



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

INSTITUTO DE BIOLOGÍA

BIOLOGÍA EVOLUTIVA

**La especie-anillo *Euphorbia tithymaloides* evaluada con base en evidencia genética,
ecológica, morfológica y biogeográfica**

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

MARÍA JOSÉ MONTEVERDE SUÁREZ

TUTORA PRINCIPAL DE TESIS: DRA. NATALIA IVALÚ CACHO GONZÁLEZ

INSTITUTO DE BIOLOGÍA, UNAM

COMITÉ TUTOR: DRA. ISOLDA LUNA VEGA

FACULTAD DE CIENCIAS, UNAM

DRA. ANA LAURA WEGIER BRIUOLO

INSTITUTO DE BIOLOGÍA, UNAM

CIUDAD UNIVERSITARIA, CD. MX., JUNIO, 2021



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

INSTITUTO DE BIOLOGÍA

BIOLOGÍA EVOLUTIVA

**La especie-anillo *Euphorbia tithymaloides* evaluada con base en evidencia genética,
ecológica, morfológica y biogeográfica**

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

MARÍA JOSÉ MONTEVERDE SUÁREZ

TUTORA PRINCIPAL DE TESIS: DRA. NATALIA IVALÚ CACHO GONZÁLEZ

INSTITUTO DE BIOLOGÍA, UNAM

COMITÉ TUTOR: DRA. ISOLDA LUNA VEGA

FACULTAD DE CIENCIAS, UNAM

DRA. ANA LAURA WEGIER BRIUOLO

INSTITUTO DE BIOLOGÍA, UNAM

CIUDAD UNIVERSITARIA, CD. MX., 2021

COORDINACIÓN DEL POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
INSTITUTO DE BIOLOGÍA
OFICIO CPCB/470/2021
ASUNTO: Oficio de Jurado

M. en C. Ivonne Ramírez Wence
Directora General de Administración Escolar, UNAM
P r e s e n t e

Me permito informar a usted que en la reunión ordinaria del Subcomité de Ecología, Manejo Integral de Ecosistemas, Biología Evolutiva y Sistemática del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día 4 de noviembre de 2019 se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de **MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS** en el campo de conocimiento de **BIOLOGÍA EVOLUTIVA** de la estudiante **MONTEVERDE SUÁREZ MARÍA JOSÉ** con número de cuenta 310173885 con la tesis titulada “La especie-anillo *Euphorbia tithymaloides* evaluada con base en evidencia genética, ecológica, morfológica y biogeográfica”, realizada bajo la dirección de la **DRA. NATALIA IVALÚ CACHO GONZÁLEZ**, quedando integrado de la siguiente manera:

Presidente: DR. DANIEL IGNACIO PIÑERO DALMAU
Vocal: DR. ARTURO CARLOS II BECERRA BRACHO
Vocal: DR. MARCELO RODRIGO PACE
Vocal: DR. MARCO ALEJANDRO SUÁREZ ATILANO
Secretario: DRA. ANA LAURA WEGIER BRIUOLO

Sin otro particular, me es grato enviarle un cordial saludo.

A T E N T A M E N T E
“POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU”
Cd. Universitaria, Cd. Mx., a 24 de mayo de 2021

COORDINADOR DEL PROGRAMA



DR. ADOLFO GERARDO NAVARRO SIGÜENZA



AGRADECIMIENTOS

Agradezco al Posgrado en Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) por brindarme la oportunidad para realizar mis estudios de Maestría.

Agradezco al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por el apoyo económico otorgado a través de la beca de Maestría (número de becario: 629540), con la que me fue posible dedicarme a mis estudios y continuar con mi crecimiento académico.

Al Programa de Apoyo a los Estudios de Posgrado (PAEP) del Posgrado en Ciencias Biológicas de la UNAM por el apoyo otorgado para poder acudir al congreso internacional Botany 2018 en Rochester, Minnesota, EUA.

Al CONACYT por el financiamiento otorgado para el proyecto “Genómica y morfometría de *Euphorbia tithymaloides*” (CB2015.0255829).

Al Laboratorio de Genómica Funcional y Sistemas (Conacyt-INFR2016-268109) por ser el espacio donde pude desarrollar el trabajo de laboratorio.

A la Cactus and Succulent Society of America (CSSA), a la American Society of Plant Taxonomist (ASPT) y a la Society of Systematics Biologist (SSB) por las becas otorgadas para financiar mi proyecto de maestría.

A mi tutora: Dra. Natalia Ivalú Cacho González por haberme recibido en su laboratorio y haber permitido que formara parte de este proyecto.

Al comité tutor: Isolda y Ana. Gracias por acompañarme estos dos años en mi formación académica, por todos sus consejos, comentarios y sugerencias hacia el proyecto y mi trabajo. Gracias por su completa disposición y gran apoyo.

AGRADECIMIENTOS A TÍTULO PERSONAL

Al cubículo 204: Verito, Fer, Dany y Bren por su compañía durante las jornadas de trabajo, los chismes y charlas.

A Patrick McIntyre por su ayuda, guía y enseñanzas relacionadas con la evaluación de patrones geográficos en la variación genética y morfológica de *Euphorbia tithymaloides*.

A Andrea del Laboratorio de Sistemática Molecular de Zoología por todo su apoyo en el trabajo de laboratorio.

A Bren, Tania, Chris, Vale, Gaby, Canek, Alí, Gustavo y Polo por su compañía, ayuda y consejos a lo largo de estos dos años (y por todo el apoyo en laboratorio). A Pao por su ayuda con la edición de imágenes.

A todos los profesores y compañeros con los que compartí salón de clases, sin duda fueron mi parte favorita de la maestría.

A los miembros del jurado: Dr. Daniel Piñero, Dr. Arturo Becerra, Dr. Marcelo Pace, Dra. Ana Wegier y Dr. Marco Suárez, por todos sus comentarios que ayudaron a enriquecer mi trabajo y crecimiento académico.

A mi mamá. Gracias por ser guía y paciencia infinita, por acompañarme en los momentos más difíciles y por ser mi mejor consejera. Te quiero infinito. Hoy se recorren 9,458 km hasta donde estás. Te abrazo y te extraño.

A mis hermanos por todo el cariño y la compañía, por escucharme y por todo lo que me han apoyado. Siempre estaré para ustedes. Los quiero muchísimo.

Papá, te pienso siempre y donde quiera que estés, espero que te sientas orgulloso de mi.

A Julieta, por ser mi mejor amiga. Por los consejos, las largas charlas, las sugerencias, las vivencias, en fin... por su gran amistad.

A Alex por no dejar que tirara la toalla, gracias infinitas.

ÍNDICE

RESUMEN	1
ABSTRACT	2
INTRODUCCIÓN	3
OBJETIVOS	6
ANTECEDENTES	6
METODOLOGÍA.....	9
RESULTADOS	16
DISCUSIÓN	40
CONCLUSIONES	45
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	47
ANEXOS	57

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Distribución de <i>Euphorbia tithymaloides</i> . GA = Frente de las Antillas Mayores, LA = Frente de las Antillas Menores, Mainland = Continente. Las subespecies mostradas en la imagen son las siguientes: 1) <i>E. tithymaloides</i> L. ssp. <i>tithymaloides</i> , 2) <i>E. tithymaloides</i> L. ssp. <i>jamaicensis</i> , 3) <i>E. tithymaloides</i> L. ssp. <i>angustifolia</i> , 4-6) <i>E. tithymaloides</i> L. ssp. <i>tithymaloides</i> , y 7) <i>E. tithymaloides</i> L. ssp. <i>padifolia</i> . Imagen adaptada de Cacho et al. 2019.	5
Figura 2. Modelo de formación de una especie anillo. A partir de una población ancestral se inicia la expansión del área de distribución por medio de dos frentes geográficos que rodean una barrera geográfica.....	8
Figura 3. Geología del Caribe. A) Antillas Mayores surgen durante el Cretácico temprano como un arco volcánico de islas que se formó debido a la subducción de la Placa de Norteamérica bajo la Placa del Caribe. B) Colisión entre el arco de las Antillas Mayores con la Plataforma de las Bahamas (Imagen modificada de (Schneider et al., 2004).	11
Figura 4. Delta K encontrado para el locus <i>SGN-U34200</i> de acuerdo con el método de Evanno.....	24
Figura 5. Delta K encontrado para el locus <i>G3PDH</i> de acuerdo con el método de Evanno.	24
Figura 6. Delta K encontrado para la matriz concatenada de acuerdo con el método de Evanno.	25
Figura 7. Grupos genéticos asignados por STRUCTURE para el gen <i>SGN-U34200</i> bajo el modelo de admixia. Cada color representa un grupo genético. El orden de los individuos es primero por grupo genético asignado por el modelo de STRUCTURE y después por distancia al Pasaje de Anegada (PA), de tal forma que los individuos más cercanos al Pasaje de Anegada están en los extremos de la gráfica y la distancia aumenta hacia el centro del gráfico.	26
Figura 8. Promedio de la probabilidad de pertenencia a cada uno de los grupos genéticos para cada población para el marcador <i>SGN-U34200</i>	27
Figura 9. Alelos ubicados en México y Guatemala y su asignación al grupo genético de acuerdo con los resultados de STRUCTURE para el marcador <i>SGN-U34200</i>	29
Figura 10. Alelos ubicados en Jamaica y su asignación al grupo genético de acuerdo con los resultados de STRUCTURE para el marcador <i>SGN-U34200</i>	29
Figura 11. Alelos ubicados en St. Croix y su asignación al grupo genético de acuerdo con los resultados de STRUCTURE para el marcador <i>SGN-U34200</i>	30
Figura 12. Grupos genéticos asignados por STRUCTURE para el locus del gen <i>G3PDH</i> bajo el modelo de admixia. Cada color representa un grupo genético. El orden de los individuos es primero por grupo genético asignado por el modelo de STRUCTURE y después por distancia al Pasaje de Anegada (PA), de tal forma que los individuos más cercanos al PA están en los extremos de la gráfica y la distancia aumenta hacia el centro del gráfico.	31
Figura 13. Promedio de pertenencia los grupos genéticos por población para el marcador <i>G3PDH</i>	32
Figura 14. Grupos genéticos asignados por STRUCTURE para la matriz concatenada bajo el modelo de admixia. Cada color representa un grupo genético. El orden de los individuos es primero por grupo genético asignado por el modelo de STRUCTURE y después por distancia al Pasaje de Anegada (PA), de tal forma que los individuos más cercanos al PA están en los extremos de la gráfica y la distancia aumenta hacia el centro del gráfico.....	33
Figura 15. Promedio de pertenencia los grupos genéticos identificados por STRUCTURE, para un valor de $k = 4$ para la matriz concatenada.....	34

Figura 16. Promedio de pertenencia los grupos genéticos identificados por STRUCTURE, para un valor de $k = 3$ para la matriz concatenada.....	34
Figura 17. PCA para la asignación de los alelos del gen <i>SGN-U34200</i> . Los colores muestran la asignación genética de los alelos de acuerdo con el modelo de admixia de STRUCTURE.....	37
Figura 18. PCA para la asignación de los alelos del locus del gen <i>G3PDH</i> . Los colores muestran la asignación genética de los alelos de acuerdo con el modelo de admixia de STRUCTURE.....	39

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Estadísticos genéticos para el locus <i>SGN-U34200</i> y los distintos escenarios evaluados.....	17
Tabla 2. Diferencias nucleotídicas (K_{xy}), número promedio de sustituciones nucleotídicas entre poblaciones (D_{xy}), distancia genética pareada (F_{ST}) y valor de G_{ST}	18
Tabla 3. Estadísticos genéticos para <i>G3PDH</i> y los distintos escenarios evaluados.....	19
Tabla 4. Diferencias nucleotídicas (K_{xy}), número promedio de sustituciones nucleotídicas entre poblaciones (D_{xy}), distancia genética pareada (F_{ST}) y valor de G_{ST}	20
Tabla 5. Estadísticos genéticos para la matriz concatenada.....	21
Tabla 6. Diferencias nucleotídicas (K_{xy}), número promedio de sustituciones nucleotídicas entre poblaciones (D_{xy}), distancia genética pareada (F_{ST}) y valor de G_{ST}	22
Tabla 7. Alelos con inconsistencias en la asignación para el gen <i>SGN-U34200</i> bajo el modelo de admixia por STRUCTURE.	28
Tabla 8. Valores de PhiPT y de varianza molecular dentro de las poblaciones.....	35
Tabla 9. Desviación estándar, proporción de varianza y proporción acumulada de los primeros tres componentes principales del PCA.	36
Tabla 10. Valores de <i>loadings</i> para los primeros tres componentes principales (PC) obtenidos en el análisis de componentes principales para los valores climáticos de los alelos del gen <i>SGN-U34200</i> . ..	37
Tabla 11. Desviación estándar, proporción de varianza y proporción acumulada de los primeros tres componentes principales del PCA.	38
Tabla 12. Valores de <i>loadings</i> para los primeros tres componentes principales (PC) para los valores climáticos de los alelos del locus del gen <i>G3PDH</i>	38

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. ARTÍCULO Convergent evolution in floral morphology in a plant ring species, the Caribbean <i>Euphorbia tithymaloides</i> , publicado en American Journal of Botany, en 2019.	57
Anexo 2. Individuos por gen (las coordenadas se presentan con Datum WGS84).	72
Anexo 3. Asignación genética los alelos concatenados bajo los distintos escenarios evaluados.	75
Anexo 4. Asignación genética de cada uno de los alelos del gen <i>SGN-U34200</i> bajo los distintos escenarios evaluados.	80
Anexo 5. Asignación genética de cada uno de los alelos del gen <i>G3PDH</i> bajo los distintos escenarios evaluados.	84
Anexo 6. Delta K encontrado para el gen <i>SGN-U34200</i> de acuerdo con el método de Evanno.	88
Anexo 7. Delta K encontrado para el gen <i>G3PDH</i> de acuerdo con el método de Evanno.	89
Anexo 8. Delta K encontrado para la matriz concatenada de acuerdo con el método de Evanno.	90
Anexo 9. Coeficientes de correlación para las 19 variables climáticas de Worldclim.	91

RESUMEN

Uno de los objetivos centrales la biología evolutiva es entender el origen y evolución de los patrones de especiación. Existe una gran cantidad de factores que moldean el proceso de especiación entre los que se encuentran el cambio climático, la geografía y la heterogeneidad ambiental, entre otros. Las especies-anillo se han propuesto como un buen modelo para estudiar los patrones de especiación, ya que ilustran dicho proceso mediante cambios graduales y proveen de un ejemplo de aislamiento reproductivo en la presencia de flujo génico.

