Resultados

#### 11.1.1 Características generales de las poblaciones de *Oeceoclades maculata* en los tres ecosistemas estudiados

La población inicial marcada y monitoreada en el presente estudio fue de 996 plantas (Tabla 1), finalizando con 1099 que incluye a los nuevos reclutas o individuos registrados en el segundo censo (Tabla 2).

El bosque seco registró la población inicial más grande seguida por el bosque urbano, la población localizada en bosque latifoliado presentó la menor cantidad de individuos (Tabla 1). La categoría de tamaño “1”, que corresponde a plántulas mayormente o individuos pequeños, es la más común y dominante en las poblaciones del bosque seco y urbano, mientras que para el bosque latifoliado corresponde a la categoría “3”, que son plantas adultas con mayor capacidad reproductiva (Tabla 1). La categoría de tamaño “4”, que corresponde también a plantas con capacidad reproductiva, es la menos representada en los tres ecosistemas, aunque la proporción tiende a ser mayor en el bosque latifoliado (Tabla 1).

*Tabla 1 Estructura de tamaños de la población inicial en los tres ecosistemas evaluados.*

| Tamaños     | Ecosistema         |             |               | Total |
|-------------|--------------------|-------------|---------------|-------|
|             | Bosque latifoliado | Bosque seco | Bosque urbano |       |
| Categoría 1 | 67                 | 273         | 147           | 487   |
| Categoría 2 | 44                 | 83          | 100           | 227   |
| Categoría 3 | 80                 | 56          | 79            | 215   |
| Categoría 4 | 42                 | 11          | 14            | 67    |
| Total       | 233                | 423         | 340           | 996   |

Fuente: elaboración propia con datos recopilados en campo.

Nota: esta tabla no incluye datos de mortalidad, este parámetro se incluye en Tabla 2.

De las tres poblaciones estudiadas, el bosque seco presentó la mayor tasa de mortalidad (58%) seguido por el bosque urbano (20%), mientras que el bosque latifoliado reporta la menor cantidad de individuos muertos (7%) durante el período evaluado (Tabla 2). Asimismo, el bosque seco presentó la mayor cantidad de nuevos reclutas o individuos registrados en el segundo censo con 248. El bosque latifoliado fue la segunda población con mayor número de nuevos individuos (131), mientras que en el bosque urbano fue menor (55 individuos, Tabla 2).

En términos reproductivos, el bosque latifoliado reportó el mayor número de plantas en estado reproductivo (54) que en conjunto acumularon una cantidad de 118 frutos. En el bosque urbano se registraron 34 plantas en estado reproductivo, mientras que en el bosque seco únicamente cuatro, pero ambos ecosistemas reportaron menos de 15 frutos por población (Tabla 2). En todas las poblaciones la tendencia fue similar, individuos de tamaño intermedio o mayor tamaño tienen más probabilidad de estar en una fase reproductiva y producir flores y frutos.

*Tabla 2 Parámetros poblacionales en los tres ecosistemas bajo estudio.*

| Ecosistemas        | Plantas tiempo $t$ | Muertas | Plantas reproductivas | Frutos producidos | Nuevos reclutas | Plantas tiempo $t+1$ |
|--------------------|--------------------|---------|-----------------------|-------------------|-----------------|----------------------|
| Bosque latifoliado | 233                | 16      | 54                    | 118               | 131             | 348                  |
| Bosque seco        | 426                | 247     | 4                     | 14                | 245             | 424                  |
| Bosque urbano      | 340                | 68      | 34                    | 11                | 55              | 327                  |
| Total              | 996                | 331     | 92                    | 143               | 431             | 1099                 |

Fuente: elaboración propia con datos recopilados en campo.

### 11.1.2 Estado y estructura de las poblaciones de *Oeceoclades maculata* en tres ecosistemas utilizando modelos matriciales -PPM-

Con base a los modelos de proyección matricial, en los tres ecosistemas estudiados las poblaciones tienen una tasa de crecimiento poblacional mayor a uno ( $\lambda > 1$ ), lo que significa que éstas se encuentran en crecimiento. Aunque la tendencia de las tres poblaciones es a aumentar su tamaño, la tasa de crecimiento poblacional es variable entre ecosistemas. Por ejemplo, la proyección de crecimiento de la población ubicada en el bosque latifoliado es de 32% semestralmente (que fue el período entre censos), mientras que en las otras dos poblaciones la tasa de incremento es menor al 10% (Tabla 3).

Los parámetros vitales que más aportan a la tasa de crecimiento poblacional se muestran en la Tabla 3. Por ejemplo, cambios proporcionales en el parámetro de sobrevivencia ( $>0.4$ ) de las poblaciones del bosque urbano y latifoliado tiene el mayor impacto en  $\lambda$ , mientras que para el bosque seco corresponde al crecimiento de plantas (0.4155).

En el caso del bosque urbano, la sobrevivencia de los individuos en la Categoría 4 son los que más aportan a  $\lambda$  (0.21), mientras que en el bosque latifoliado resultan ser las dos clases de tamaño más grandes (Categorías 3 y 4). La transición hacia el tamaño más grande (Categoría 4, rango 0.067-0.086) es la que mayor impacto tiene en  $\lambda$  del bosque seco.

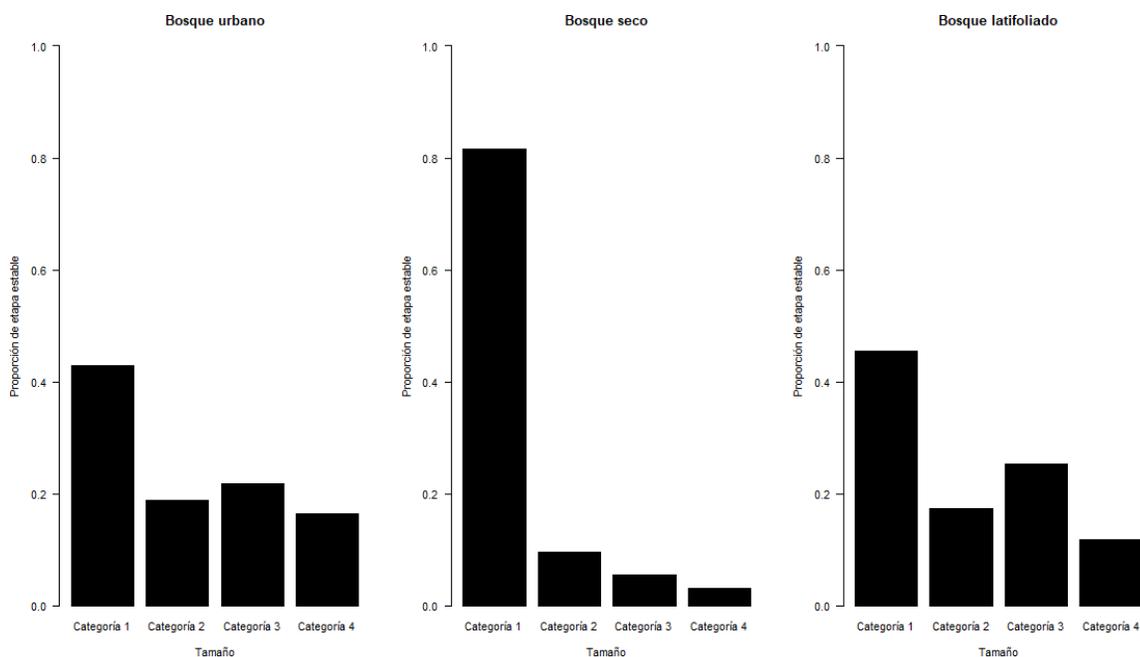
Tabla 3 Tasa de crecimiento poblacional y el aporte de los parámetros vitales de las poblaciones que más aportan a  $\lambda$ .

| Ecosistema         | Tasa de crecimiento poblacional ( $\lambda$ ) | Análisis de elasticidad |               |             |
|--------------------|---|-------------------------|---------------|-------------|
|                    |   | Fecundidad              | Sobrevivencia | Crecimiento |
| Bosque urbano      | 1.0677  | 0.2532                  | 0.4868        | 0.3332      |
| Bosque seco        | 1.0814  | 0.2866                  | 0.3283        | 0.4155      |
| Bosque latifoliado | 1.3211  | 0.2421                  | 0.4557        | 0.3549      |

Fuente: elaboración propia con datos recopilados en campo.

Si la estructura de la población de *O. maculata* alcanza el equilibrio, ésta estaría dominada por plantas pequeñas (Categoría 1, mayormente plántulas) en todos los ecosistemas. En el caso del bosque seco la Categoría 1 dominaría con más del 80%, mientras que en los otros ecosistemas estaría alrededor del 45% (Figura 2).

Figura 2 Distribución estable de categorías de tamaño en las poblaciones de *Oeceoclades maculata* estudiadas.



### 11.1.3 Estado y estructura de las poblaciones de *Oeceoclades maculata* en tres ecosistemas utilizando modelos integrales -IPM-

Con base al modelo integral, dos de los tres ecosistemas estudiados presentan poblaciones en crecimiento ( $\lambda > 1$ ), siendo estas la del bosque seco y bosque latifoliado (Tabla 4). El  $\lambda$  estimado para el bosque urbano sugiere que la población está reduciéndose a una tasa del 15% semestral aproximadamente ( $\lambda=0.8568$ ).

Tabla 4 Tasa de crecimiento poblacional  $-\lambda-$  de las poblaciones en los tres ecosistemas utilizando el modelo integral.