Uno de los sistemas biológicos propuestos que podría cumplir con las características es la especie-anillo *Euphorbia tithymaloides*. En un estudio previo se estableció que *E. tithymaloides* es una especie-anillo que se originó en México/Guatemala y se expandió hacia el Caribe mediante dos frentes geográficos. En este estudio, se evalúa si la evidencia morfológica, genética, ecológica y biogeográfica disponible para *E. tithymaloides* corresponde al modelo de una especie-anillo. Específicamente, este estudio se centra en: a) investigar los patrones morfológicos y genéticos de *E. tithymaloides* con respecto a su geografía, y b) explorar la posible influencia del clima en la estructura genética y espacial de *E. tithymaloides*.

Los resultados tanto morfológicos como genéticos son consistentes con la hipótesis de que *E. tithymaloides* es una especie-anillo que expandió su área de distribución desde el continente hacia las islas del Caribe a partir de dos frentes geográficos. Se reporta una convergencia floral entre las poblaciones que se ubican al final de cada frente geográfico y que existe una clara diferenciación genética entre poblaciones de las Antillas Mayores, de las Antillas Menores y del Continente. Se sugiere que tanto las diferencias morfológicas como genéticas reportadas en *E. tithymaloides* están siendo promovidas principalmente por factores bióticos, dada la baja correlación con los factores climáticos.

Este estudio evalúa si la evidencia morfológica, genética, ecológica y biogeográfica disponible para *E. tithymaloides* corresponde al modelo de una especie-anillo. Se documenta el patrón de convergencia de las características morfológicas del ciatio de *E. tithymaloides* y se identificaron tres grupos genéticos que corresponden a poblaciones de las Antillas Menores (LA), a poblaciones de las Antillas Mayores (GA) y a poblaciones del continente. Los resultados de los análisis de la influencia del clima sobre las características morfológicas y la estructura genética indican que las diferencias morfológicas y genéticas se deben a factores bióticos.

ABSTRACT

One of the main objectives of evolutionary biology is to understand the origin and evolution of the speciation pattern. There is a great amount of factor that can shape the speciation process, among them, we can find climate change, geography and environmental heterogeneity. Ring species have been proposed as a great model for studying the speciation patterns because they illustrate the speciation process by showing gradual changes and they can be an example of reproductive isolation in presence of gene flow.

Euphorbia tithymaloides has been proposed as one of the models that could meet with all the ring species characteristics. In a previous study, it was established that *E. tithymaloides* is a ring species that originated in México/Guatemala and expanded its range towards de the Caribbean by means of two geographic fronts. In this study, we evaluate if the available morphologic, genetic, ecologic and biogeographic evidence for *E. tithymaloides* conforms to the ring species model. Particularly, this study aims to: a) Investigate the morphological and genetic patterns of *E. tithymaloides* with regard to its geography, and b) explore the impact of climate on the genetic and spatial structure of *E. tithymaloides*.

Morphological and genetic results are consistent with the hypothesis that *E. tithymaloides* is a ring species that expanded its range from the continent to the Caribbean islands by means of two geographic fronts. We show that there is floral convergence between the populations that are located at the end of each geographic front and that there is a clear genetic differentiation between the populations of the Greater Antilles, Lesser Antilles and the continent. We suggest that both, morphologic and genetic differences in *E. tithyamloides* are mainly due to biological factors.

This study evaluates if the morphological, genetic, ecological and biogeographic evidence is available for *E. tithymaloides* conforms to the ring species model. We document that the morphological characteristics of the ciatia show a convergence pattern and that there are three genetic groups that correspond to the populations of the Lesser Antilles (LA), Greater Antilles (GA) and continent. The results of the climatic analysis show that morphologic and genetic differences are due to biotic factors.

INTRODUCCIÓN

Uno de los principales objetivos de la biología evolutiva es entender el origen y evolución de los patrones de diversificación dentro de las especies (Cracraft & Prum, 1988; Qiao *et al.*, 2018). Existen diversos factores que moldean el proceso de diversificación, entre los que se encuentran los cambios climáticos, la geografía (p.ej. latitud y altitud), la historia de la especie y la heterogeneidad ambiental (Harmon & Harrison, 2015; Hewitt, 2004; Qiao *et al.*, 2018). Estos factores no son excluyentes entre sí y pueden ocurrir de manera simultánea y producir patrones evolutivos complejos (Qiao *et al.*, 2018).

Los complejos de especies cercanamente emparentadas proveen una oportunidad única para entender cómo los procesos de colonización, flujo génico y adaptación local dan origen a los eventos de diversificación. Un ejemplo de estos complejos son las especies-anillo que ilustran el proceso de diversificación mediante cambios graduales bajo un escenario particular de aislamiento reproductivo y flujo génico (Irwin *et al.* 2005; Irwin, Irwin, & Price, 2001; Kuchta & Wake, 2016; Monahan, Pereira, & Wake, 2012; Qiao *et al.*, 2018).

Las especies-anillo se definen como una cadena de poblaciones que se forma a partir de una población ancestral que expandió su área de distribución alrededor de una barrera geográfica o de una región ecológicamente no idónea mediante dos frentes de dispersión, de tal forma que, cuando éstos se reencuentran existen barreras al libre flujo de genes entre sus poblaciones; es decir, se comportan como especies distintas (de Brito Martins & de Aguiar, 2016; Fuchs *et al.*, 2015; Irwin *et al.*, 2001).

Para que una especie pueda ser considerada como especie-anillo debe cumplir con tres características: 1) que tenga una distribución circular originada por la expansión de su área de distribución a través de dos frentes geográficos; 2) que las formas terminales coexistan, conservando las interacciones de dos especies que se encuentran en simpatría y 3) que las dos poblaciones terminales permanezcan conectadas por una cadena de poblaciones que permita la existencia de flujo génico entre ellas, de tal forma que se mantienen las interacciones entre las poblaciones a lo largo de la distribución de la especie (Cacho & Baum, 2012; Irwin *et al.*, 2001; Kuchta & Wake, 2016) (Figura 1).

Mayr (1963) se refirió a estos sistemas como la “demostración perfecta de la especiación”, ya que permiten estudiar aspectos clave sobre la divergencia de las especies. Entre otros aspectos, hacen posible rastrear la historia de la formación de las especies en el espacio a través de la variación geográfica que conecta formas aisladas reproductivamente. Estos sistemas son importantes para la

biología evolutiva porque permiten evaluar si la diferenciación geográfica a nivel de especie puede ocurrir en presencia de flujo génico (Irwin *et al.*, 2001).

En 2001, Irwin *et al.* realizaron una revisión de las especies que se han propuesto como especies-anillo, partiendo de las 18 especies mencionadas por Mayr (1963). En dicho estudio, Irwin *et al.* (2001) reconocen que la mayoría de las especies propuestas cumplen con la siguiente condición: coexistencia de dos poblaciones cercanamente emparentadas pero que presentan formas distintas (formas terminales de la especie-anillo). Sin embargo, en la mayoría de los casos, carecen de áreas de distribución continuas, lo que interrumpe el flujo génico entre las poblaciones. Por ello, hasta el 2012 únicamente se reconocían dos especies que cumplían con las características de una especie-anillo: la salamandra (*Ensatina eschscholtzii*), en las montañas que rodean el Valle Central de California y el mosquitero verdoso (*Phylloscopus trochiloides*), en la Plataforma Tibetana (Irwin, *et al.* 2001; Cacho & Baum 2012). Sin embargo, *E. tithymaloides* se ha propuesto como una especie-anillo, ya que podría cumplir con las características antes descritas.

Uno de los modelos propuestos que podría cumplir con las características de especie-anillo es *Euphorbia tithymaloides* (Cacho & Baum, 2012). Esta especie es la más variable y de mayor distribución del clado *Pedilanthus* de *Euphorbia* (Cacho *et al.*, 2010). Su distribución incluye México, Florida, Centroamérica, el norte de Sudamérica y la mayoría de las islas del Caribe. Dentro de esta especie se reconocen ocho subespecies con base en su distribución geográfica y diferencias entre caracteres vegetativos y de reproducción (Cacho & Baum, 2012; Dressler, 1957), pero éstas son sutiles y hay intergradación entre ellas. Previo al estudio de Cacho y Baum (2012), únicamente se había propuesto una especie de plantas como especie-anillo, *Acacia karoo*, que rodea al Macizo Central de Sudáfrica.

Cacho y Baum (2012) realizaron un estudio filogenético para 42 poblaciones utilizando dos regiones nucleares (una región basada en el gen de *Solanum* *SGN-U43200* y un locus del gen *G3PDH*). En ese estudio, los autores establecieron que *E. tithymaloides* es una especie-anillo que se originó en México/Guatemala y se expandió hacia el Caribe mediante dos frentes geográficos: 1) el frente de las Antillas Menores (LA, por sus siglas en inglés), formado por las subespecies *E. tithymaloides* L. ssp. *tithymaloides*, *E. tithymaloides* L. ssp. *padifolia* y *E. tithymaloides* L. ssp. *parasitica*) y 2) el frente de las Antillas Mayores (GA, por sus siglas en inglés), formado por las subespecies *E. tithymaloides* L. ssp. *tithymaloides*, *E. tithymaloides* L. ssp. *smallii*, *E. tithymaloides* L. ssp. *jamaicensis*, *E. tithymaloides* L. ssp. *bahamensis* y *E. tithymaloides* L. ssp. *angustifolia*. El punto de reencuentro de

estos dos frentes es en las Islas Vírgenes, específicamente en la Isla de St. Croix, donde coexisten las subespecies *E. tithymaloides* L. ssp. *padifolia* y *E. tithymaloides* L. ssp. *angustifolia* (Figura 1).

Cacho y Baum (2012) reportan que el Pasaje de Anegada, caracterizado por una gran distancia entre islas (>15 km) y corrientes de fuertes a moderadas, ha funcionado como una barrera al flujo génico. Sin embargo, en su análisis filogenético se encontraron alelos provenientes de ejemplares del Frente de las Antillas Mayores en un clado conformado por ejemplares de las Antillas Menores en al menos una población (Vieques), los cuales sugieren la ocurrencia de introgresión.

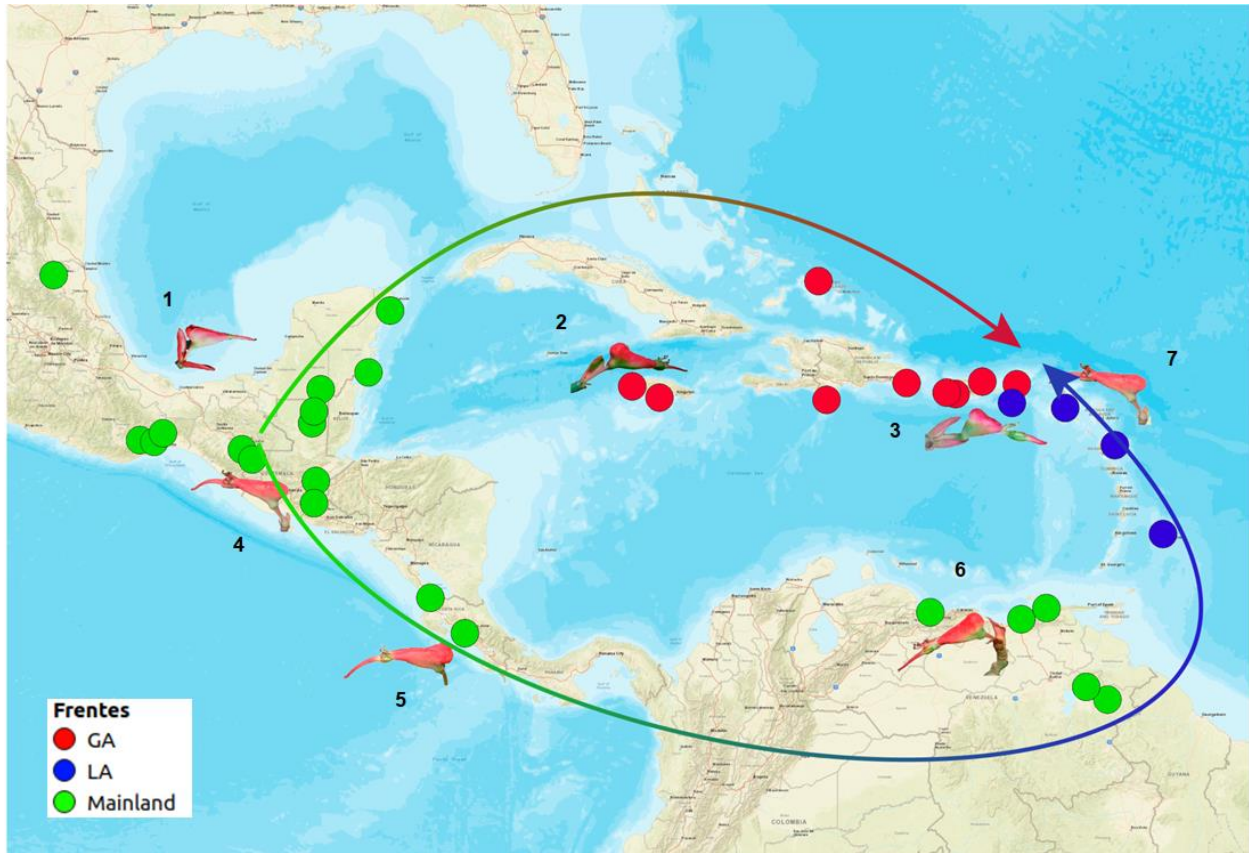


Figura 1. Distribución de *Euphorbia tithymaloides*. GA = Frente de las Antillas Mayores, LA = Frente de las Antillas Menores, Mainland = Continente. Las subespecies mostradas en la imagen son las siguientes: 1) *E. tithymaloides* L. ssp. *tithymaloides*, 2) *E. tithymaloides* L. ssp. *jamaicensis*, 3) *E. tithymaloides* L. ssp. *angustifolia*, 4-6) *E. tithymaloides* L. ssp. *tithymaloides*, y 7) *E. tithymaloides* L. ssp. *padifolia*. Imagen adaptada de Cacho et al. 2019.

OBJETIVOS

General

El objetivo del presente estudio es evaluar si la evidencia morfológica, genética, ecológica y biogeográfica disponible para *E. tithymaloides* corresponde al modelo de una especie-anillo.

Particulares

- Investigar posibles patrones de variación genética y morfológica de *E. tithymaloides* con respecto a su geografía.
- Explorar la influencia del clima en la distribución espacial de la variación genética de *E. tithymaloides*.

ANTECEDENTES

Los procesos que conducen la divergencia de linajes, la diversificación y la construcción de la biodiversidad son diversos e incluyen factores geográficos, históricos y ambientales que favorecen el aislamiento e interrumpen el flujo génico entre poblaciones (Rissler & Apodaca, 2007). El flujo génico es el factor responsable de la cohesión genética entre las poblaciones, es decir, impide que éstas se diferencien a través de adaptaciones locales o por deriva génica (Morjan & Rieseberg, 2004; Petit & Excoffier, 2009). El flujo génico entre poblaciones disminuye la divergencia y su impacto en la diferenciación de poblaciones depende de si la divergencia entre poblaciones se atribuye a adaptación local, deriva génica o la fijación inicial de mutaciones ventajosas a lo largo de la distribución de la especie (Irwin *et al.* 2008).

Además del flujo génico, existen otras tres fuerzas evolutivas: la deriva génica, que consiste en un cambio al azar en las proporciones de los alelos en una población; la mutación, que es la que genera toda la variación genética y la selección natural, que menciona que los individuos que tienen alelos más ventajosos, dejan más hijos y estos alelos incrementan su proporción en las pozas génicas, en caso contrario, los alelos son removidos rápidamente. Estas fuerzas no son mutuamente excluyentes y pueden encontrarse en un balance, por ejemplo, si encontramos alelos con diferentes proporciones entre poblaciones, puede deberse a un balance entre deriva génica y flujo génico; a mayor deriva génica, las frecuencias alélicas entre las poblaciones serán más diferentes, mientras que entre más alto sea el flujo génico, éstas serán más parecidas (Eguiarte *et al.* 2013).

Dentro de los factores ambientales que favorecen el aislamiento e interrumpen el flujo génico entre poblaciones se encuentra el clima, que juega un papel importante en la diversificación, ya sea por conservadurismo de nicho o por divergencia de nichos (Dai *et al.*, 2015; Hua & Wiens, 2013; Jezkova & Wiens, 2018; Soberón, 2007). El clima puede ocasionar la fragmentación de las áreas de distribución ocasionando una especiación alopátrica (a través del conservadurismo de nicho) o una divergencia parapátrica de las poblaciones a lo largo de los gradientes climáticos (a través de la divergencia de nichos) (Jezkova & Wiens, 2018).

El primer mecanismo plantea que diferencias en el clima a lo largo del área de distribución pueden funcionar como una barrera a la dispersión entre las poblaciones alopátricas (Hua & Wiens, 2013; Jezkova & Wiens, 2018). Bajo este escenario, las especies en cada lado de la barrera no pueden adaptarse a las condiciones climáticas de ésta, ya que mantienen tolerancias climáticas similares a lo largo del tiempo. Una vez que ha ocurrido el aislamiento geográfico debido al conservadurismo de nicho, estas poblaciones alopátricas pueden presentar aislamiento reproductivo a través de varios mecanismos, entre los que se encuentran los efectos pleiotrópicos como resultado de la divergencia de caracteres no relacionados con el clima; adaptaciones divergentes a condiciones ambientales similares y las interacciones epistáticas entre genes cuya fijación en poblaciones diferentes no requiere de la divergencia del nicho ecológico (Hua & Wiens, 2013).

El segundo mecanismo menciona que cuando las poblaciones de una especie ocurren en hábitats diferentes, las condiciones climáticas diferentes en las que viven pueden imponer una selección divergente que a su vez provoque que haya aislamiento reproductivo, tal como se ha propuesto en las hipótesis de especiación ecológica o especiación en gradiente (Hua & Wiens, 2013; Jezkova & Wiens, 2018). Bajo este mecanismo, la divergencia de nicho climático es necesaria para que las poblaciones puedan vivir en distintos hábitats (Hua & Wiens, 2013).

La identificación de especies hace que surjan un gran número de preguntas e hipótesis, por ejemplo: ¿las poblaciones están aisladas reproductivamente? ¿Son ecológicamente intercambiables? ¿Con qué frecuencia ocurre la migración si es que existe? ¿Ocurre introgresión cuando las poblaciones entran en contacto? A pesar de la complejidad de estas preguntas, al identificar las especies la mayoría de las veces se carece de un modelo que permita contestarlas todas (Bond & Stockman, 2008). Las especies-anillo conservan las interacciones típicas entre las poblaciones a lo largo de toda la distribución de la especie. Éstas fueron reconocidas por Mayr (1942) como “la demostración perfecta de la especiación” y se ha propuesto que estos modelos proveen la información necesaria para rastrear

la historia de la formación de las especies en el espacio a través de la variación geográfica que conecta a las formas aisladas reproductivamente (Irwin *et al.*, 2001).

La formación de una especie-anillo incluye eventos de colonización que resultan en la expansión del área de distribución de la especie (Figura 2). Durante esta expansión, los individuos que se encuentran más cerca de los frentes experimentan menores densidades y contribuyen de manera desproporcionada a las siguientes generaciones. Como consecuencia de esto, se espera una gran diferenciación entre las dos poblaciones terminales (de Brito Martins & de Aguiar, 2016; Irwin *et al.* 2001; Monahan *et al.* 2012), dada por un aislamiento por distancia y no por eventos de alopatría (Joseph *et al.*, 2008). Esto provee de un modelo único para rastrear, a lo largo de la distribución geográfica, la variación genética entre las distintas poblaciones, desde la ancestral hasta las dos formas más divergentes.

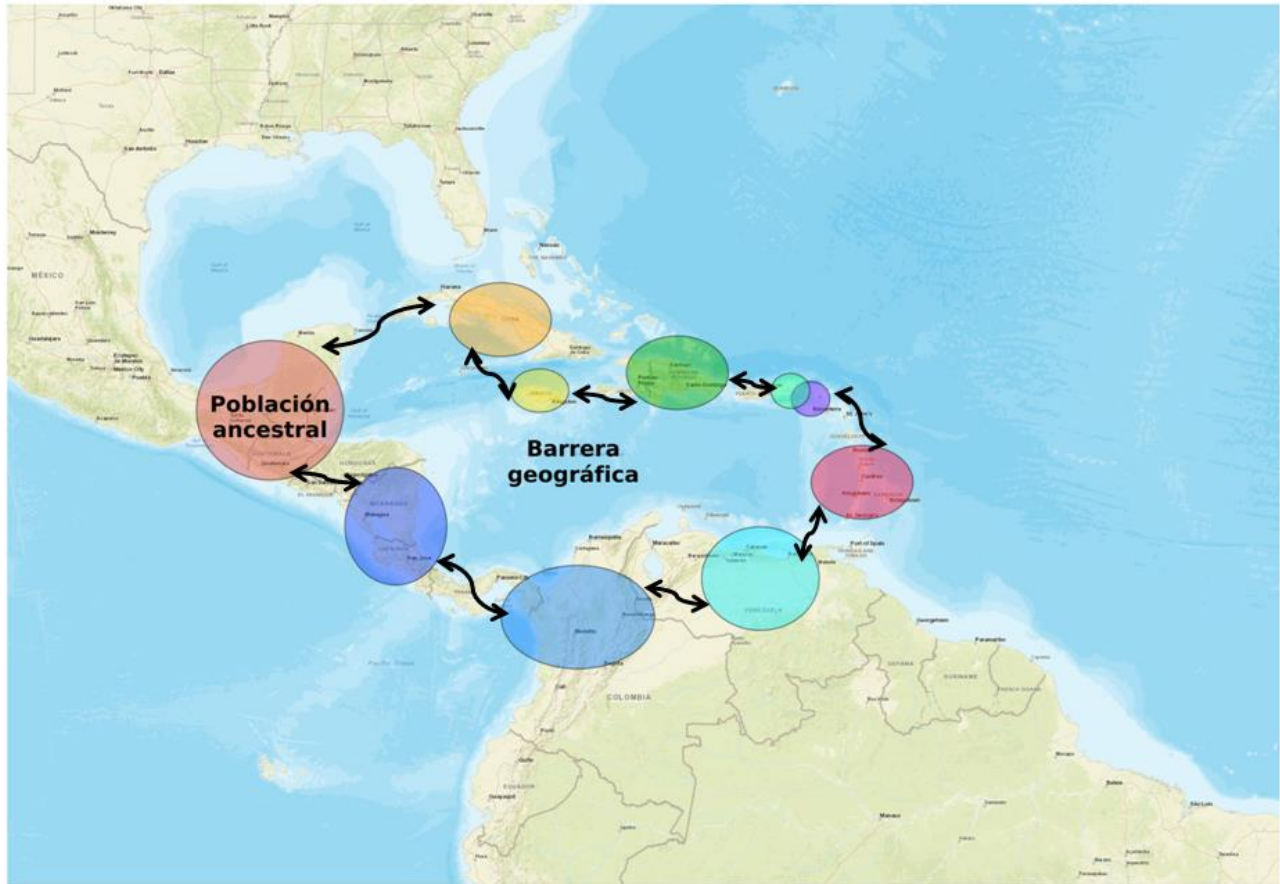


Figura 2. Modelo de formación de una especie anillo. A partir de una población ancestral se inicia la expansión del área de distribución por medio de dos frentes geográficos que rodean una barrera geográfica.

Las características ambientales tienen un papel importante en la definición de los límites entre las especies (Wiens, 2004) y en la estructuración genética de las poblaciones que comprenden el área de distribución de la especie (de Brito Martins & de Aguiar, 2016). Las especies-anillo descritas cuentan con un área de distribución muy amplia (Alcaide *et al.*, 2014; Cacho & Baum, 2012), por lo que es posible que las distintas poblaciones de una misma especie se encuentren en ambientes diferentes. Las poblaciones intermedias entre la población ancestral y las formas terminales de la distribución en anillo permiten identificar qué condiciones ambientales han influenciado en la distribución de la especie y que, posiblemente, han tenido un impacto en el cambio gradual de la estructuración genética de las poblaciones (Qiao *et al.*, 2018).

La diversidad genética en ocasiones está correlacionada con las capacidades de adaptación y éxito reproductivo de las especies, por lo que el establecimiento de nuevas poblaciones de una especie depende de su grado de adaptación a las condiciones ambientales locales. Por ello, entender de qué manera los procesos espacio-ambientales determinan la estructura genética de una población es importante para comprender cómo han cambiado las áreas de distribución de las especies (Rosche *et al.*, 2018). Las diferencias ambientales también afectan la germinación y el reclutamiento de semillas que, a su vez, afectan la diferenciación genética entre las poblaciones de plantas, en ocasiones debido a procesos aleatorios como el efecto fundador o la deriva génica. Por lo tanto, la estructura genética de cualquier especie de planta refleja su interacción con el ambiente (Hamasha *et al.*, 2013).

METODOLOGÍA

El desarrollo de la presente investigación se llevó a cabo con dos enfoques principales. El primero consistió en explorar la variación genética y morfológica de *Euphorbia tithymaloides* en el paisaje, con el objetivo de identificar patrones geográficos en dicha variación. El segundo, se centró en evaluar la influencia del clima en la estructura genética de *E. tithymaloides*.

Área de estudio

El Caribe es la región Neotropical más antigua (Santiago-Valentin & Olmstead, 2004). Esta región es considerada como una unidad fitogeográfica distinta dentro de los trópicos debido a su gran diversidad de plantas. La flora de plantas vasculares de esta región consta de ~12,000 especies incluyendo a las que se encuentran en la parte norte de Florida. Cerca del 50% de las especies de esta

región son endémicas por lo que se le ha considerado como un *hotspot* a nivel mundial (Santiago-Valentin & Olmstead, 2004).

La placa del Caribe es una porción de la placa del Pacífico que incluye a las Antillas Mayores y Menores y que se originó durante el Jurásico-Cretácico (200 – 150 Mya). Las Antillas Mayores surgieron durante el Cretácico temprano (110 - 130 Mya) como un arco volcánico de islas que se formó debido a la subducción de la Placa de Norteamérica bajo la Placa del Caribe durante su desplazamiento hacia el este (Hedges, 2006; Hedges, Hass, & Maxson, 1992; Nieto-Blázquez, Antonelli, & Roncal, 2017; Santiago-Valentin & Olmstead, 2004). Posteriormente, este movimiento ocasionó la colisión entre el arco de las Antillas Mayores con la Plataforma de Las Bahamas deteniendo la subducción en esta zona y creando una falla que fijó a Cuba, Española y Puerto Rico a la Placa de Norteamérica. Hacia el este, la subducción continuó formando un arco de islas que actualmente constituye a las Antillas Menores (Hedges, 2006) (Figura 3). Se estima que desde el Oligoceno-Mioceno temprano (20 – 30 m Mya) las islas del Caribe ya se encontraban en la disposición que presentan actualmente. En cuanto a la disposición actual del Continente Americano uno de los eventos geológicos más importantes es la formación del Istmo de Panamá que ocurrió hace 3 Mya (O’Dea *et al.*, 2016).