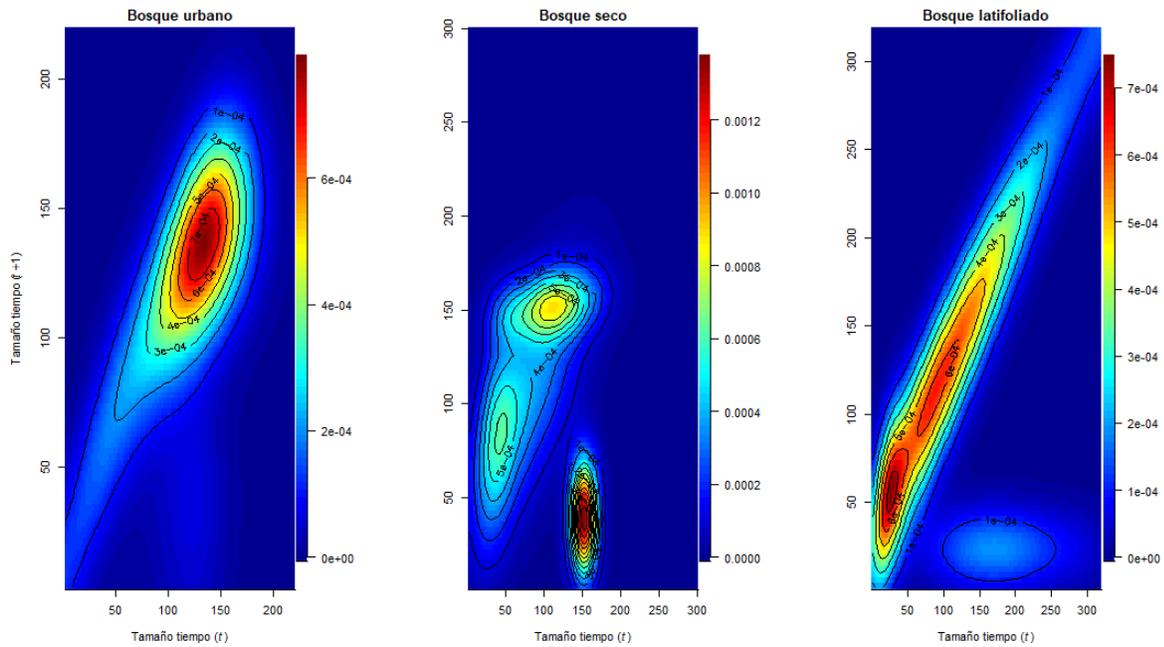
| Ecosistema         | Tasa de crecimiento poblacional ( $\lambda$ ) |
|--------------------|---|
| Bosque urbano      | 0.8667  |
| Bosque seco        | 1.1838  |
| Bosque latifoliado | 1.3215  |

Fuente: elaboración propia con datos recopilados en campo.

Los parámetros vitales que más aportan a la tasa de crecimiento poblacional se muestran en la Figura 3. Para la población del bosque urbano y bosque latifoliado, la sobrevivencia de los individuos tiene mayor impacto en  $\lambda$  (coloración más intensa sobre la diagonal). En el bosque urbano la sobrevivencia de individuos con área foliar mayor a 100 cm<sup>2</sup> son lo que más efecto tienen en  $\lambda$ , mientras que para el bosque latifoliado corresponde a la sobrevivencia de los individuos menores a 150 cm<sup>2</sup>.

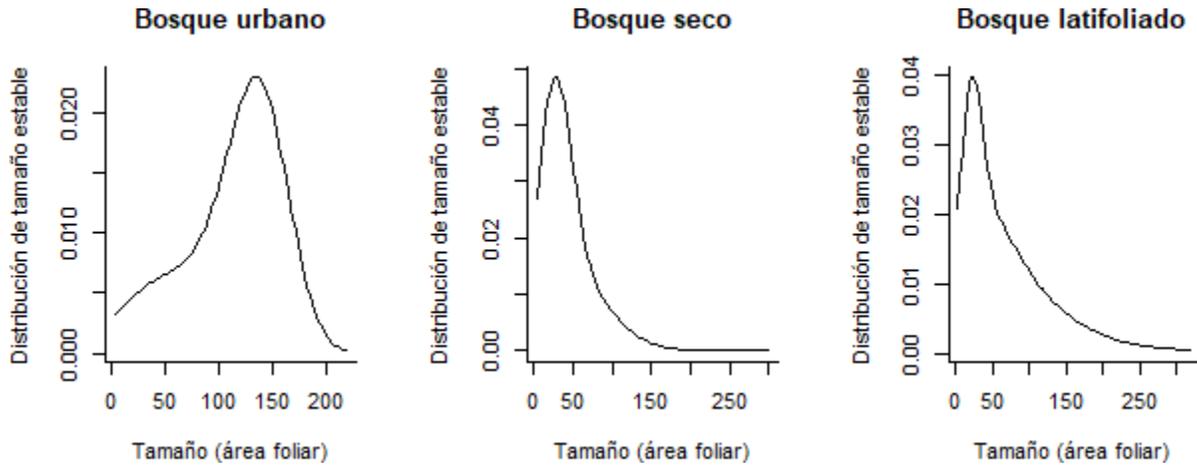
En la población del bosque seco, la fecundidad y crecimiento de plantas son los parámetros que más efecto tienen en la tasa de crecimiento poblacional, específicamente el aporte de nuevos reclutas generados por individuos de tamaño intermedio (150 cm<sup>2</sup>) y *el crecimiento de plantas pequeñas reportadas en el primer censo*.

Figura 3 Análisis de elasticidad para las poblaciones bajo estudio utilizando el modelo integral.



Si la estructura de la población de *O. maculata* alcanza el equilibrio tanto la población del bosque seco y latifoliado estarían dominados por individuos de menor tamaño (50 cm<sup>2</sup> aproximadamente), mientras que para la población del bosque urbano estarían dominados por plantas con tamaño entre 100 y 150 cm<sup>2</sup> (Figura 4).

Figura 4 Distribución de tamaños estable en las tres poblaciones bajo estudio utilizando el modelo integral.



## 11.2 Descripción del hábitat de *Oeceoclades maculata*

### 11.2.1 Bosque Urbano (Reserva Natural Privada Monte María, Ciudad de Guatemala)

La población marcada y monitoreada estuvo localizada dentro de los límites de la Reserva Natural Privada Monte María, un remanente de bosque que conforma los corredores naturales de barrancos en la Ciudad de Guatemala. Las unidades de muestreo fueron localizadas en áreas dominadas por encinos (*Quercus peduncularis*) que sobrepasan los 10 m de altura, y en lugares con presencia de bambú (*Bambusa* sp.) menores a 10 m de altura. Ambos taxones producen mucha sombra, ya sea por la arquitectura de la copa (copas anchas en el caso de encinos) o alta densidad de individuos y follaje (caso de bambú). Además, ambos taxones generan alto contenido de hojarasca por defoliación. La topografía de ambos sitios es generalmente plana a ondulada, que permite la acumulación constante de materia orgánica.

### 11.2.2 Bosque Seco (Reserva Natural Heloderma, Zacapa)

El bosque localizado dentro de los límites de la Reserva del Heloderma se caracteriza por presentar árboles de hasta 20 m de altura, dominando por Palo de Jiote (*Bursera simaruba*), Caoba (*Swietenia macrophylla*), Pucté (*Bucida buceras*) y leguminosas. Así como un sotobosque dominado por bromelias terrestres (*Hechtia* sp.), agaves (*Agave* sp.), entre otras. La población marcada y monitoreada se ubicó principalmente en cabecera de cuenca con pendientes pronunciadas o a lo largo de ríos o riachuelos intermitentes con topografía ondulada. Estos hábitats ribereños tienden a ser altamente sombreados, húmedos y con alto contenido de hojarasca. En la cabecera de cuenca en donde las pendientes son más pronunciadas, las bromelias terrestres, ramas y troncos caídos favorece la acumulación de materia orgánica; mientras que en ríos y riachuelos intermitentes la acumulación de hojarasca ocurre en taludes y orilla del cauce. En ambos sitios se localizaron la mayor cantidad de individuos de *O. maculata*.

### 11.2.3 Bosque Latifoliado (Finca Las Marías, Chiquimulilla)

El remanente de bosque natural en Finca Las Marías estuvo constituido por árboles que pueden llegar a medir más de 30 m de altura, el dosel es bastante cerrado generando condiciones de mucha sombra y humedad. Los árboles dominantes son el Ujushte (*Brosimum costaricanum*), Medallo (*Vatairea lundellii*), Chichipate (*Acosmium panamense*), Guapinol (*Hymenaea corubaril*), entre otros, que acumulan una capa considerable de hojarasca en el piso del sotobosque. Estas condiciones, además de una topografía ondulada y pendientes poco pronunciadas, son ideales para la colonización y establecimiento de *O. maculata*.

#### 11.2.4 Orquídeas terrestres nativas reportadas

En la Tabla 5 se enlistan las orquídeas terrestres nativas reportadas para los tres ecosistemas estudiados. Estas especies colonizan los mismos hábitats de *O. maculata*, pero prefieren de micrositios con suelo expuesto pues se fijan directamente al sustrato, o con poca materia orgánica, y son menos abundantes (una a dos plantas por parcelas). En general la riqueza de especies es muy baja en los ecosistemas evaluados.