Los patrones de circulación marina y los eventos geológicos han tenido una influencia importante en la distribución de especies en el Caribe. Fluctuaciones en los niveles del mar, relacionadas con las oscilaciones climáticas del Cuaternario cambiaron la geografía y ecología de la región. Las corrientes marinas existentes en el Caribe se caracterizan por tres sistemas principales: la corriente del Caribe, la corriente de las Antillas y el remolino que va de Panamá a Costa Rica (Jossart *et al.*, 2017).

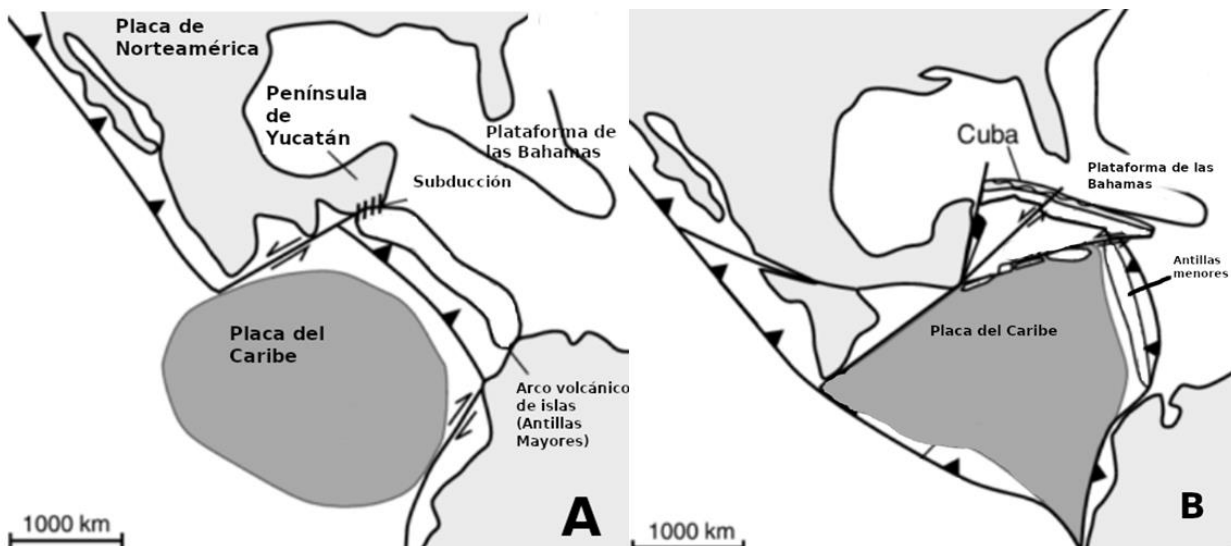


Figura 3. Geología del Caribe. A) Antillas Mayores surgen durante el Cretácico temprano como un arco volcánico de islas que se formó debido a la subducción de la Placa de Norteamérica bajo la Placa del Caribe. B) Colisión entre el arco de las Antillas Mayores con la Plataforma de las Bahamas (Imagen modificada de (Schneider et al., 2004).

La región del Caribe, incluyendo a las Antillas Mayores y a las Antillas Menores, es considerada como un *hotspot* de biodiversidad que contiene cerca de 13,000 especies de plantas con semilla, de las cuales el 72% son endémicas (Cano *et al.*, 2018; Hortelano-Moncada, Cervantes, & Trejo-Ortíz, 2009; Nieto-Blázquez *et al.*, 2017). Estudios comparativos enfocados en plantas del Caribe reportan que han existido varios intercambios bióticos entre las islas, entre las islas y Sudamérica y Norteamérica así como diversificaciones locales (Cano *et al.*, 2018; Santiago-Valentin & Olmstead, 2004). A pesar de que se han propuesto varios modelos geológicos para explicar el intercambio biótico entre las áreas continentales y las islas del Caribe (p. ej. las Proto-Antillas que comunicaban a Norteamérica y Sudamérica durante el Cretácico tardío, GAARlandia (del inglés Greater Antilles-Aves Ridge) que conectaba a las Antillas con Sudamérica durante el Oligoceno y la formación del Istmo de Panamá en el Mioceno) ((Cano *et al.*, 2018) y referencias en él), existen varios estudios que postulan que la dispersión por agua tiene un papel importante en la historia biogeográfica de los linajes de plantas en el Caribe (Cano *et al.*, 2018; Nieto-Blázquez *et al.*, 2017).

Especie de estudio

Euphorbia tithymaloides L. es la especie más variable y de distribución más amplia del clado *Pedilanthus*. Su distribución incluye México, Florida, Centroamérica, el norte de Sudamérica y la mayoría de las islas del Caribe. Dentro de esta especie, con base en la distribución y diferencias entre

caracteres vegetativos y reproductivos, se han reconocido ocho subespecies (Cacho & Baum, 2012; Dressler, 1957)(Cacho & Baum, 2012; Dressler, 1957): *E. tithymaloides* subsp. *tithymaloides*, *E. tithymaloides* subsp. *smallii*, *E. tithymaloides* subsp. *bahamensis*, *E. tithymaloides* subsp. *parasitica*, *E. tithymaloides* subsp. *angustifolia*, *E. tithymaloides* subsp. *padifolia*, *E. tithymaloides* subsp. *jamaicensis* y *E. tithymaloides* subsp. *retusa* (Dressler, 1957). Sin embargo, estas diferencias son sutiles y hay intergradación morfológica entre ellas. Es posible que *E. tithymaloides* subsp. *retusa* sea un escape de cultivos y *E. tithymaloides* subsp. *smallii* posiblemente se encuentra extinta (*com. pers.* Ivalú Cacho).

Euphorbia. tithymaloides tiene una semilla ovoide moderadamente grande (3-5 mm) y sin ninguna característica importante de dispersión más que la dehiscencia de la cápsula que puede, a lo mucho, arrojar la semilla de dos a tres metros de distancia. La colonización de esta especie hacia las Antillas quizás puede ser explicada por la dispersión de partes de la planta durante las tormentas. Los tallos probablemente pueden sobrevivir tiempos cortos en agua salada y, al llegar a costa, pueden establecerse incluso cuando hay condiciones poco favorables (Dressler, 1957).

Datos moleculares

Se utilizaron los datos moleculares generados por Cacho y Baum (2012), los cuales incluyeron dos regiones nucleares: la primera basada en el gen *SGN-U342009* (Solanum Gene Network Unigene), que está asociado a la familia de proteínas fosfoglicerato mutasa que contiene dominios Interpro y tiene un papel importante en el movimiento estomático, crecimiento vegetativo y producción de polen en *Arabidopsis thaliana* (Zhao et al. 2011).

La segunda región, *G3PDH*, se ubica en el locus *GAPC-2* del gen gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa subunidad C. Funciona en la formación de enlaces iónicos de cobre y zinc y en la actividad del gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa. Está involucrada en la respuesta al estrés oxidativo, en la respuesta a los iones de cadmio, en la gluconogénesis, en la respuesta de defensa a las bacterias y en la glicólisis. Se encuentra en la el citosol, la mitocondria, la membrana plasmática y en la membrana celular.

Patrones genéticos y morfológicos de E. tithymaloides con respecto a su geografía.

Para evaluar patrones genéticos y morfológicos en *E. tithymaloides* se analizaron las secuencias genéticas disponibles, publicadas por Cacho y Baum (2012), y que corresponden a dos marcadores,

G3PDH y *SGN-U34200*. Se visualizó la variación genética utilizando análisis de componentes principales (PCA) y para evaluar la hipótesis de la especie anillo se implementaron pruebas de Mantel y modelos que toman en cuenta la autocorrelación espacial en la variación genética (Moran Eigen Value Maps). Para evaluar patrones geográficos en la variación morfológica de *E. tithymaloides*, se realizaron medidas del ciatio y las hojas, y se evaluaron usando modelos lineares y el Pasaje de Anegada como referencia geográfica. Mayor detalle sobre estos análisis y modelos se presenta en el Anexo 1.

Estructura genética

Para llevar a cabo los análisis de estructura genética se utilizaron las secuencias disponibles en GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) de la región nuclear *SGN-U34200* para 160 secuencias con una longitud de 855 pares de bases para 118 individuos correspondientes a 35 poblaciones y las 127 secuencias de la región nuclear *G3PDH* de 719 pares de bases, pertenecientes a 114 individuos de 32 poblaciones (Cacho & Baum 2012). Las diferencias que existen entre el número de individuos y de secuencias se deben a que algunos individuos son homocigotos y otros son heterocigotos (ver Anexo 2). Por ello, las secuencias se utilizaron como haploides.

A partir de las secuencias de los *loci* *SGN-U34200* y *G3PDH*, se construyeron las matrices de haplotipos en GenAlex v.6.5 (Peakall & Smouse, 2017) con las opciones *Distance based*, *Genetic* y *Haploid* para inferir la estructura poblacional a partir de éstas. Se construyeron tres matrices: una para cada uno de los *loci* y una con los *loci* concatenados; para ésta última se consideraron únicamente aquellos individuos con información para ambos genes (Anexo 3). Se llevó a cabo un análisis de agrupamiento de poblaciones en STRUCTURE v2.3.4 (Pritchard, Wen, & Falush, 2010) para cada uno de los genes de manera individual y para la matriz concatenada. Este programa utiliza un modelo de agrupamiento Bayesiano donde se puede asumir de 1 a K poblaciones y las caracteriza con base en el conjunto de frecuencias alélicas de cada locus (Pritchard et al., 2010). Para cada una de las matrices se llevó a cabo el análisis bajo el modelo con admixia, el cual asume la ocurrencia de ancestría mixta (Pritchard, Wen, y Falush 2010). Esto se modela asumiendo que un individuo i hereda una fracción de su genoma de sus ancestros provenientes de K poblaciones. El resultado considera el promedio de los estimados posteriores de estas proporciones. Es un modelo flexible para lidiar con las complejidades de poblaciones reales y permite lidiar con zonas híbridas (Pritchard, Wen, & Falush, 2010). Los

parámetros utilizados para llevar a cabo los cuatro análisis fueron: 10,000 generaciones de *burnin*, 100,000 generaciones de MCMC y 15 réplicas cada una para cada valor de *K* desde 2 hasta 20.

Los resultados de STRUCTURE fueron resumidos en StructureHarvester (<http://taylor0.biology.ucla.edu/STRUCTUREHarvester/>) (Earl & VonHoldt, 2012) para inferir el valor de *K* más probable. Los datos fueron procesados en CLUMPP (Jakobsson & Rosenberg, 2007) que permite comparar y alinear los resultados obtenidos para cada *K*. Finalmente, los resultados fueron proyectados en mapas elaborados en QGIS 3.8.3-Zanzibar.

Los estadísticos de diversidad genética, poblacional y molecular se obtuvieron considerando las siguientes agrupaciones de individuos o escenarios (Anexos 3, 4 y 5):

- 1) Escenario geográfico: los individuos se asignaron al frente de las Antillas Mayores (GA, por sus siglas en inglés), Antillas Menores (LA, por sus siglas en inglés) o Continente.
- 2) Escenario isla vs. continente: los análisis se hicieron comparando el grupo de los individuos que se encuentran en alguna isla contra el grupo de los individuos que se ubican en continente.
- 3) Escenario filogenético: para este escenario, se consideró la propuesta de asignación de alelos Cacho y Baum (2012), la cual contempla la inclusión de los siguientes grupos: Antillas Mayores, Antillas Menores y Continente.
- 4) Grupos resultantes en STRUCTURE.

Para cada escenario, se estimaron los siguientes índices de diversidad: número de haplotipos (*h*), diversidad haplotídica (*Hd*) y diversidad nucleotídica (π) y número promedio de diferencias pareadas de nucleótidos dentro de la población (*K*). Como parámetros de estructura genética se estimaron F_{ST} (Weir & Cockerham, 1984) y G_{ST} . Adicionalmente, se estimó el número promedio de diferencias nucleotídicas (K_{xy}), la sustitución de nucleótidos por sitio (D_{xy}), y la sustitución nucleotídica por sitio (Da) entre poblaciones. Todos estos índices se estimaron utilizando el software DnaSP v6 (Librado & Rozas, 2009) con una prueba de 10,000 permutaciones.

Finalmente, para cada matriz (SGN-U34200, G3PDH y concatenada) y bajo cada escenario (geográfico, isla vs. continente, filogenético y STRUCTURE) se realizó un análisis de varianza molecular (AMOVA) para evaluar la diferenciación entre poblaciones. Dichos análisis se llevaron a cabo en GenAlex v.6.5 (Peakall & Smouse, 2017), que permite estimar la diferenciación genética entre

poblaciones (PhiPT, análogo de F_{st}). La significancia estadística de las AMOVA se determinó para cada una de las matrices y bajo cada uno de los escenarios propuestos con 999 permutaciones.

Influencia del clima

Un método muy utilizado para identificar los factores climáticos que determinan la distribución de una especie y su papel en la especiación es la caracterización del espacio ecológico de las especies (Jezkova & Wiens, 2018; Rissler & Apodaca, 2007; Soberón, 2007). Una aproximación adecuada es caracterizar el espacio climático, se puede lograr mediante análisis de componentes principales (PCA, por sus siglas en inglés) (Moreno-Letelier, Ortiz-Medrano, & Piñero, 2013), ya que permite condensar la información de un fenómeno multivariado en sus características principales y más representativas al proyectar la información en una presentación bidimensional. Los dos ejes creados son independientes y aunque reducen el número de dimensiones, es decir, la complejidad de los datos originales, también mantienen bastante de la relación original entre las variables (información o varianza explicada) (Janekovi & Novak, 2012).

El análisis de componentes principales (PCA, por sus siglas en inglés) es uno de los métodos estadísticos que se ha propuesto para resolver o reducir la autocorrelación. La ventaja del PCA es que es una teoría exacta sobre las distribuciones estimadas, esto es que tanto el error de la regresión como los estimados cuentan con una distribución normal y los componentes principales (PC por sus siglas en inglés) son herramientas útiles para detectar y cuantificar relaciones mutuas entre variables. Otra propiedad importante de los PC es que son independientes uno del otro (i.e. son ortogonales) (Cruz-Cárdenas *et al.*, 2014).