Tabla 5 Listado de orquídeas terrestres nativas reportadas en los tres ecosistemas estudiados.

| Especie   | Bosque urbano | Bosque seco | Bosque latifoliado |
|---|---------------|-------------|--------------------|
| <i>Sarcoglottis</i> sp.                         | X             | X           | X                  |
| <i>Govenia</i> <i>superba</i><br>(Lex.) Lindl.  | X             |             |                    |
| <i>Habenaria</i><br><i>macroceratitis</i> Wild. |               | X           |                    |

### 11.3 Extracción, purificación y amplificación de ADN

Se estandarizó la técnica de extracción de ADN utilizando dos métodos de extracción (1) 2X CTAB + Proteinasa K + ARNasa y 2) 2X CTAB + PVP + 2-mercaptoetanol + Proteinasa K + ARNasa) y dos métodos de preservación del tejido (1) Etanol al 96% y 2) Tejido fresco). Para evaluar el método de extracción y preservación más eficiente se utilizó un diseño adaptativo, de acuerdo con la ecuación 1.

Ecuación 1. Modelo estadístico:  $Y_{ij} = \mu + \tau_i + \epsilon_{ij}$

Donde:

$Y_{ij}$  es la observación de la respuesta en la  $j$ -ésima unidad experimental del  $i$ -ésimo tratamiento,  $\mu$  es la media general.  $\tau_i$  es el efecto del  $i$ -ésimo tratamiento (1 para "Método de Extracción", 2 para "Método de Preservación del Tejido"),  $\epsilon_{ij}$  es el error aleatorio asociado con la  $j$ -ésima observación del  $i$ -ésimo tratamiento, que se supone distribuido normalmente con media cero y varianza constante  $\sigma^2$ .

El protocolo de extracción completo conllevó la modificación del protocolo estándar de Doyle & Doyle (1987), específicamente en la lisis. Para lo cual se incrementaron los tiempos de incubación durante la lisis de los tejidos y se añadió Proteinasa K y ARNasa.

Preparación Buffer 2X CTAB: Inicialmente se prepararon 500 ml de solución buffer 2X CTAB (0.05 N EDTA, 0.1 N Tris-Base, 1.4 N de NaCl y 2% CTAB). La solución se almacenó en un envase estéril y en oscuridad hasta su uso a temperatura ambiente.

Extracción del ADN genómico: Se maceró tejido de las hojas o de las raíces de material fresco de *O. maculata*, el tejido se congeló previamente a  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Una vez pulverizado el tejido se colocaron 200 miligramos en tubos de 2ml para un total de 4 tubos. A cada tubo se le añadió 1.4  $\mu\text{l}$  de buffer de extracción (2X CTAB + 2% PVP + 0.2% 2-betameraptoetanol) y se dejó incubar a  $65\text{ }^{\circ}\text{C}$  con agitación durante 1 hora. Posteriormente, se añadieron 2  $\mu\text{l}$  de Proteinasa K y se incubó a  $60\text{ }^{\circ}\text{C}$  con agitación durante 30 minutos. Luego se centrifugó a 12,000 rpm durante 10 minutos, el sobrenadante se trasvasó en porciones iguales a dos tubos que contenían 600  $\mu\text{l}$  de Cloroformo: Alcohol Isoamílico (24:1) y se agitó en el vortex hasta forma una solución homogénea. Los tubos se centrifugaron a 12,000 rpm durante 10 minutos hasta que se formaron 3 fases. Se retiró con cuidado la fase acuosa de dos tubos y se trasvasó en a un solo tubo que contenía 600  $\mu\text{l}$  de Cloroformo: Alcohol Isoamílico (24:1) y se agitó nuevamente en el vortex hasta forma una solución homogénea. Los tubos se centrifugaron a 12,000 rpm durante 10 minutos hasta que se formaron 2 fases. Se retiró con cuidado la fase acuosa, se trasvasó a un tubo de 1.4 ml, se le añadieron 600  $\mu\text{l}$  etanol absoluto a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  y 150  $\mu\text{l}$  de NaCl (0.5 M) y se mezcló bien. Se centrifugó a 12,000 rpm durante 10 minutos, se decantó la solución, se lavó el pellet con etanol al 70% y se centrifugó por 5 minutos a 12,000 rpm. El etanol se decantó y se dejó secar el tubo. Finalmente, se hicieron diluciones de 50  $\mu\text{l}$  con buffer TE y se juntó el contenido de los tubos para un volumen final de 200  $\mu\text{l}$ .

Cuantificación del ADN: Para cuantificar el ADN se utilizó un equipo de fluorescencia Qubit 3.0 y un kit Biotium AccuGreen™ High Sensitivity dsDNA Quantitation Kit. Se calentaron todos los componentes del kit a temperatura ambiente antes de usar. Se preparó la solución de trabajo 1X diluyendo el DYE AccuGreen™ 200X en una proporción de 1:200 en Buffer de Cuantificación de ADN 1X. Se ocuparon 200 µL de solución de trabajo para cada estándar y muestra a ser probada. Para cada estándar, se pipetearon 190 µL de la solución de trabajo en un tubo para Qubit de 0.5 mL. En el primer tubo, se pipetearon 10 µL del Estándar 1 de AccuGreen™ (0 ng/µL). En un segundo tubo, se pipetearon 10 µL del Estándar 2 de AccuGreen™ (10 ng/µL). Para cada muestra, se pipetearon 198 µL de solución de trabajo y 2 µL de muestra de ADN a cuantificar en su propio tubo. Se ataron los tubos suavemente y luego se incubó la temperatura ambiente durante al menos 2 minutos. Finalmente, se calibró el equipo con los estándares y se procedió a la cuantificación.

Evaluación de la calidad del ADN: Para evaluar la calidad del ADN se prepararon geles de agarosa al 0.7% con SYBR Safe DNA Gel Stain. En el primer pozo de cada fila se cargó una escalera de 100 pb y en el resto de los pozos se cargó el ADN total junto con un DYE de carga en una proporción de 6:1. La electroforesis se llevó a cabo durante 40 minutos a 90 volts. Las bandas de ADN se visualizaron a 254 nm.

Para la amplificación de las regiones ISSR se utilizaron los cebadores utilizados por Ueno et al. (2015). La reacción de PCR se realizó en un volumen total de 25 µl que contenía 1X AmpliTaq Gold™ 360 Master Mix, 0.2 µM del primer ISSR y 20 ng de ADN genómico. Inicialmente la reacción de PCR se llevó a cabo utilizando el mismo programa por Ueno et al. (2015), sin embargo, no se obtuvieron amplificaciones. En un segundo ensayo se realizó una PCR de gradiente utilizando las siguientes temperaturas de alineamiento: 38°C, 40°C, 42°C, 46°C y 48°C.

#### **11.4 Resultados de extracción y amplificación con cebadores ISSR**

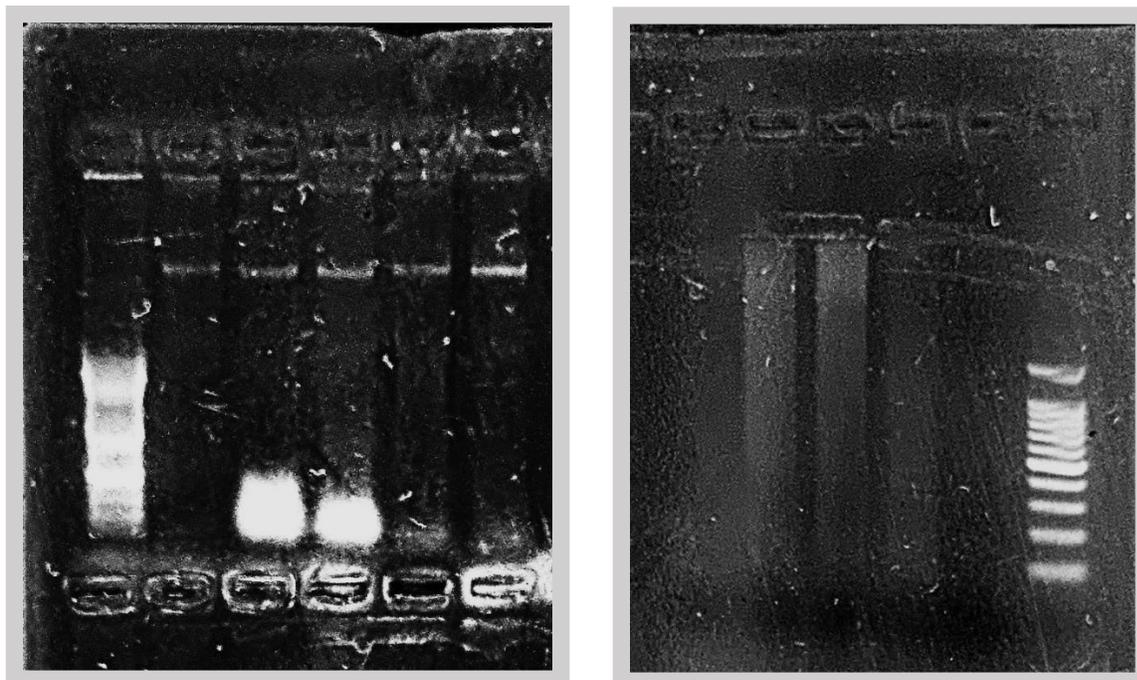
Se llevaron a cabo extracciones de ADN utilizando el método de CTAB en muestras de tejido fresco y tejido preservado en alcohol (etanol al 96%) de la especie *O. maculata*. El rendimiento de ADN extraído de tejido fresco presentó mayores concentraciones (21.8 ng/µl ± 6.5), mientras el tejido preservado en etanol al 96% proveyó un menor rendimiento del ADN obtenido, mostrando un menor rendimiento 3.4 ± 3.42 (Tabla 6).

*Tabla 6 Concentraciones de ADN en ng/μl estimadas por el método de fluorescencia en Qubit 3.0.*

| No. | Tejido fresco + 2X CTAB + PVP + 2 betamercaptoetanol + Proteinasa K + ARNasa A | Tejido preservado en etanol + 2X CTAB |
|-----|--|---------------------------------------|
| 1   | 30.3   | 3.47                                  |
| 2   | 26.7   | 8.27                                  |
| 3   | 20.3   | 0.584                                 |
| 4   | 16.1   | 1.52                                  |
| 5   | 15.6   | No detectable                         |

En cuanto a la calidad del ADN se utilizaron geles de agarosa para evaluar la integridad del ADN. El tratamiento con tejido fresco presentó bandas con alta densidad de ADN, mientras el tejido que fue preservado en etanol presentó “smears” a lo largo del recorrido paralelo a la escalera (100pb, Figura 5).

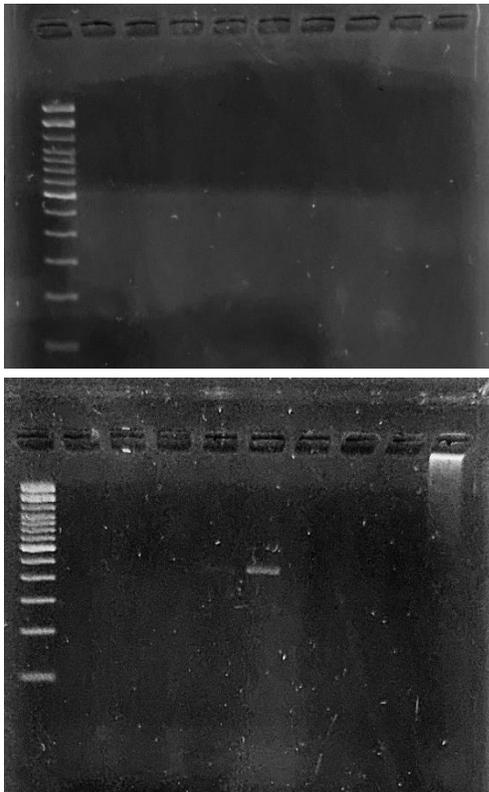
*Figura 5 Análisis de la calidad del ADN extraído de muestras de tejido fresco (izquierda) y muestras de tejido preservado en etanol al 96% (derecha).*



### 11.5 Resultados de amplificación con cebadores ISRR

El protocolo de PCR descrito por Ueno et al. (2015), no presentó bandas de amplificación de los segmentos ISSR. Por lo tanto, se realizó una PCR de gradiente para identificar temperaturas de alineamiento más favorables. De las temperaturas evaluadas, en un rango de 38 °C a 48 °C, la de 48 °C fue la única que presentó amplificación (Figura 6).

*Figura 6 Análisis de la amplificación de marcadores ISSR en Oeceoclades maculata utilizando el protocolo de PCR de Ueno et al. (2015) (imagen superior) y ajustando temperaturas con PCR de gradiente (imagen inferior).*



## 12 Discusión de resultados

Con excepción del bosque urbano, la tasa de crecimiento poblacional ( $\lambda$ ) estimada con ambos modelos es muy parecida y sugiere un incremento de la población en el largo plazo. La diferencia en  $\lambda$  del bosque urbano usando los dos modelos demográficos puede estar dada por la dimensionalidad de la matriz que tiene un efecto directo en la estimación de este parámetro. Al utilizar modelos matriciales (PPM) con pocas categorías de tamaño (como es el caso del presente estudio) tiende a incrementarse el valor de  $\lambda$  (Rojas-Sandoval & Meléndez-Ackerman, 2013). Esto se observó para la población del bosque urbano, aunque no fue consistente para los otros tipos de bosque. Sin embargo, el patrón demográfico general observado con ambos modelos es similar, la población del bosque latifoliado y bosque urbano presentan la mayor y menor tasa de crecimiento poblacional, respectivamente. Considerando que al incrementarse la dimensionalidad de la matriz el ancho de las categorías de tamaño tiende a cero, y que en

estos casos el modelo matricial converge hacia un modelo integral (Rojas-Sandoval & Meléndez-Ackerman, 2013), la discusión se centrará en los resultados obtenidos con el IPM.

Los valores de  $\lambda$  estimados están en el rango de los reportados en las poblaciones de *O. maculata* en México durante el período 2014-2015 que estuvieron entre 0.8-1.7 aproximadamente (Riverón-Giró *et al.*, 2019). En este estudio también se resalta que los parámetros que mayor aportan a la tasa de crecimiento poblacional son la sobrevivencia y crecimiento, similar a lo encontrado en las poblaciones aquí estudiadas, pero con algunas diferencias. En las poblaciones de México las plantas de mayor tamaño (ej. Categoría 3 y 4) son las que más aportan a la tasa de crecimiento poblacional (Riverón-Giró *et al.*, 2019), y esto es similar a lo encontrado para la población del bosque urbano únicamente. En el caso de la población del bosque latifoliado, las plantas pequeñas y de tamaño intermedio son las que más efecto tienen en la tasa de crecimiento poblacional, mientras que, en el caso de la población del bosque seco, la transición hacia plantas más grandes y la fecundidad son los parámetros que mayor impacto tienen en  $\lambda$ . Por lo tanto, los esfuerzos para controlar y reducir las poblaciones de esta especie introducida deben enfocarse en estrategias que reduzcan la sobrevivencia, crecimiento y fecundidad de las poblaciones, pero de forma diferenciada.

Para el caso del bosque urbano, las acciones deben enfocarse en reducir la sobrevivencia de plantas con tamaños intermedios (100-150 cm<sup>2</sup>), que son los que más aportan a la fecundidad de la población. Esto puede realizarse a través de la remoción total o parcial de los individuos que cumplan con esta categoría de tamaño. Para el caso del bosque seco, debe limitarse el crecimiento de plantas hacia tamaños intermedios que también aportan a  $\lambda$  a través de su fecundidad, el manejo puede ser por remoción de individuos o la eliminación de estructuras reproductivas (inflorescencias). Estrategias similares pueden adoptarse para el bosque latifoliado, pero reduciendo la sobrevivencia de plantas menores a los 200 cm<sup>2</sup>. Por lo tanto, es importante establecer y desarrollar experimentos simulando estas estrategias de manejo y control para evaluar los efectos en el corto, mediano y largo plazo. Así como también el seguimiento y evaluación de estas poblaciones con la finalidad de analizar variación interanual en los parámetros vitales de la poblacional e integrar el efecto de estocasticidad ambiental (Andersen, 2005).

Una población en expansión está generalmente dominada por altas tasas de reclutamiento (Chung *et al.*, 2011), es decir, una dominancia de plántulas o categoría de tamaño que corresponda a nuevos individuos que se suman a la población. Este parece ser el caso de las poblaciones del bosque seco y bosque latifoliado, ya que ambas reportaron una cantidad considerable de plántulas o nuevos reclutas. De hecho, la estructura inicial de tamaños de ambas poblaciones está dominadas por plantas pequeñas (ej. Categoría 1), que se asume es una estructura poblacional estable. Por el contrario, la población del bosque urbano reportó una tasa muy baja de reclutamiento, lo que podría indicar su senescencia (Chung *et al.*, 2011). Esto concuerda con el valor de  $\lambda$  estimado con IPM y una estructura dominada por individuos de mayor tamaño (ej. Categoría 3 y 4), en la estructura inicial de la población y lo que se esperaría bajo una estructura poblacional estable (esto último con base al modelo IPM).

La población del bosque urbano fue la que mayor esfuerzo tuvo en el monitoreo de la fenología reproductiva, ésta fue visitada una vez al mes, mientras que las otras dos poblaciones se visitaron 2 o 3 veces durante el período de estudio (por limitación de fondos). La poca producción de frutos puede obedecer al efecto antrópico como se ha observado en la orquídea *Serapis cordigera*, en donde el número de plantas reproductivas se reducen en ambientes con

mayor actividad humana (Pellegrino & Bellusci, 2014). Esto podría sugerir que en la población del bosque urbano existe limitación de polen, ya sea por ausencia del potencial polinizador, baja tasa de visita (JMRBV. Aguiar *et al.*, 2012; Martén-Rodríguez & Fenster, 2008; Pérez *et al.*, 2018), o por la alta cobertura y densidad del dosel que podría estar evitando que la lluvia facilite el contacto de polinias y estigma en la especie y se desarrollen frutos vía autogamia (JMRBV. Aguiar *et al.*, 2012; González-Díaz & Ackerman, 1988). Esta limitación de polen genera poca producción de frutos y consecuentemente el reclutamiento de nuevos individuos se restringe, ocasionando un impacto negativo a la población ( $\lambda < 1$ ). Por lo tanto, es importante realizar estudios que identifiquen el agente polinizador (biótico o abiótico) en los sistemas aquí evaluados, analizando su interacción y posible impacto para definir estrategias de manejo y control de la especie.