Con la intención de identificar aquellas variables climáticas que tengan mayor influencia en la estructura genética de *E. tithymaloides*, se realizó un PCA utilizando los valores climáticos que se extrajeron de las variables climáticas de Worldclim v1.4 (Hijmans *et al.*, 2005); www.worldclim.org, descargadas el 6 de noviembre del 2017) a una escala de 30" (resolución de $\sim 1\text{km}^2$ en el Ecuador) y utilizando los registros de las poblaciones que tienen datos genéticos (Cacho & Baum 2012).

Se caracterizó el espacio climático para las poblaciones de *Euphorbia tithymaloides* para los dos genes de los que se tiene información. Se utilizó la plataforma estadística R v.3.4.4 (R Core team, 2015) para llevar a cabo los siguientes análisis. Primero, de las 19 variables climáticas de Worldclim, se extrajeron los valores climáticos que corresponden a las diferentes localidades de donde se tienen individuos con información genética. Esto se llevó a cabo con la función “*extract*” del paquete *raster*

(Hijmans & van Etten, 2010). Posteriormente, se realizó un análisis de correlación (función “*cor*”) entre los valores climáticos y con la intención de disminuir la multicolinealidad espacial, se eliminaron las variables con un coeficiente de correlación de Pearson >0.8 o menor a -0.8 (ver resultados). Finalmente, se llevó a cabo un PCA tanto para el gen *SGN-U34200* como para el locus del gen *G3PDH* de los valores climáticos extraídos de cada registro utilizando la función “*prcomp*” y se elaboraron las gráficas de los PCA con la función “*ggbiplot*” del paquete “*ggplot*”.

RESULTADOS

Patrones de variación genética y morfológica de E. tithymaloides con respecto a su geografía.

La variación genética en *E. tithymaloides* en el Caribe fueron más consistentes con un modelo que implica una expansión del área de distribución por medio de dos frentes geográficos que con el modelo de aislamiento por distancia. Esto sugiere que la hipótesis que mejor explica estos datos es la que establece que *E. tithymaloides* colonizó el Caribe a través de dos frentes geográficos, uno a través de las Antillas Mayores y otro que se dispersó hacia el norte de Sudamérica y luego hacia las Antillas Menores. Este escenario es congruente con la hipótesis de especie-anillo.

La morfología floral de *E. tithymaloides* parece haber cambiado a lo largo de ambos frentes geográficos. Los cambios ocurridos en cada uno de los frentes muestran un patrón que consiste en inflorescencias más cortas y compactas en las poblaciones de las Antillas comparadas con la forma más alargada de los ciatios de las poblaciones que se ubican en el continente. En un contexto evolutivo, este patrón de variación sugiere una convergencia evolutiva hacia ciatios relativamente más cortos en poblaciones de las Antillas. Mayor detalle sobre estos resultados se presenta en el Anexo 1.

Influencia del clima en la distribución espacial de la variación genética de E. tithymaloides.

Datos moleculares

Considerando ambos marcadores moleculares, la región nuclear *SGN-U34200* cuenta con 160 alelos únicos con una longitud de 855bp correspondientes a 118 individuos provenientes de 35 poblaciones y 127 alelos de la región nuclear *G3PDH* de 719bp de longitud pertenecientes a 114 individuos de 32 poblaciones (Cacho & Baum 2012). La diferencia entre el número total de alelos únicos y la cantidad de individuos en la muestra radica en que cada una de las secuencias representa un alelo en la población, donde los individuos heterocígos presentaron dos diferentes alelos (Cacho &

Baum, 2012). En cuanto a la matriz concatenada, ésta cuenta con 194 alelos únicos con una longitud de 1,574bp correspondientes a 97 individuos provenientes de 27 poblaciones.

Entre los 160 alelos del gen *SGN-U34200* se encontraron 41 haplotipos, 61 sitios variables de los cuales 35 resultaron parsimoniosamente informativos. La diversidad haplotídica (Hd) para los 160 alelos del gen *SGN-U34200* fue de 0.922 +/- 0.010 desviación estándar (SD). El número promedio de las diferencias nucleotídicas (k) fue de 6.446 y la diversidad nucleotídica (π) fue de 0.00863.

En cuanto a los resultados de los estadísticos genéticos, para el gen *SGN-U34200* se encontró que bajo todos los escenarios evaluados, el frente que mayor diversidad haplotídica presenta es el del continente (geográfico $Hd=0.91056$, isla vs. continente $Hd=0.90793$, filogenético $Hd=0.92333$ y STRUCTURE $Hd=0.85819$) (Tabla 1). En contraste, el frente con menor diversidad haplotídica en todos los escenarios fue el frente LA (geográfico $Hd=0.59544$, isla vs. continente $Hd=0.83175$, filogenético $Hd=0.082013$ y STRUCTURE $Hd=0.74146$).

La diversidad nucleotídica fue mayor para el frente del continente en el escenario geográfico ($\pi = 0.00790$) y STRUCTURE ($\pi = 0.00477$), para el escenario isla vs. continente la mayor diversidad nucleotídica se registró en el frente de isla ($\pi = 0.00837$) y para el escenario filogenético la diversidad nucleotídica fue mayor para el frente LA ($\pi = 0.00866$). Los valores más bajos de este parámetro se encontraron en el frente GA para el escenario geográfico ($\pi = 0.00185$), filogenético ($\pi = 0.00343$) y STRUCTURE ($\pi = 0.00133$) y para el frente continente en el escenario isla vs. continente ($\pi = 0.0070$).

Tabla 1. Estadísticos genéticos para el locus *SGN-U34200* y los distintos escenarios evaluados.

Escenario	Frente	Número de secuencias	Haplotipos	Diversidad haplotídica (Hd)	k	π
Geográfico	GA	63	11	0.75627	1.38146	0.00185
	LA	27	6	0.59544	3.42450	0.00458
	Continente	70	31	0.91056	5.90062	0.00790
Isla vs. continente	Isla	91	15	0.83175	6.25006	0.00837
	Continente	69	30	0.90793	5.75320	0.00770
Filogenético	GA	79	17	0.83999	2.56475	0.00343
	LA	56	15	0.82013	6.46948	0.00866
	Continente	25	14	0.92333	6.46948	0.00688
STRUCTURE	k1	41	10	0.74146	2.97073	0.00398
	k2	60	25	0.85819	3.56441	0.00477
	k3	59	6	0.69141	0.99240	0.00133

En el caso de los estadísticos de diferenciación basados en las diferencias nucleotídicas entre poblaciones (K_{xy}), el número promedio de sustituciones nucleotídicas entre poblaciones (D_{xy}) y en

los estadísticos de distancia genética pareada F_{ST} y el análogo G_{ST} (Tabla 2), los valores mayores de diferencias nucleotídicas entre poblaciones (K_{xy}) se encontraron entre el frente GA y el frente LA para el escenario geográfico ($K_{xy}=12.2058$), para el escenario filogenético ($K_{xy}=9.13065$) y para el escenario STRUCTURE ($K_{xy} = 12.44026$). Por lo contrario, los valores menores de diferencias nucleotídicas se encontraron entre el frente Continente y el frente GA para el escenario geográfico ($K_{xy} = 5.57256$), para el escenario filogenético ($K_{xy} = 5.01671$) y el escenario STRUCTURE ($K_{xy} = 3.93079$).

Tabla 2. Diferencias nucleotídicas (K_{xy}), número promedio de sustituciones nucleotídicas entre poblaciones (D_{xy}), distancia genética pareada (F_{ST}) y valor de G_{ST} .

Escenario	Población 1	Población 2	K_{xy}	D_{xy}	F_{ST}	G_{ST}
Geográfico	Continente	GA	5.57256	0.00746	0.34661	0.08542
	Continente	LA	9.79153	0.01311	0.52382	0.09716
	GA	LA	12.2058	0.01634	0.80313	0.14935
Isla vs. continente	Continente	Isla	6.83262	0.00915	0.12162	0.06209
	GA	LA	9.13065	0.01222	0.50528	0.07938
Filogenético	GA	Continente	5.01671	0.00672	0.23242	0.04638
	LA	Continente	8.77500	0.01175	0.33868	0.03836
STRUCTURE	k1	k2	11.19594	0.01499	0.70815	0.10669
	k1	k3	12.44026	0.01665	0.84071	0.16180
	k2	k3	3.93079	0.00526	0.42037	0.12678

El mayor número promedio de sustituciones nucleotídicas por sitio entre las poblaciones (D_{xy}) para el gen *SGN-U34200* para todos los escenarios se encuentra al comparar el frente GA con LA (geográfico $D_{xy} = 0.01634$, filogenético $D_{xy} = 0.01222$ y STRUCTURE $D_{xy} = 0.01665$). En cuanto a los valores más bajos, estos se reportan para todos los escenarios al comparar el frente del continente y el de GA (geográfico $D_{xy} = 0.00746$, filogenético $D_{xy} = 0.00672$ y STRUCTURE $D_{xy} = 0.00526$). En cuanto a la distancia genética pareada, los valores mayores se encontraron entre el frente GA y LA para todos los escenarios (F_{ST} geográfico = 0.80313, F_{ST} filogenético = 0.50528 y F_{ST} STRUCTURE = 0.84071). Los valores menores de distancia genética para todos los escenarios se presentaron entre el frente GA y continente (F_{ST} geográfico = 0.34661, F_{ST} filogenético = 0.23242 y F_{ST} STRUCTURE = 0.42037)

Finalmente, para el coeficiente de diferenciación (G_{ST}) los resultados son consistentes con los presentados por F_{ST} donde los valores mayores se reportan entre los frentes GA y LA para todos los escenarios. Sin embargo, para los valores menores para el escenario geográfico este se presenta entre el

frente GA y continente y para los escenarios filogenético y STRUCTURE entre el frente LA y continente.

En cuanto al gen *G3PDH*, se utilizaron 127 alelos de los que se encontraron 28 haplotipos, 60 sitios variables de los cuales 44 resultaron parsimoniosamente informativos. La diversidad haplotídica (Hd) para las 127 secuencias fue de 0.839 +/- 0.021 desviación estándar (SD). El número promedio de las diferencias nucleotídicas (k) fue de 10.177 y la diversidad nucleotídica (π) fue de 0.01499. De acuerdo con la Tabla 3 se encontró que bajo todos los escenarios evaluados, excepto STRCUTRE, el frente que mayor diversidad haplotídica presenta es el de continente (geográfico $Hd=0.94388$, isla vs. continente $Hd=0.94388$ y filogenético $Hd=0.92308$). En cuanto al escenario STRUCTURE, el frente con mayor diversidad haplotídica fue GA ($Hd = 0.95671$). En contraste, el frente con menor diversidad haplotídica en los escenarios geográfico y filogenético fue LA ($Hd = 0.54545$ y $Hd = 0.58531$, respectivamente). Para el escenario STRUCTURE, el frente con menor diversidad haplotídica fue el de continente ($Hd = 0.48788$).

La diversidad nucleotídica fue mayor para el frente del continente en el escenario geográfico ($\pi = 0.01399$) y en el de isla vs. continente ($\pi = 0.01399$). Para el escenario filogenético y de STRUCTURE el frente con mayores valores fue el GA ($\pi = 0.00723$ y $\pi = 0.00919$, respectivamente). Los valores más bajos de este parámetro se encontraron en el frente LA para el escenario geográfico ($\pi = 0.00803$) y para el frente de continente para los escenarios filogenético y de STRUCTURE ($\pi = 0.00393$ y $\pi = 0.00919$, respectivamente). Las diferencias nucleotídicas entre poblaciones (K_{xy}), el número promedio de sustituciones nucleotídicas entre poblaciones (D_{xy}), la distancia genética pareada de las poblaciones (F_{ST}) y el valor de G_{ST} se presentan en la Tabla 4.

Tabla 3. Estadísticos genéticos para *G3PDH* y los distintos escenarios evaluados.

Escenario	Frente	Número de secuencias	Haplotipos	Diversidad haplotídica	K	π
Geográfico	GA	66	6	0.62657	6.18182	0.00910
	LA	12	3	0.54545	5.45455	0.00803
	Continente	49	23	0.94388	9.50170	0.01399
Isla vs. continente	Isla	78	8	0.68332	7.44456	0.01096
	Continente	49	23	0.94388	9.50170	0.01399
Filogenético	GA	64	10	0.61806	4.91022	0.00723
	LA	50	11	0.58531	3.90041	0.00574
	Continente	13	8	0.92308	2.66667	0.00393
STRUCTURE	k1	60	8	0.57514	2.00678	0.00296
	k2	45	7	0.48788	1.10101	0.00162
	k3	22	14	0.95671	6.23810	0.00919

Tabla 4. Diferencias nucleotídicas (K_{xy}), número promedio de sustituciones nucleotídicas entre poblaciones (D_{xy}), distancia genética pareada (F_{ST}) y valor de G_{ST} .

Escenario	Población 1	Población 2	K_{xy}	D_{xy}	F_{ST}	G_{ST}
Geográfico	Continente	GA	13.26964	0.01954	0.40904	0.09023
	Continente	LA	8.47279	0.01248	0.11740	0.05488
	GA	LA	11.03030	0.01624	0.47253	0.10959
Isla vs. continente	Continente	Isla	12.53166	0.01846	0.32386	0.06607
	Continente	GA	15.99159	0.02355	0.76310	0.09610
Filogenético	Continente	LA	8.81231	0.01298	0.62739	0.11604
	GA	LA	14.84625	0.02186	0.70327	0.24517
	k1	k2	15.84593	0.02334	0.90194	0.29919
STRUCTURE	k1	k3	18.05152	0.02659	0.77163	0.12169
	k2	k3	9.71212	0.01430	0.62217	0.16167

Los valores mayores de diferencias nucleotídicas entre poblaciones (K_{xy}) se encontraron entre el frente GA y el frente continente para los escenarios geográfico y filogenético ($K_{xy} = 13.26964$ y $K_{xy} = 15.99159$, respectivamente). Para el escenario STRUCTURE la mayor diferencia estuvo entre los frentes GA y LA ($K_{xy} = 18.05152$). Por lo contrario, los valores menores de diferencias nucleotídicas se encontraron entre el frente Continente y el frente LA para el escenario geográfico ($K_{xy} = 8.47279$) y para el escenario filogenético ($K_{xy} = 8.81231$). En el escenario STRUCTURE el menor número de diferencias nucleotídicas entre poblaciones se presentó entre los frentes continente y GA ($K_{xy} = 9.71212$).

El mayor número promedio de sustituciones nucleotídicas por sitio entre las poblaciones (D_{xy}) para el gen *G3PDH* para los escenarios geográfico y filogenético es entre los frentes continente y GA ($D_{xy} = 0.01954$ y $D_{xy} = 0.02355$). En cuanto al escenario STRUCTURE el mayor valor de D_{xy} fue entre el frente LA y GA ($D_{xy} = 0.02659$). Para los valores más bajos, estos se reportan para los escenarios geográfico y filogenético entre el frente continente y LA ($D_{xy} = 0.01248$ y $D_{xy} = 0.01298$, respectivamente). En el escenario STRUCTURE, el menor valor se registró entre el frente continente y GA ($D_{xy} = 0.01430$).

En cuanto a la distancia genética pareada, los valores mayores se encontraron entre el frente GA y LA para el escenario geográfico ($F_{ST} = 0.47253$), entre continente y GA para el escenario filogenético ($F_{ST} = 0.76310$) y entre continente y LA para el frente STRUCTURE ($F_{ST} = 0.90104$). Los valores menores de distancia genética se presentaron entre el frente continente y LA para el escenario geográfico y filogenético ($F_{ST} = 0.11740$ y $F_{ST} = 0.62739$, respectivamente). En cuanto al escenario STRUCTURE, el menor valor de F_{ST} fue entre el frente continente y GA ($F_{ST} = 0.62217$).

Finalmente, para el coeficiente de diferenciación (G_{ST}) los resultados señalan que para el escenario geográfico el valor mayor es entre los frentes GA y LA ($G_{ST}=0.10959$), mientras que el valor menor fue entre el frente continente y el LA ($G_{ST}=0.05488$). Para el escenario filogenético el valor mayor de G_{ST} se presenta entre el frente GA y LA ($G_{ST}=0.24517$) y el menor entre el frente de continente y de GA ($G_{ST}=0.09610$). Por último, para el escenario STRUCTURE se observa que el valor mayor es entre los frentes LA y continente ($G_{ST}=0.29919$) y el valor menor está entre los frentes LA y GA ($G_{ST}=0.12169$).

En cuanto a la matriz concatenada, se utilizaron 194 alelos de los que se encontraron 50 haplotipos, 92 sitios variables de los cuales 66 resultaron parsimoniosamente informativos. La diversidad haplotídica (Hd) para las 194 secuencias fue de 0.905 +/- 0.012 desviación estándar (SD). El número promedio de las diferencias nucleotídicas (k) fue de 15.602 y la diversidad nucleotídica (π) fue de 0.01092. De acuerdo con la Tabla 5 se encontró que bajo todos los escenarios evaluados, excepto el filogenético, el frente que mayor diversidad haplotídica presenta es el de continente (geográfico $Hd = 0.957$, isla vs. continente $Hd=0.957$ y STRUCTURE $Hd = 0.949$). En cuanto al escenario filogenético, el frente con mayor diversidad haplotídica fue GA ($Hd = 0.863$). En contraste, el frente con menor diversidad haplotídica en todos los escenarios, excepto continente vs. isla, fue el que pertenece al grupo LA (geográfico $Hd = 0.553$, filogenético $Hd = 0.654$, STRUCTURE $Hd = 0.562$). Para el escenario continente vs. isla, el frente con menor diversidad haplotídica fue el de isla ($Hd = 0.838$).

La diversidad nucleotídica fue mayor para el frente del continente en el escenario geográfico ($\pi = 0.009$) y en el filogenético ($\pi = 0.009$). Para el escenario de continente vs. isla el frente con mayor diversidad nucleotídica fue el de isla ($\pi=0.010$) y para el escenario de STRUCTURE el frente con mayor valor fue el de k1 ($\pi = 0.011$). Los valores más bajos de este parámetro se encontraron en el frente GA para el escenario geográfico ($\pi = 0.001$), el frente de continente para el escenario continente vs. isla ($\pi=0.009$), el frente LA para el escenario filogenético ($\pi=0.002$) y el frente 0.001 para el escenario de STRUCTURE ($\pi = 0.001$).

Tabla 5. Estadísticos genéticos para la matriz concatenada.

Escenario	Frente	Número de secuencias	Haplotipos	Diversidad haplotídica (Hd)	k	π
Geográfico	GA	96	13	0.745	2.154	0.001
	LA	50	7	0.553	6.012	0.004
	Continente	48	32	0.957	12.388	0.009
Isla vs. continente	Isla	146	20	0.838	14.206	0.010
	Continente	48	32	0.957	12.388	0.009

Escenario	Frente	Número de secuencias	Haplotipos	Diversidad haplotídica (Hd)	<i>k</i>	π
Filogenético	GA	134	36	0.863	8.689	0.006
	LA	57	12	0.654	2.818	0.002
	Continente	3	2	0.667	13.333	0.009
STRUCTURE	k1	38	10	0.889	16.624	0.011
	k2	41	10	0.562	1.817	0.001
	k3	88	17	0.784	3.011	0.002
	k4	27	20	0.949	6.895	0.005

Las diferencias nucleotídicas entre poblaciones (K_{xy}), el número promedio de sustituciones nucleotídicas entre poblaciones (D_{xy}), la distancia genética pareada de las poblaciones (F_{ST}) y el valor de G_{ST} se presentan en la Tabla 6.

Tabla 6. Diferencias nucleotídicas (K_{xy}), número promedio de sustituciones nucleotídicas entre poblaciones (D_{xy}), distancia genética pareada (F_{ST}) y valor de G_{ST} .

Escenario	Población 1	Población 2	K_{xy}	D_{xy}	F_{ST}	G_{ST}
Geográfico	Continente	GA	20.81	0.015	0.652	0.076
	Continente	LA	15.204	0.011	0.401	0.138
	GA	LA	27.747	0.019	0.853	0.189
Isla vs. continente	Continente	Isla	18.884	0.013	0.308	0.043
	Continente	GA	17.127	0.012	0.357	0.082
Filogenético	Continente	LA	20.947	0.015	0.618	0.107
	GA	LA	26.168	0.018	0.783	0.113
	k1	k2	16.159	0.011	0.451	0.104
STRUCTURE	k1	k3	15.879	0.011	0.411	0.038
	k1	k4	16.457	0.012	0.309	0.030
	k2	k3	29.201	0.020	0.922	0.167
	k2	k4	17.240	0.012	0.749	0.141
	k3	k4	19.711	0.014	0.757	0.058

Los valores mayores de diferencias nucleotídicas entre poblaciones (K_{xy}) se encontraron entre el frente GA y el frente LA para los escenarios geográfico y filogenético ($K_{xy} = 27.747$ y $K_{xy} = 26.168$, respectivamente). Para el escenario STRUCTURE la mayor diferencia estuvo entre los grupos k2 y k3 ($K_{xy} = 29.201$). Por lo contrario, los valores menores de diferencias nucleotídicas se encontraron entre el frente Continente y el frente LA para el escenario geográfico ($K_{xy} = 15.204$), entre el frente Continente y GA para el escenario filogenético ($K_{xy} = 17.127$). En el escenario STRUCTURE el menor número de diferencias nucleotídicas entre poblaciones se presentó entre los grupos k1 y k3 ($K_{xy} = 15.879$).

El mayor número promedio de sustituciones nucleotídicas por sitio entre las poblaciones (D_{xy}) para los escenarios geográfico y filogenético es entre los frentes GA y LA ($D_{xy} = 0.019$ y $D_{xy} = 0.018$). En cuanto al escenario STRUCTURE el mayor valor de D_{xy} fue entre los grupos k2 y k3 ($D_{xy} = 0.020$). Por otro lado, los valores más bajos, se reportan entre el frente Continente y LA para el escenario geográfico ($D_{xy} = 0.011$), entre el frente Continente y GA para el escenario filogenético ($D_{xy} = 0.012$) y entre los grupos k1 y k2 y k1 y k3 para el escenario STRUCTURE (ambos con $D_{xy} = 0.011$). En cuanto a la distancia genética pareada, los valores mayores se encontraron entre el frente GA y LA para el escenario geográfico ($F_{ST} = 0.853$) y para el escenario filogenético ($F_{ST} = 0.783$). Para el escenario STRUCTURE la mayor distancia genética pareada se encontró entre el grupo k2 y k3 ($F_{ST} = 0.922$).

Finalmente, para el coeficiente de diferenciación (G_{ST}) los resultados señalan que para el escenario geográfico el valor mayor es entre los frentes GA y LA ($G_{ST} = 0.189$), mientras que el valor menor fue entre el frente continente y el GA ($G_{ST} = 0.076$). Para el escenario filogenético el valor mayor de G_{ST} se presenta entre el frente GA y LA ($G_{ST} = 0.113$) y el menor entre el frente de continente y de GA ($G_{ST} = 0.082$). Por último, para el escenario STRUCTURE se observa que el valor mayor es entre los grupos k1 y k4 ($G_{ST} = 0.167$) y el valor menor está entre los grupos k1 y k4 ($G_{ST} = 0.030$).

Estructura genética

Los resultados de estructura poblacional indican que tanto para el gen *SGN-U34200* como para el locus del gen *G3PDH*, STRUCTURE identifica tres grupos genéticos (K=3; ver Figura 4, Figura 5, y Anexos 6 y 7).

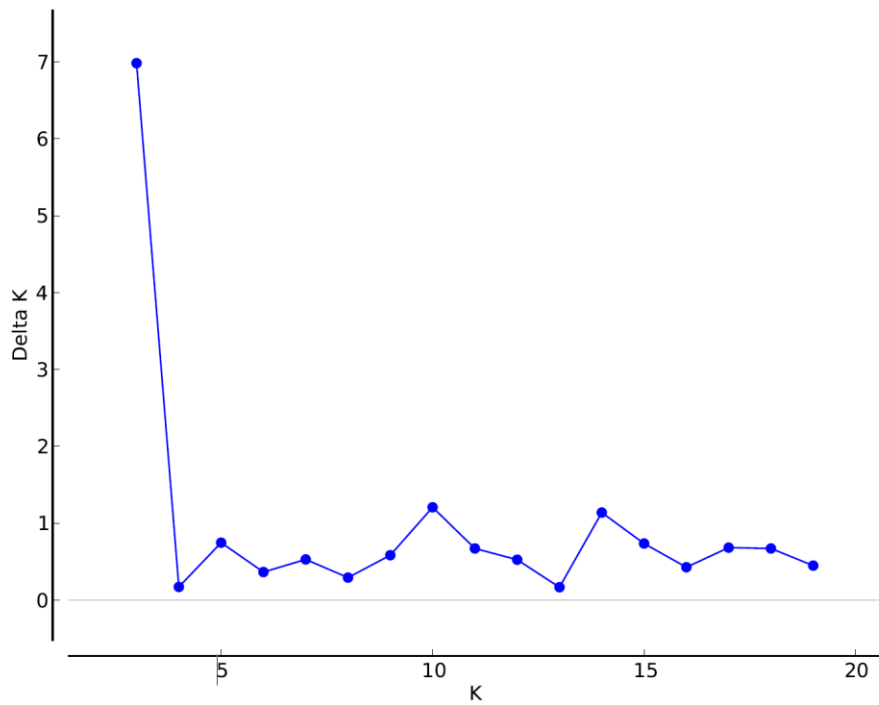


Figura 4. Delta K encontrado para el locus *SGN-U34200* de acuerdo con el método de Evanno.

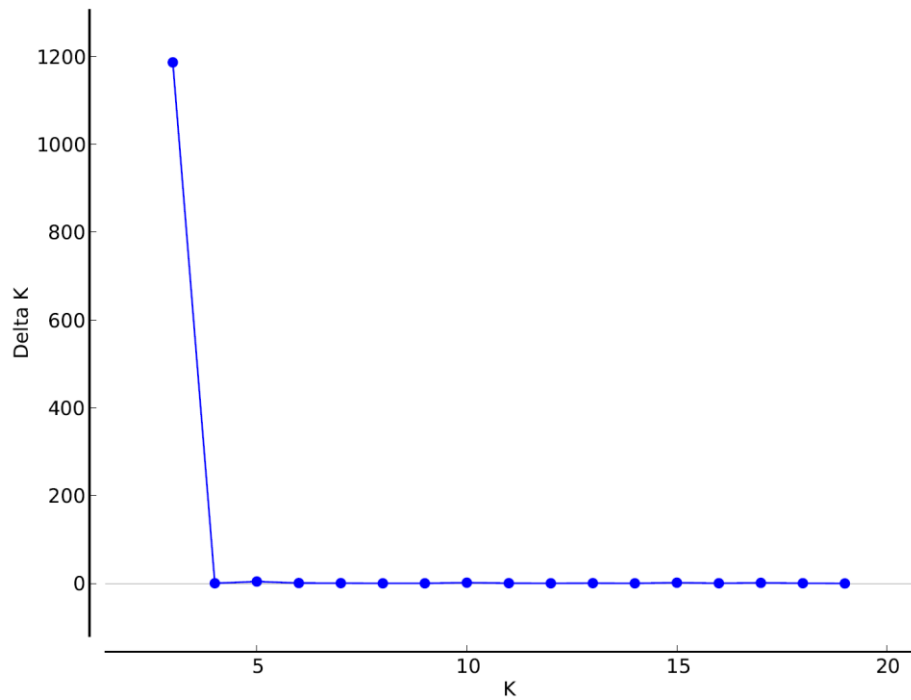


Figura 5. Delta K encontrado para el locus *G3PDH* de acuerdo con el método de Evanno.