La probabilidad de establecimiento (cantidad de reclutas/cantidad de plantas reproductivas) en la población del bosque seco fue la más alta (61.2 – bosque seco, 2.4 – bosque urbano, 1.6 – bosque urbano), a pesar de que el número de plantas reproductivas y cantidad de frutos fue muy bajo. Lo anterior podría sugerir que la especie presenta variación temporal en la producción de frutos como lo sugerido para la orquídea epífita *Brassavola cucullata* (Ackerman *et al.*, 2020), que *O. maculata* presenta semillas con alta fertilidad (González-Díaz & Ackerman, 1988) y que éstas presenten dormancia o latencia. Por lo tanto, el evento de alto reclutamiento observado en campo podría sugerir períodos anteriores de alta fructificación y condiciones óptimas para que la germinación ocurra. En orquídeas terrestres, por ejemplo, las semillas pueden entrar en latencia y presentar tasas de germinación de hasta 68% después de cuatro años de dormancia o ser viables luego de siete años (Whigham *et al.*, 2006).

Los eventos de disturbios promueven alta mortalidad de individuos, pero pueden también propiciar un alto reclutamiento en las poblaciones. Por ejemplo, el impacto de huracán en la orquídea *Trichocentrum undulatum* generó una alta mortalidad de plantas, pero después del disturbio se observó un incremento de nuevos individuos originando un incremento en la tasa de crecimiento poblacional (Borrero *et al.*, 2023). Un patrón similar se observó en la población del bosque seco, que por establecerse en ambientes riparios (riachuelos de cuenca y bordes de ríos intermitentes), una crecida de los ríos durante la época lluviosa generó la mortalidad del 57% de la población inicialmente marcada, siendo los individuos de menor tamaño los más impactados. Sin embargo, en el segundo censo realizado a finales de octubre, se reportó el mismo porcentaje de reclutamiento, provocando que la tasa de crecimiento poblacional fuera positiva. Otros disturbios como las quemaduras frecuentes en el sotobosque reducen competencia de gramíneas haciendo que la orquídea *Prasophyllum correctum* se beneficie acortando el período de dormancia, incrementando la floración y posiblemente provocando un aumento en el reclutamiento (Coates *et al.*, 2006). La eliminación de gramíneas como estrategia de manejo en plantaciones de café en México resulta ser beneficiosa para las poblaciones de *Oeceoclades maculata*, ya que crea un ambiente óptimo para la germinación y establecimiento de plántulas (Riverón-Giró *et al.*, 2019).

Los tres bosques estudiados difieren en estructura y composición de especies arbóreas, pero tal estructura ofrece condiciones de sombra que parece ser un factor importante en el ciclo de vida de *O. maculata*. Esto es similar a lo reportado en Puerto Rico en donde la especie prefiere de una cobertura arbórea entre 51-80% (Cohen & Ackerman, 2009), pero contrario a lo reportado en México, en donde la intensidad de luz parece ser una variable que se relaciona positivamente con la abundancia de la especie (Riverón-Giró *et al.*, 2019), asumiendo que, a menor cobertura arbórea mayor intensidad de luz. Adicionalmente, los tres ecosistemas tienen una característica

en común, y es que en el suelo se deposita una capa gruesa de hojarasca, y que coincide con el microambiente descrito para la especie (Riverón-Giró *et al.*, 2019). Este resulta ser un sustrato que mantiene la humedad del suelo y es fuente de nutrientes a partir de su degradación por medio de hongos y otros microorganismos, generando condiciones óptimas para la germinación, sobrevivencia y crecimiento de *O. maculata*.

En las laderas de las colinas y pendientes pronunciadas, principalmente en el bosque seco, la hojarasca se acumula por la presencia de rocas, ramas o troncos caídos en proceso de descomposición, proporcionando condiciones micro climáticas vitales para proteger a la orquídea durante la época más calurosa y seca. En las áreas de suelos planos o con poca inclinación, como en el caso del bosque urbano y bosque latifoliado, la hojarasca es especialmente abundante. Esta acumulación se da por la presencia de bambú o por la defoliación natural de robles en bosques urbanos, y en bosques latifoliados por la acumulación de hojarasca proveniente de especies arbóreas dominantes. Esto último es parecido a lo reportado en Puerto Rico, donde la especie prefiere topografías planas u onduladas (Cohen & Ackerman, 2009). Pero, en el bosque seco la especie pareciera preferir pendientes pronunciadas. El presente estudio demuestra que la especie es muy versátil, suma nuevos microhábitats a los ya conocidos y sugiriendo alto potencial de expansión, más cuando se ha establecido dentro de los límites de la Reserva el Heloderma, que se considera un bosque muy conservado y poco perturbado.

La riqueza de especies terrestres nativas en los tres ecosistemas es muy baja y son poco abundantes, de hecho, la cantidad de orquídeas observadas por unidad de muestreo es menor a cinco. Aunque las especies nativas cohabitan con *O. maculata*, no pareciera tener un impacto negativo directo, ya que las nativas parecieran preferir de micrositios con menos cantidad de hojarasca para poder aferrarse directamente al suelo. Sin embargo, nuestro estudio fue descriptivo, por lo que es importante diseñar un experimento para evaluarse una posible interacción, a nivel de microhábitat y distribución espacial, y competencia con polinizadores (que podría afectar la biología reproductiva de las especies nativas, por ejemplo).

En cuanto al proceso de extracción del ADN, los datos muestran diferencia en el rendimiento de ADN entre el tejido fresco y el tejido preservado en etanol. El tejido fresco produjo concentraciones de ADN notablemente más altas en comparación con el tejido preservado en etanol. Esta disparidad en los rendimientos sugiere que el proceso de preservación en etanol puede afectar la cantidad de ADN recuperado durante la extracción. Sin embargo, es necesario considerar que en el segundo tratamiento se añadieron PVP (polivinilpirrolidona) y 2-mercaptoetanol. El PVP es un polímero hidrófilo que se utiliza como agente captador de polifenoles. En la extracción de ADN de plantas, los polifenoles pueden ser problemáticos porque pueden unirse al ADN y afectar negativamente su pureza y rendimiento. Mientras el 2-mercaptoetanol es un agente que se utiliza para romper los puentes de disulfuro en proteínas. En las células vegetales, las paredes celulares y las proteínas pueden ser resistentes a los procesos de lisis y desnaturalización y a la vez pueden formar complejos con el ADN, lo que dificulta su extracción. El 2-mercaptoetanol ayuda a desestabilizar estas interacciones proteína-ADN, facilitando la liberación del ADN durante el proceso de extracción.

En cuanto a la calidad del ADN, los resultados de los geles de agarosa muestran diferencias en cuanto a la calidad del ADN entre las muestras de tejido fresco y las muestras preservadas en etanol. Mientras que las muestras de tejido fresco exhibieron bandas claras y densas de ADN, indicativas de una alta integridad molecular, las muestras preservadas en etanol mostraron

“smears” difusos a lo largo del recorrido del gel. Los “smears” sugieren una degradación considerable del ADN, es posible que la cutícula de la planta no haya permitido la penetración del etanol en tiempo oportuno y que esto haya facilitado la degradación del ADN.

El hecho de que el protocolo de PCR descrito por Ueno et al. (2015) no produjera bandas de amplificación para los segmentos ISSR, sugiere que las condiciones de amplificación inicialmente empleadas no fueron las óptimas en las condiciones de laboratorio del CUNZAC para los fragmentos específicos que se buscaban amplificar. Este resultado resalta la importancia de realizar ajustes y optimizaciones en los protocolos de PCR cuando no se obtienen resultados satisfactorios.

Dado que no se obtuvieron amplificaciones, se procedió a realizar una PCR de gradiente para identificar las temperaturas de alineamiento más favorables. Esta estrategia es comúnmente utilizada para determinar la temperatura óptima de alineamiento en la PCR. Los resultados, de la PCR de gradiente, indican que dentro del rango de temperaturas evaluadas (38 °C a 48 °C), solo la temperatura de 48 °C produjo amplificación de los segmentos ISSR. Esto sugiere que, para los fragmentos específicos de interés en este estudio, una temperatura de alineamiento de 48 °C fue la más adecuada para lograr una amplificación eficiente y específica. Al ser la temperatura que está en el límite superior, se recomienda ampliar el rango del límite superior del gradiente de temperatura.

### 13 Conclusiones

La tasa de crecimiento poblacional ( $\lambda$ ) estimada con el modelo matricial (PPM) e integral (IPM) fue muy similar entre tipos de bosque y sugiere un incremento de la población en el largo plazo. La única excepción fue en el bosque urbano, con el PPM  $\lambda$  fue mayor a la unidad y con el IPM fue menor, comportamiento que puede estar dado por la dimensionalidad de la matriz que tiene un efecto directo en la estimación de este parámetro.

La sobrevivencia de plantas de mayor tamaño son las que más aportan a la tasa de crecimiento poblacional en el bosque urbano. En el caso de la población del bosque latifoliado, lo fueron las plantas pequeñas y de tamaño intermedio, mientras que para la población del bosque seco lo fue el crecimiento hacia plantas más grandes y la fecundidad. Por lo tanto, los esfuerzos de control y erradicación deben contemplar acciones que reduzca la sobrevivencia, crecimiento y fecundidad de las poblaciones, pero de forma diferenciada.

Con base al comportamiento del reclutamiento o nuevos individuos, las poblaciones del bosque seco y latifoliado podrían caracterizarse como poblaciones en expansión, mientras que la del bosque urbano una en senescencia. Este patrón lo sustenta la tasa de crecimiento poblacional y la distribución de tamaño estable estimados con el modelo integral.