En cuanto a la matriz concatenada, los resultados de estructura poblacional indican que STRUCTURE identifica cuatro grupos genéticos (K=4; Figura 6 y Anexo 8).

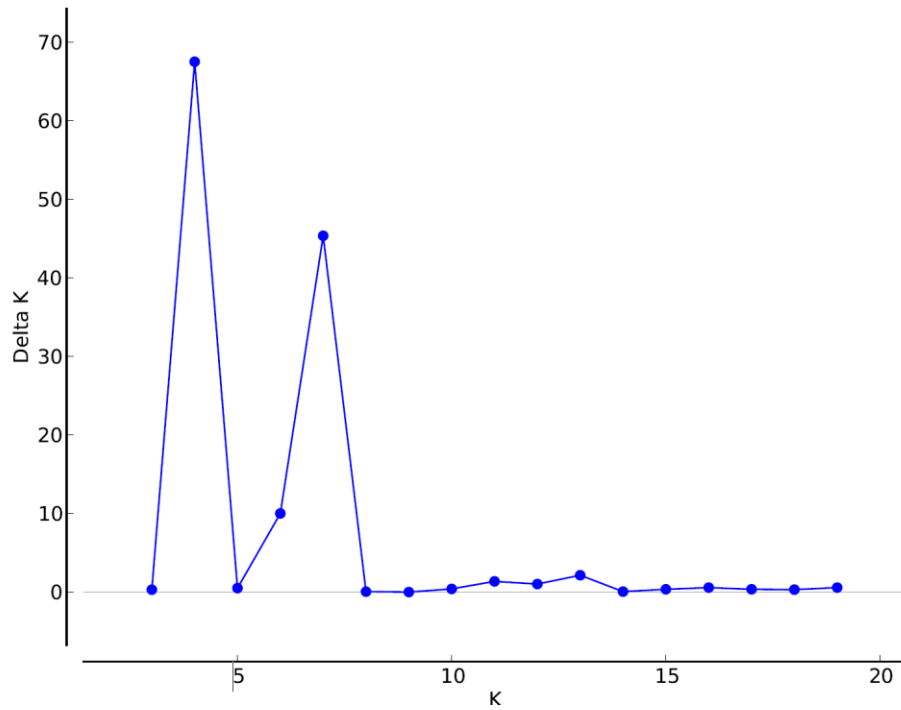


Figura 6. Delta K encontrado para la matriz concatenada de acuerdo con el método de Evanno.

La asignación de individuos a distintos grupos genéticos realizada por STRUCTURE bajo el modelo de admixia para el gen *SGN-U34200* se muestran en la Figura 7.

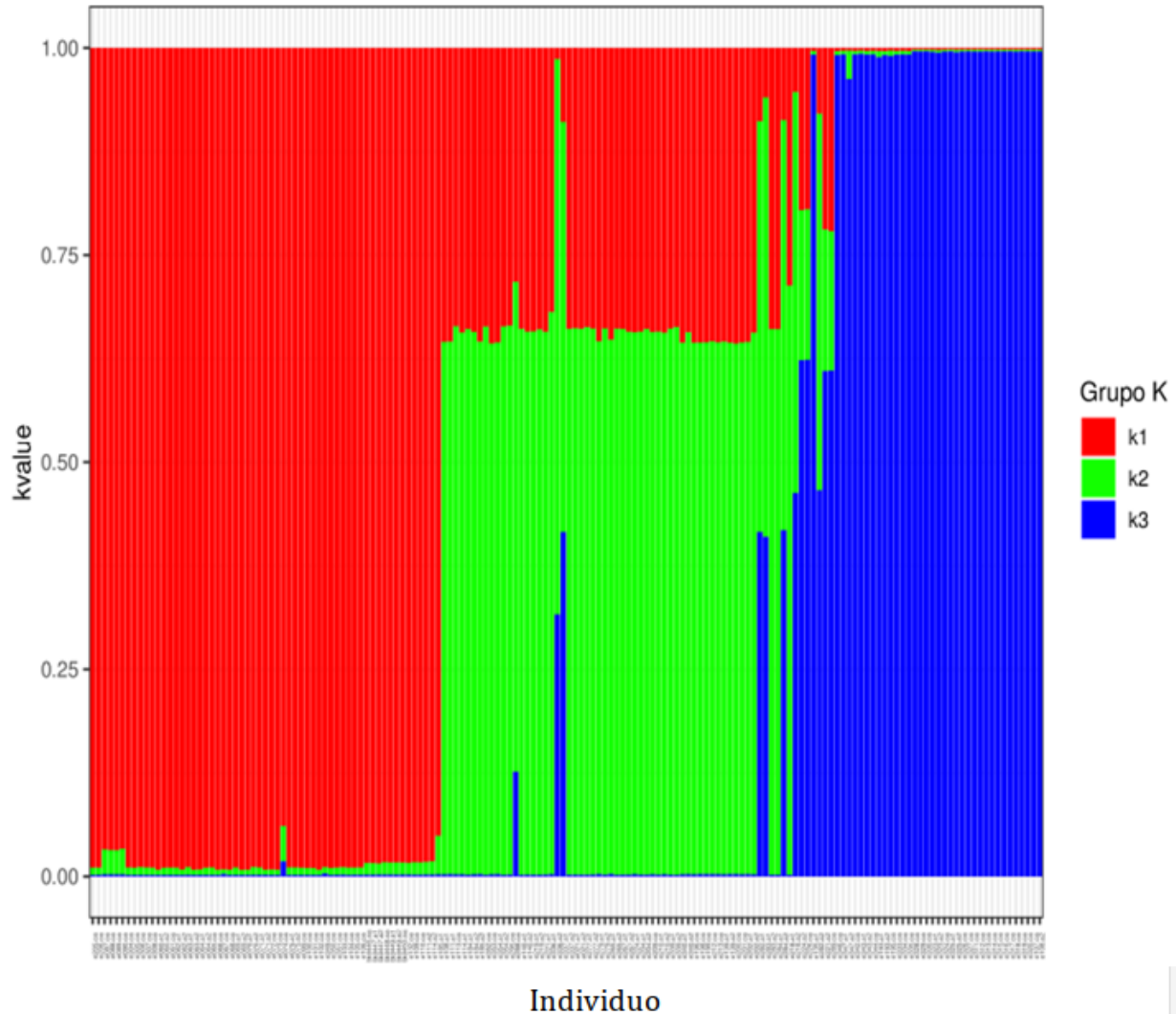


Figura 7. Grupos genéticos asignados por STRUCTURE para el gen *SGN-U34200* bajo el modelo de admixia. Cada color representa un grupo genético. El orden de los individuos es primero por grupo genético asignado por el modelo de STRUCTURE y después por distancia al Pasaje de Anegada (PA), de tal forma que los individuos más cercanos al Pasaje de Anegada están en los extremos de la gráfica y la distancia aumenta hacia el centro del gráfico.

En la Figura 8 se puede observar el promedio de la probabilidad de asignación a uno de los grupos genéticos identificados por STRUCTURE para cada una de las poblaciones del locus *SGN-U34200*.

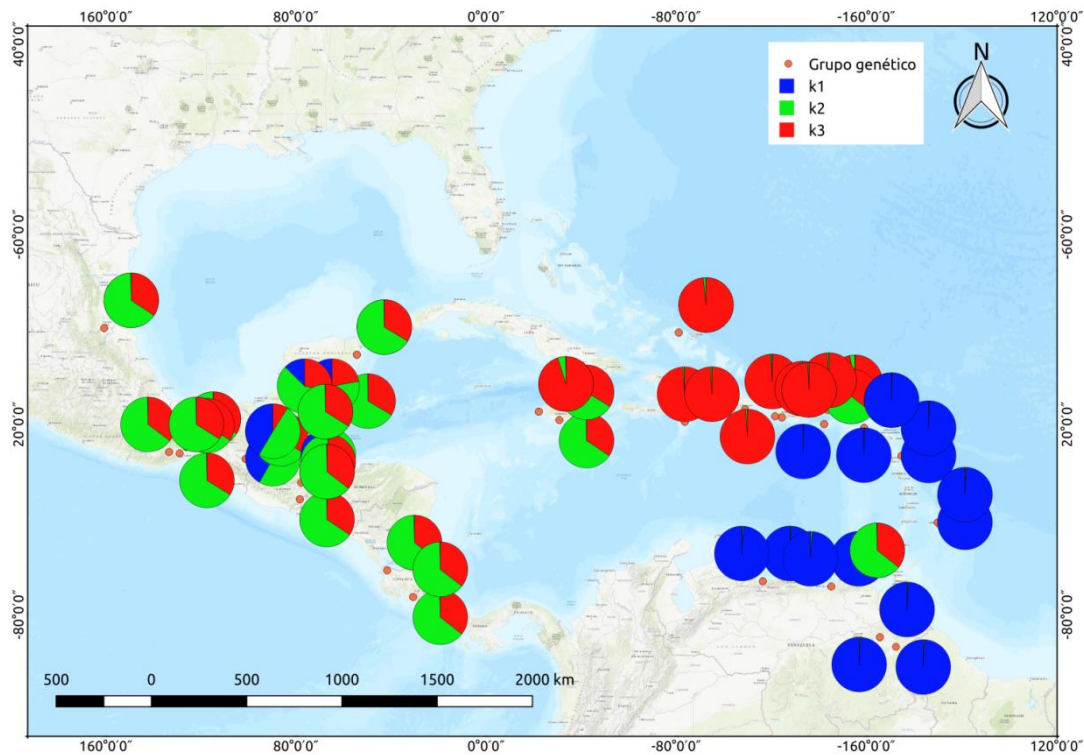


Figura 8. Promedio de la probabilidad de pertenencia a cada uno de los grupos genéticos para cada población para el marcador *SGN-U34200*.

Los resultados para el locus *SGN-U34200* señalan que existen algunas inconsistencias en la asignación de individuos con respecto a lo que se esperaría por la ubicación geográfica de estos. Dichos alelos y las propuestas de asignación bajo cada uno de los escenarios evaluados se presentan en la Tabla 7. En las Figuras 9, 10 y 11 se presentan los alelos que presentaron inconsistencias.

Tabla 7. Alelos con inconsistencias en la asignación para el gen *SGN-U34200* bajo el modelo de admixia por STRUCTURE.

Alelo	Localidad	Latitud	Longitud	Filogenético	Continente vs. Isla	Geográfico	STRUCTURE	<i>k1</i>	<i>k2</i>	<i>k3</i>
e113.oa	Allighole, Jamaica	17.8681167	-77.391983	GA	Isla	GA	2	0.0027	0.6615	0.3357
e114.a1	Allighole, Jamaica	17.8681167	-77.391983	GA	Isla	GA	2	0.0027	0.6539	0.3433
e111.a1	Bullbay, Jamaica	18.2479833	-78.359	GA	Isla	GA	2	0.0029	0.6428	0.3543
e221.a2	Cahui, Guatemala	16.9986111	-89.717	GA	Continente	Continente	1	0.6101	0.1708	0.2192
e289.oa	Carmelas, México	18.1474722	-89.414694	GA	Continente	Continente	1	0.6109	0.168	0.2211
e184.a1	Negril, Jamaica	18.2479833	-78.359	GA	Isla	GA	2	0.0021	0.6588	0.3391
e184.a2	Negril, Jamaica	18.2479833	-78.359	GA	Isla	GA	2	0.0026	0.6548	0.3426
e185.a2	Negril, Jamaica	18.2479833	-78.359	GA	Isla	GA	2	0.0029	0.6427	0.3545
e108.a1	St. Croix	17.6868333	-64.88285	LA	Isla	LA	2	0.0027	0.6427	0.3545
e205.oa	St. Croix	17.6868333	-64.88285	LA	Isla	LA	3	0.002	0.0089	0.9891
e206.oa	St. Croix	17.6868333	-64.88285	LA	Isla	LA	3	0.0021	0.0087	0.9893
e282.a2	Tzimol, México	16.1126944	-92.208028	Continente	Continente	Continente	1	0.4663	0.4545	0.0791
e224.a2	Uaxantun, Guatemala	17.4020833	-89.652917	GA	Continente	Continente	1	0.623	0.1812	0.1958
e226.oa	Uaxantun, Guatemala	17.4020833	-89.652917	GA	Continente	Continente	1	0.6236	0.1819	0.1946

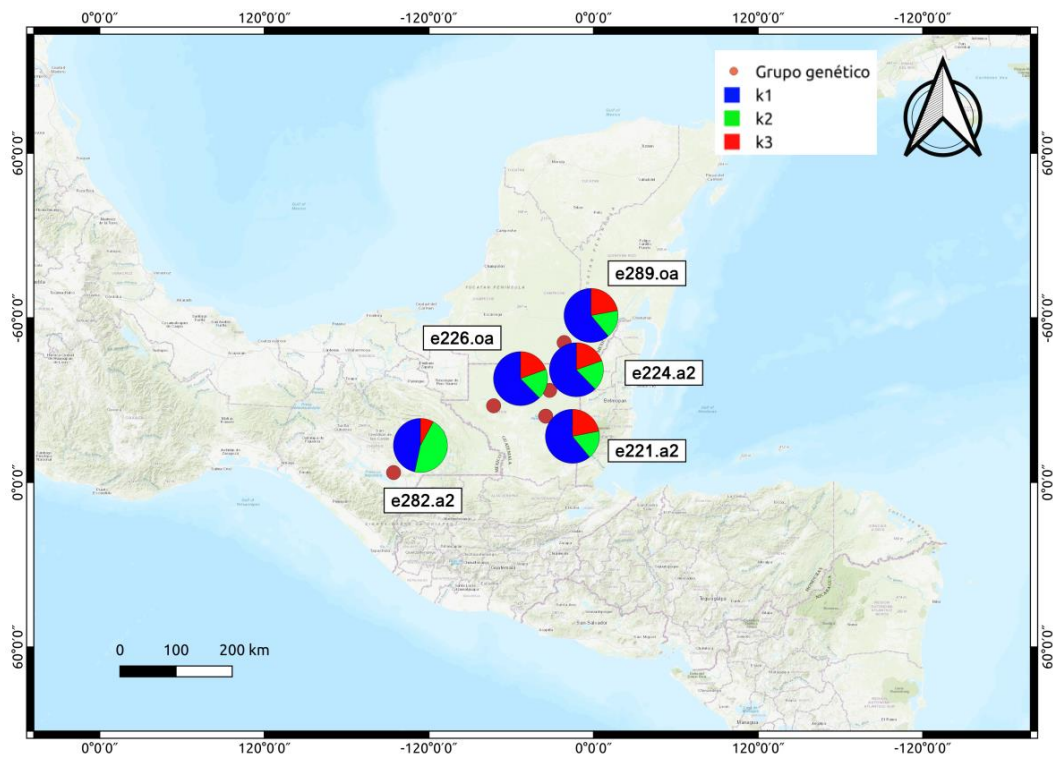


Figura 9. Alelos ubicados en México y Guatemala y su asignación al grupo genético de acuerdo con los resultados de STRUCTURE para el marcador *SGN-U34200*.