La población del bosque urbano fue la que presentó la menor producción de frutos, esto puede estar relacionado a la limitación de polen en el sistema (ausencia o poca actividad de agentes polinizadores). Esta limitación genera poca producción de frutos y restringe el reclutamiento de nuevos individuos, ocasionando un impacto negativo a la población ( $\lambda < 1$ ).

Disturbios naturales parecen beneficiar a la población del bosque seco con alto reclutamiento y tasa positiva de crecimiento poblacional. Los eventos de disturbios, naturales o antropogénicos, parecen ser factores que propician condiciones óptimas para la germinación es establecimiento de plántulas en *Oeceoclades maculata*.

Los tres bosques estudiados difieren en estructura y composición de especies arbóreas, pero tal estructura ofrece condiciones de sombra y hojarasca que parecen ser factores importantes en el ciclo de vida de *O. maculata*. Los resultados del presente estudio y los publicados anteriormente demuestran la versatilidad de la especie por colonizar y establecerse en una diversidad de microambientes. Sin embargo, no pareciera tener un impacto negativo en las especies nativas terrestres.

El mejor rendimiento y calidad de la extracción de ADN de *O. maculata* se obtuvo utilizando tejido fresco y el buffer de extracción 2X CTAB + PVP + 2-mercaptoetanol + Proteinasa K + ARNasa A. La concentración de ADN obtenida es suficiente para diversas aplicaciones en genética y ecología.

El protocolo de PCR de Ueno et al. (2015) no produjo resultados satisfactorios bajo las condiciones de trabajo del laboratorio del Instituto de Investigaciones del Centro Universitario de Zacapa. La PCR de gradiente sugiere que es necesario evaluar cada uno de los primers para determinar la temperatura óptima de alineamiento y determinar qué cebadores presentan bandas polimórficas.

## 14 Recomendaciones

Mantener el monitoreo de las poblaciones bajo estudio para poder analizar una variación temporal y poder incorporar modelos estocásticos. Datos que puedan mejorar y robustecer los patrones aquí presentados.

Desarrollar estudios que identifiquen los polinizadores potenciales de la especie, analizando su interacción y posible impacto para definir estrategias de manejo y control de la especie.

Nuestro estudio no responde al potencial efecto negativo que pueda tener *O. maculata* en las especies terrestres nativas, ya que fue puramente descriptivo. Por lo que, es importante diseñar un experimento para evaluar una posible interacción, tanto a nivel de microhábitat y distribución espacial, como posible competencia con polinizadores (por ejemplo, que pudiera estar afectando la biología reproductiva de las especies nativas por traslape en los picos de floración).

Desarrollar y diseñar estrategias de control de la especie con los parámetros que más aportan a la tasa de crecimiento poblacional, que limiten la sobrevivencia y crecimiento, y reduzcan la fecundidad de la población. Estas estrategias o acciones deben ser diferenciadas e integrar lo sugerido por el análisis de elasticidad.

En el laboratorio de Biología Molecular generalmente se han obtenido resultados satisfactorios en la PCR de acuerdo a los parámetros establecidos en otros laboratorios. Sin embargo, en esta ocasión ha sido necesario realizar la optimización de las condiciones de PCR para cada conjunto específico de marcadores moleculares. La PCR de gradiente es una herramienta valiosa para identificar las temperaturas de alineamiento más favorables y en poco tiempo, como se realizó en este estudio. Además, es importante considerar la calidad y la integridad del ADN de las muestras, así como la posible presencia de inhibidores de la PCR que puedan afectar los resultados.

## 15 Referencias

- Abelleira-Martínez, O. J., Rodríguez, M. A., Rosario, I., Soto, N., López, A., & Lugo, A. E. (2009). Structure and species composition of novel forests dominated by an introduced species in northcentral Puerto Rico. *New Forests*, 39 (1), 1–18. <https://doi.org/10.1007/s11056-009-9154-7>
- Ackerman, J. D. (2007). Invasive orchids: weeds we hate to love? *Lankesteriana International Journal on Orchidology*, 7 (1–2), 19–21. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=44339813003>
- Ackerman, J. D., Tremblay, R. L., Pérez, M. E., Madden, H., Bechtold, M., & Boeken, M. (2020). Small populations on small islands: What chance does an orchid have? *International Journal of Plant Sciences*, 181 (7), 667–685. <https://doi.org/10.1086/709399>
- Aguiar, JMRBV., Pansarin, L. M., Ackerman, J. D., & Pansarin, E. R. (2012). Biotic versus abiotic pollination in *Oeceoclades maculata* (Lindl.) Lindl. (Orchidaceae). *Plant Species Biology*, 27 (1), 86–95. <https://doi.org/10.1111/j.1442-1984.2011.00330.x>
- Aguiar, J. M. R. B. V., & Pansarin, E. R. (2013). Does *Oeceoclades maculata* (Orchidaceae) reabsorb nectar? *European Journal of Environmental Sciences*, 113 (2), 113–118.

- Andersen, M. C. (2005). Potential applications of population viability analysis to risk assessment for invasive species. *Human and Ecological Risk Assessment*, *11* (6), 1083–1095. <https://doi.org/10.1080/10807030500278610>
- Barrientos, C., Quintana, Y., Elías, D. J., & Rodiles-Hernández, R. (2018). Native fish fauna and artisanal fisheries in the Usumacinta basin, Guatemala. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, *89*, S118–S130. <https://doi.org/10.22201/ib.20078706e.2018.4.2180>
- Borrero, H., Oviedo-Prieto, R., Alvarez, J. C., Ticktin, T., Cisneros, M., & Liu, H. (2023). Populations of a tropical epiphytic orchid are destabilized in its peripheral range by hurricane and an exotic herbivore. *Ecosphere*, *14* (1). <https://doi.org/10.1002/ecs2.4355>
- Burns, J. H., Pardini, E. A., Schutzenhofer, M. R., Chung, Y. A., Seidler, K. J., & Knight, T. M. (2013). Greater sexual reproduction contributes to differences in demography of invasive plants and their noninvasive relatives. *Ecology*, *94* (5), 995–1004. <https://doi.org/10.1890/12-1310.1>
- Casillas, S., & Barbadilla, A. (2017). Molecular population genetics. In *Genetics* (Vol. 205, Issue 3, pp. 1003–1035). Genetics Society of America. <https://doi.org/10.1534/genetics.116.196493>
- Castillo Cabrera, F. J., Schoenbeck Yanes, M. de los Á., & Pineda Posadas, E. A. (2022). *Análisis de impacto ecológico y socioeconómico causado por la especie exótica *Pez Diablo* (Loricariidae) en la Reserva de Monterrico.*
- Charlesworth, D. (1987). Inbreeding depression and its evolutionary consequences. *Annual Review of Ecology and Systematics*, *18* (1), 237–268. <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.18.1.237>
- Chung, M. Y., Nason, J. D., & Chung, M. G. (2011). Significant demographic and Fine-scale genetic structure in expanding and senescing populations of the terrestrial orchid *Cymbidium goeringii* (Orchidaceae). *American Journal of Botany*, *98* (12), 2027–2039. <https://doi.org/10.3732/ajb.1100094>
- Coates, F., Lunt, I. D., & Tremblay, R. L. (2006). Effects of disturbance on population dynamics of the threatened orchid *Prasophyllum correctum* D.L. Jones and implications for grassland management in south-eastern Australia. *Biological Conservation*, *129*, 59–69. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2005.06.037>
- Cohen, I. M., & Ackerman, J. D. (2009). *Oeceoclades maculata*, an alien tropical orchid in a Caribbean rainforest. *Annals of Botany*, *104* (3), 557–563. <https://doi.org/10.1093/aob/mcn191>
- Colautti, R. I., Grigorovich, I. A., & MacIsaac, H. J. (2006). Propagule pressure: A null model for biological invasions. *Biological Invasions*, *8* (5), 1023–1037. <https://doi.org/10.1007/s10530-005-3735-y>
- Colón, S. M., Lugo, A. E., & Ramos González, O. M. (2011). Novel dry forests in southwestern Puerto Rico. *Forest Ecology and Management*. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2011.03.020>

- CONAP. (2011). *Fortalecimiento de las capacidades institucionales para abordar las amenazas provocadas por la introducción de especies exóticas en Guatemala. Guatemala. Documento técnico No. (79-2010)*. [www.chmguatemala.gob.gt](http://www.chmguatemala.gob.gt)
- Crain, B. J. (2014). *Geographic, demographic, and ecological aspects of Lepanthes (Orchidaceae) conservation*. Ph.D. dissertation, University of Puerto Rico at Rio Piedras, San Juan.
- de León, M. E., Zumbado-Ulate, H., García-Rodríguez, A., Alvarado, G., Sulaeman, H., Bolaños, F., & Vredenburg, V. T. (2019). Batrachochytrium dendrobatidis infection in amphibians predates first known epizootic in Costa Rica. *PLoS ONE*, *14* (12). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0208969>
- Dehnen-Schmutz, K., & Williamson, M. (2006). *Rhododendron ponticum* in Britain and Ireland: Social, Economic and Ecological Factors in its Successful Invasion. *Environment and History*, *12* (3), 325–350. <https://doi.org/10.3197/096734006778226355>
- Doyle, J. L., & Doyle, J. L. (1987). A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin*, *19*, 11–15.
- Duncan, E. J., Gluckman, P. D., & Dearden, P. K. (2014). Epigenetics, plasticity, and evolution: How do we link epigenetic change to phenotype? In *Journal of Experimental Zoology Part B: Molecular and Developmental Evolution* (Vol. 322, Issue 4, pp. 208–220). John Wiley and Sons Inc. <https://doi.org/10.1002/jez.b.22571>
- Easterling, M. R., Ellner, S. P., & Dixon, P. M. (2000). Size-specific sensitivity: applying a new structure population mode. *Special Feature Ecology*, *81* (3), 694–708.
- Ehrenfeld, J. G. (2003). Effects of Exotic Plant Invasions on Soil Nutrient Cycling Processes. *Ecosystems*, *6* (6), 503–523. <https://doi.org/10.1007/s10021-002-0151-3>
- Fan, X. L., Barrett, S. C. H., Lin, H., Chen, L. L., Zhou, X., & Gao, J. Y. (2012). Rain pollination provides reproductive assurance in a deceptive orchid. *Annals of Botany*, *110* (5), 953–958. <https://doi.org/10.1093/aob/mcs165>
- Frankham, R. (2005). Resolving the genetic paradox in invasive species. In *Heredity* (Vol. 94, Issue 4, p. 385). <https://doi.org/10.1038/sj.hdy.6800634>
- González-Díaz, N., & Ackerman, J. D. (1988). Pollination, fruit set, and seed production in the orchid, *Oeceoclades maculata*. *Lindleyana*, *3* (3), 150–155.
- Harris, C. M., Park, K. J., Atkinson, R., Edwards, C., & Travis, J. M. J. (2009). Invasive species control: Incorporating demographic data and seed dispersal into a management model for *Rhododendron ponticum*. *Ecological Informatics*, *4* (4), 226–233. <https://doi.org/10.1016/j.ecoinf.2009.07.005>
- Hurskainen, S., Jäkäläniemi, A., Ramula, S., & Tuomi, J. (2017). Tree removal as a management strategy for the lady's slipper orchid, a flagship species for herb-rich forest conservation. *Forest Ecology and Management*, *406*, 12–18. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2017.09.056>
- IPBS. (2023). *Summary for policymakers of the thematic assessment report on invasive alien species and their control of the intergovernmental science-policy platform on biodiversity and ecosystem services* (H. E. Roy, A. Pauchard, P. Stoett, T. Renard Truong, S. Bacher,

- B. S. Galil, P. E. Hulme, T. Ikeda, K. V. Sankaran, M. A. McGeoch, L. A. Meyerson, M. A. Nuñez, A. Ordóñez, S. J. Rahlaoui, E. Schwindt, H. Seebens, A. W. Sheppard, & V. Vandvik, Eds.). <https://doi.org/10.5281/zenodo.7430692>
- Johnston, H. R., Keats, B. J. B., & Sherman, S. L. (2019). Population Genetics. In R. E. Pyeritz, B. R. Korf, & W. W. Grody (Eds.), *Emery and Rimoin's Principles and Practice of Medical Genetics and Genomics* (Seventh Edition, pp. 359–373). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-812537-3.00012-3>
- Lambrecht-McDowell, S. C., & Radosevich, S. R. (2005). Population demographics and trade-offs to reproduction of an invasive and noninvasive species of *Rubus*. *Biological Invasions*, 7 (2), 281–295. <https://doi.org/10.1007/s10530-004-0870-9>
- Lavergne, S., & Molofsky, J. (2007). Increased genetic variation and evolutionary potential drive the success of an invasive grass. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104 (6), 3883–3888. [www.pnas.org/cgi/content/full/104/6/3883](http://www.pnas.org/cgi/content/full/104/6/3883)
- Lee, C. E. (2002). Evolutionary genetics of invasive species. *TRENDS in Ecology & Evolution*, 17(8), 386–391. [http://tree.trends.com0169-5347/02/\\$-see-frontmatter](http://tree.trends.com0169-5347/02/$-see-frontmatter)
- Liu, H., Zang, F., Wu, Q., Ma, Y., Zheng, Y., & Zang, D. (2020). Genetic diversity and population structure of the endangered plant *Salix taishanensis* based on CDDP markers. *Global Ecology and Conservation*, 24, e01242. <https://doi.org/10.1016/j.gecco.2020.e01242>
- Mack, M. C., D, C. M., & Mack, M. (1998). Impacts of biological invasions on disturbance regimes. *TREE*, 13 (5), 195–198.
- MacVean, A. L., & Zin, H. (2023). Plantas introducidas a Guatemala. In J. C. Schuster, J. Yoshimoto, & J. Monzón Sierra (Eds.), *Biodiversidad de Guatemala: Vol. Volumen III* (Primera edición, pp. 367–384). Editorial Universitaria, Universidad del Valle de Guatemala.
- Martén-Rodríguez, S., & Fenster, C. B. (2008). Pollination ecology and breeding systems of five Gesneria species from Puerto Rico. *Annals of Botany*, 102, 23–30. <https://doi.org/10.1093/aob/mcn056>
- Mendelson III, J. R., Brodie Jr., E. D., Malone, J. H., Acevedo, M. E., Baker, M. A., Smatresk, N. J., & Campbell, J. A. (2004). Factors associated with the catastrophic decline of a cloudforest frog fauna in Guatemala. *Revista Biología Tropical*, 52 (4), 991–1000. [www.tropiweb.com](http://www.tropiweb.com)
- Merow, C., Dahlgren, J. P., Metcalf, C. J. E., Childs, D. Z., Evans, M. E. K., Jongejans, E., Record, S., Rees, M., Salguero-Gómez, R., & McMahon, S. M. (2014). Advancing population ecology with integral projection models: A practical guide. *Methods in Ecology and Evolution*, 5, 99–110. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12146>
- Mó, E. A., & Monzón Sierra, J. (2023). Listado preliminar de verificación de las orquídeas terrestres de Guatemala. In J. C. Schuster, J. Yoshimoto, & J. Monzón Sierra (Eds.), *Biodiversidad de Guatemala: Vol. Volumen III* (Primera edición, pp. 385–406). Editorial Universitaria, Universidad del Valle de Guatemala.

- Moles, A. T., Gruber, M. A. M., & Bonser, S. P. (2008). A new framework for predicting invasive plant species. In *Journal of Ecology*, 96 (1), 13–17. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2745.2007.01332.x>
- Mújica, E., Raventós, J., González, E., & Bonet, A. (2013). Long-term hurricane effects on populations of two epiphytic orchid species from guanahacabibes peninsula, Cuba. *Lankesteriana*, 13 (1–2), 47–55. <https://doi.org/10.15517/lank.v0i0.11534>
- Nieminen, M., Singer, M. C., Fortelius, W., Schöps, K., & Hanski, I. (2001). Experimental confirmation that inbreeding depression increases extinction risk in butterfly populations. In *The American Naturalist* (Vol. 157, Issue 2, pp. 237–244). <https://doi.org/10.1086/318630>
- Owens, G. L., Baute, G. J., & Rieseberg, L. H. (2016). Revisiting a classic case of introgression: hybridization and gene flow in Californian sunflowers. *Molecular Ecology*, 25(11), 2630–2643. <https://doi.org/10.1111/mec.13569>
- Pellegrino, G., & Bellusci, F. (2014). Effects of human disturbance on reproductive success and population viability of *Serapias cordigera* (Orchidaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society*, 176, 408–420. <https://academic.oup.com/botlinnean/article/176/3/408/2416333>
- Pérez, M. E., Meléndez-Ackerman, E. J., & Monsegur-Rivera, O. A. (2018). Breeding system and pollination of *Gesneria pauciflora* (Gesneriaceae), a threatened Caribbean species. *Flora: Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*, 242, 8–15. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.flora.2018.02.009>
- Pérez, M. E., Meléndez-Ackerman, E. J., & Monsegur-Rivera, O. A. (2019). Variation across river channels in demographic dynamics of a riparian herb with threatened status: management and conservation implications. *American Journal of Botany*, 106 (7), 996–1010. <https://doi.org/10.1002/ajb2.1316>
- Pillon, Y., Qamaruz-Zaman, F., Fay, M. F., Hendoux, F., & Piquot, Y. (2007). Genetic diversity and ecological differentiation in the endangered fen orchid (*Liparis loeselii*). *Conservation Genetics*, 8 (1), 177–184. <https://doi.org/10.1007/s10592-006-9160-7>
- Ponciano-Nuñez, M., Alpuche-Palma, A., Vera-Quiñones, F., & Mendiola-Campuzano, J. (2021). Diversidad, abundancia y distribución de peces invasores en el lago Petén Itzá, Guatemala. *Revista Iberoamericana de Ciencias*, 16–29. [www.reibci.org](http://www.reibci.org)
- Ramula, S., Rees, M., & Buckley, Y. M. (2009). Integral projection models perform better for small demographic data sets than matrix population models: A case study of two perennial herbs. *Journal of Applied Ecology*. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2664.2009.01706.x>
- Richardson, D. M., Holmes, P. M., Esler, K. J., Galatowitsch, S. M., Stromberg, J. C., Kirkman, S. P., Pyšek, P., & Hobbs, R. J. (2007). Riparian vegetation: degradation, alien plant invasions, and restoration prospects. *Diversity and Distribution*, 13 (1), 126–139. <https://doi.org/10.1111/j.1366-9516.2006.00314.x>
- Riverón-Giró, F. B., Damon, A., García-González, A., Solís-Montero, L., Aguilar-Romero, O., Ramírez-Marcial, N., & Nieto, G. (2017). Anatomy of the invasive orchid *Oeceoclades*

- maculata*: Ecological implications. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 184 (1), 94–112. <https://doi.org/10.1093/botlinnean/box014>
- Riverón-Giró, F. B., Raventos, J., Damon, A., García-González, A., & Mújica, E. (2019). Spatio-temporal dynamics of the invasive orchid *Oeceoclades maculata* (Orchidaceae), in four different habitats in southeast Chiapas, Mexico. *Biological Invasions*, 21 (6), 1905–1919. <https://doi.org/10.1007/s10530-019-01945-7>
- Rojas-Sandoval, J., & Acevedo-Rodríguez, P. (2015). Naturalization and invasion of alien plants in Puerto Rico and the Virgin Islands. *Biological Invasions*, 17 (1), 149–163. <https://doi.org/10.1007/s10530-014-0712-3>
- Rojas-Sandoval, J., & Meléndez-Ackerman, E. (2013). Population dynamics of a threatened cactus species: General assessment and effects of matrix dimensionality. *Population Ecology*, 55, 479–491. <https://doi.org/10.1007/s10144-013-0378-1>
- Schödelbauerová, I., Tremblay, R. L., & Kindlmann, P. (2010). Prediction vs. reality: Can a PVA model predict population persistence 13 years later? *Biodiversity and Conservation*, 19 (3), 637–650. <https://doi.org/10.1007/s10531-009-9724-1>
- Seastedt, T. R. (2015). Biological control of invasive plant species: a reassessment for the Anthropocene. *New Phytologist*, 205 (2), 490–502. <https://doi.org/10.1111/nph.13065>
- Smith, A. L., Hodkinson, T. R., Villellas, J., Catford, J. A., Csörgő, A. M., Blomberg, S. P., Crone, E. E., Ehrlén, J., Garcia, M. B., Laine, A.-L., Roach, D. A., Salguero-Gómez, R., Wardle, G. M., Childs, D. Z., Elderd, B. D., Finn, A., Munné-Bosch, S., Baudraz, M. E. A., Bódis, J., ... Buckley, Y. M. (2020). Global gene flow releases invasive plants from environmental constraints on genetic diversity. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 117 (8), 4218–4227. <https://doi.org/10.1073/pnas.1915848117>
- Stubben, C., & Milligan, B. (2007). Estimating and Analyzing Demographic Models Using the popbio Package in R. *Journal of Statistical Software*, 22 (2), 1–23. <http://www.jstatsoft.org/>
- Sun, M. (1997). Genetic diversity in three colonizing orchids with contrasting mating systems. *American Journal of Botany*, 84 (2), 224–232. <https://doi.org/10.2307/2446084>
- Swarts, N. D., Sinclair, E. A., Krauss, S. L., & Dixon, K. W. (2009). Genetic diversity in fragmented populations of the critically endangered spider orchid *Caladenia huegelii*: Implications for conservation. *Conservation Genetics*, 10 (5), 1199–1208. <https://doi.org/10.1007/s10592-008-9651-9>
- Tremblay, R. L., & Hutchings, M. J. (2003). Population dynamics in orchid conservation: a review of analytical methods, based on the rare species *Lepanthes eltoroensis*. In K. W. Dixon, S. P. Kell, R. L. Barrett, & P. J. Cribb (Eds.), *Orchid Conservation* (pp. 163–183). Natural History Publication Kota Kinabalu.
- Tremblay, R. L., Raventos, J., & Ackerman, J. D. (2015). When stable-stage equilibrium is unlikely: Integrating transient population dynamics improves asymptotic methods. *Annals of Botany*, 116 (3), 381–390. <https://doi.org/10.1093/aob/mcv031>

- Ueno, S., Rodrigues, J. F., Alves-Pereira, A., Pansarin, E. R., & Veasey, E. A. (2015). Genetic variability within and among populations of an invasive, exotic orchid. *AoB PLANTS*, 7, 1–13. <https://doi.org/10.1093/aobpla/plv077>
- Vilà, M., & Ibáñez, I. (2011). Plant invasions in the landscape. *Landscape Ecology*, 26 (4), 461–472. <https://doi.org/10.1007/s10980-011-9585-3>
- Whigham, D. F., O’Neill, J. P., Rasmussen, H. N., Caldwell, B. A., & McCormick, M. K. (2006). Seed longevity in terrestrial orchids – Potential for persistent in situ seed banks. *Biological Conservation*, 129 (1), 24–30. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2005.10.029>

## 16 Apéndice

No se adjuntan apéndices al presente informe final

## 17 Vinculación

En este estudio se generaron tres vínculos, el primero con el Colegio Monte María que administra la Reserva Natural Privada Sister de Maryknoll, y el segundo con el copropietario de la Finca Las Marías y el tercero con la directora de la Reserva Natural El Heloderma. La intencionalidad de haber marcado las poblaciones es dar continuidad al estudio, y en este sentido las instituciones están con toda la disposición de dar el acceso y logística necesaria para que el seguimiento pueda darse. Se ha iniciado la comunicación con la Escuela de Biología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, para que estudiantes interesados en desarrollar propuestas científicas puedan usar las poblaciones marcadas.

## 18 Estrategia de difusión, divulgación y protección intelectual

En el presente proyecto se trabajó en material divulgativo necesario para dar a conocer el impacto de especies invasoras en ecosistemas y especies nativas, e introducir el estudio que se realiza con *Oeceoclades maculata*. Durante el proceso de desarrollo de los diseños se tuvo comunicación previa con la coordinadora del programa, para las orientaciones y créditos correspondientes, por lo que se cumplió con lo requerido. Este material será compartido para su difusión con el Consejo Nacional de Áreas Protegidas -CONAP- (oficinas centrales y subdirecciones), Instituto Nacional de Bosques -INAB-, Centro de Estudios Conservacionistas -CECON-, Escuelas o Departamentos de Biología de universidades públicas y privadas, entre otras.

## 19 Aporte de la propuesta de investigación a los Prioridades Nacionales de Desarrollo (PND) identificando su meta correspondiente:

Anteriormente se comentaba que las especies exóticas invasoras son responsables del 60% de las extinciones de especies ocurridas a nivel mundial, así como los altos costos asociados al impacto de éstas. Impacto que se evidencia en la disponibilidad de materia prima y productos

naturales utilizados por el humano, y que directa o indirectamente se impacta a la salud de la sociedad. La contribución de los resultados del proyecto tiene alcance en la prioridad nacional de desarrollo bajo el indicador de “Disponibilidad y acceso al agua y gestión de los recursos naturales”. Los resultados pueden ser utilizados para el control o erradicación de especies exóticas introducidas, con la finalidad de reducir el potencial impacto negativo que puedan tener en especies nativas con alguna categoría de amenaza.

## 20 Orden de pago final

| <b>Nombres y apellidos</b> | <b>Categoría (investigador /auxiliar)</b> | <b>Registro de personal</b> | <b>Procede pago de mes (Sí / No)</b> | <b>Firma</b>  |
|----------------------------|---|-----------------------------|--------------------------------------|---|
| Mervin Emanuel Pérez Pérez | Coordinador                               | 20031012                    | Sí                                   |  |

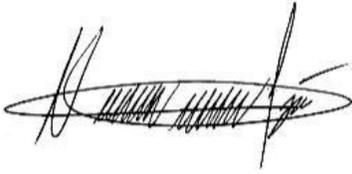
## 21 Declaración del Coordinador(a) del proyecto de investigación

El Coordinador de proyecto de investigación con base en el *Reglamento para el desarrollo de los proyectos de investigación financiados por medio del Fondo de Investigación*, artículos 13 y 20, deja constancia que el personal contratado para el proyecto de investigación que coordina ha cumplido a satisfacción con la entrega de informes individuales por lo que es procedente hacer efectivo el pago correspondiente.

|  |   |
|--|---|
| <b>Mervin Emanuel Pérez Pérez</b><br><b>Nombre del coordinador del proyecto de investigación</b> | <br><b>Firma</b> |
| Fecha: 29/02/2024  |   |

## 22 Aval del Director(a) del instituto, centro o departamento de investigación o Coordinador de investigación del centro regional universitario

De conformidad con el artículo 13 y 19 del *Reglamento para el desarrollo de los proyectos de investigación financiados por medio del Fondo de Investigación* otorgo el aval al presente informe mensual de las actividades realizadas en el proyecto (escriba el nombre del proyecto de investigación) en mi calidad de (indique: Director del instituto, centro o departamento de investigación o Coordinador de investigación del centro regional universitario), mismo que ha sido revisado y cumple su ejecución de acuerdo a lo planificado.

|   |   |
|---|---|
| <b>Vo.Bo. Manuel Barrios Izás</b><br><b>Coordinador</b><br><b>Instituto de Investigaciones CUNZAC</b> | <br><b>Firma</b> |
| Fecha: 29/02/2024   |   |

**23 Visado de la Dirección General de Investigación**

|   |   |
|---|---|
| <p><b>Vo.Bo. Inga. Liuba Cabrera</b><br/><b>Coordinador del Programa Universitario de Investigación</b></p> | <br><b>Firma</b> |
| <p>Fecha: 29/02/2024</p>  |   |

|  |  |
|--|--|
| <p><b>Vo.Bo. Ing. Julio Rufino Salazar</b><br/><b>Coordinador General de Programas Universitarios de Investigación</b></p> | <br><b>Firma</b><br><small>Ing. MARIANO JULIO RUFINO SALAZAR PÉREZ<br/>Coordinador General de Programas de Investigación, Digi-Usac</small> |
| <p>Fecha: 29/02/2024</p>   |  |

/Digi2023