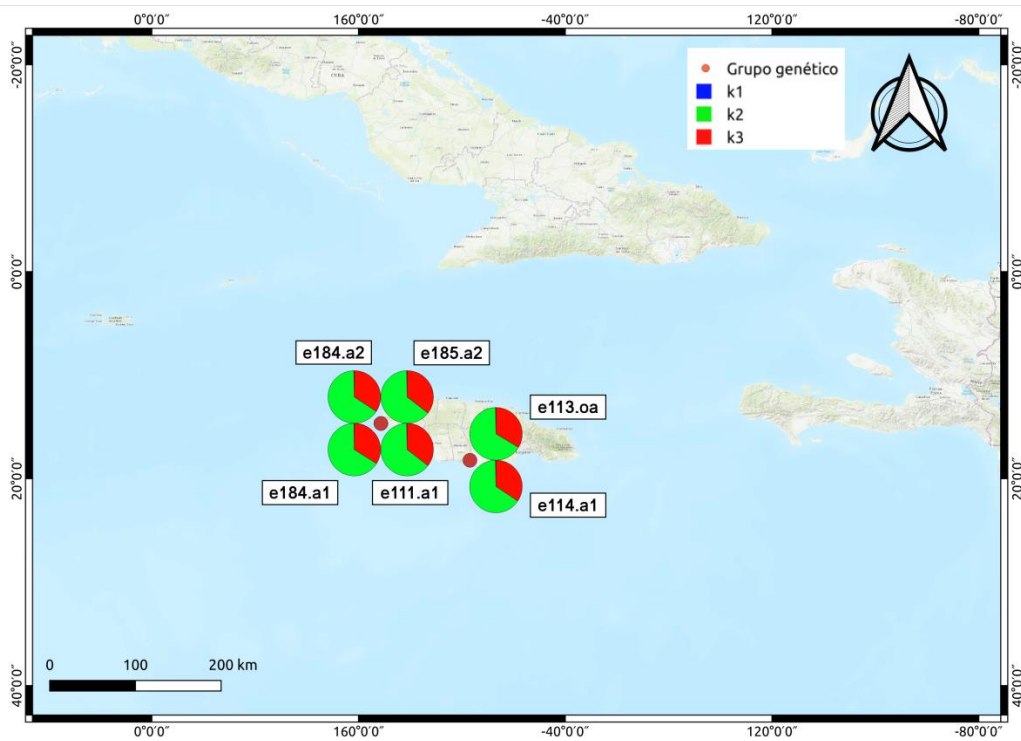


Figura 10. Alelos ubicados en Jamaica y su asignación al grupo genético de acuerdo con los resultados de STRUCTURE para el marcador *SGN-U34200*.

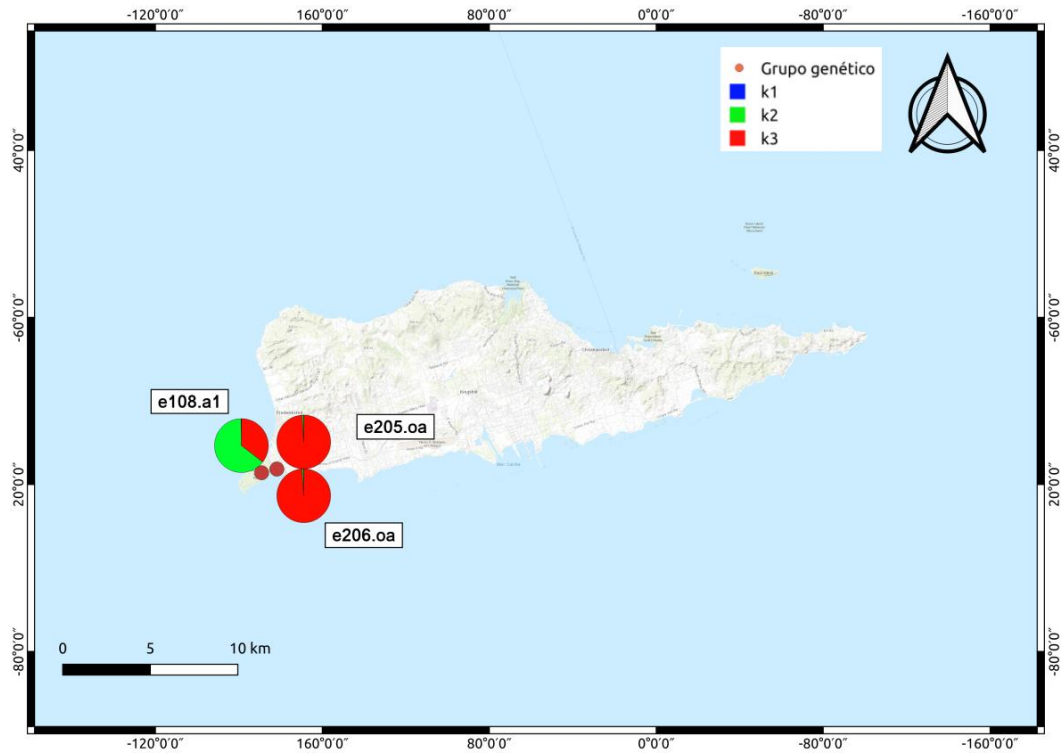


Figura 11. Alelos ubicados en St. Croix y su asignación al grupo genético de acuerdo con los resultados de STRUCTURE para el marcador *SGN-U34200*.

La asignación de individuos a distintos grupos genéticos realizada por STRUCTURE bajo el modelo de admixia para el gen *G3PDH* se muestran en la Figura 12.

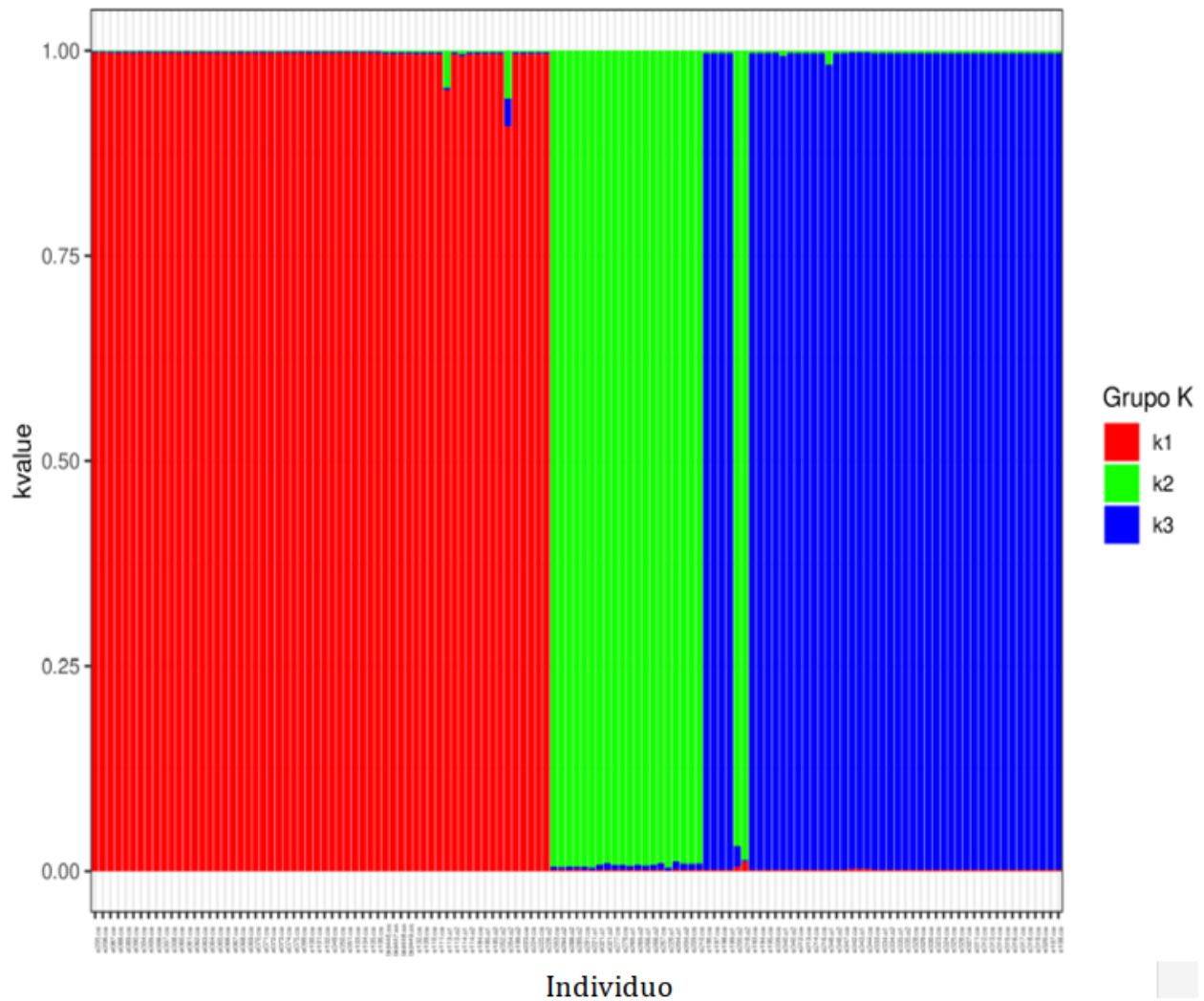


Figura 12. Grupos genéticos asignados por STRUCTURE para el locus del gen *G3PDH* bajo el modelo de admixia. Cada color representa un grupo genético. El orden de los individuos es primero por grupo genético asignado por el modelo de STRUCTURE y después por distancia al Pasaje de Anegada (PA), de tal forma que los individuos más cercanos al PA están en los extremos de la gráfica y la distancia aumenta hacia el centro del gráfico.

En la Figura 13 se puede observar el promedio de la probabilidad de asignación a uno de los grupos genéticos identificados por STRUCTURE para cada una de las poblaciones del gen *G3PDH*.

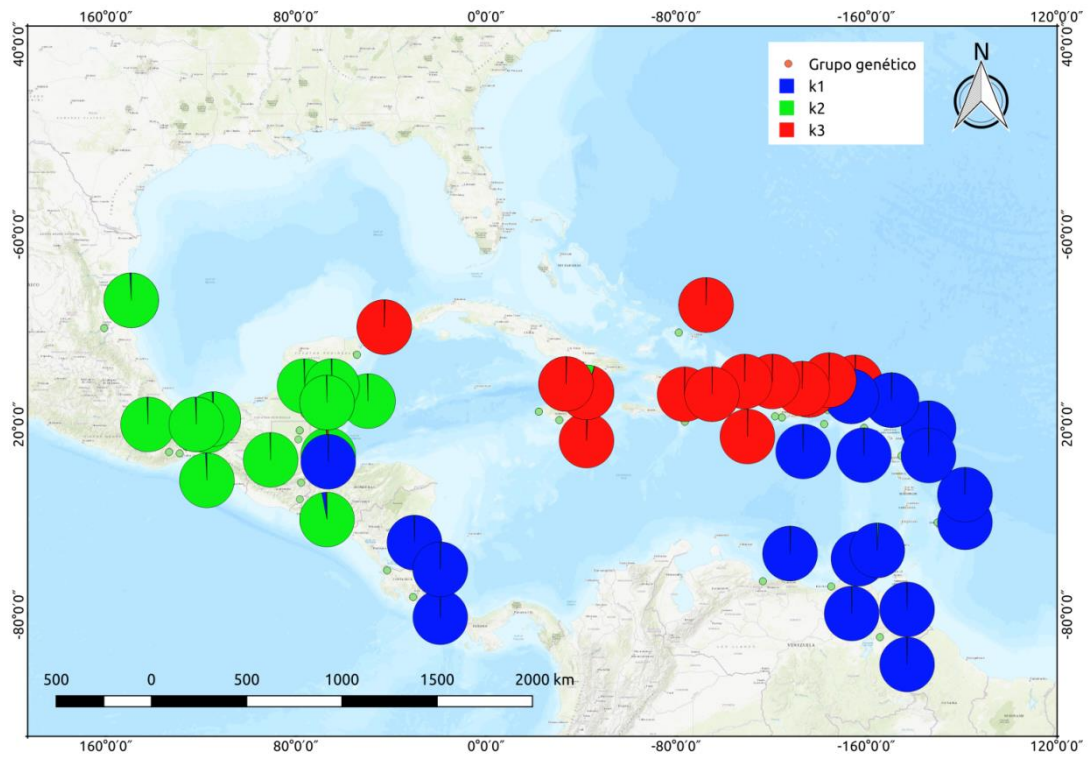


Figura 13. Promedio de pertenencia los grupos genéticos por población para el marcador *G3PDH*.

La asignación de individuos a distintos grupos genéticos realizada por STRUCTURE bajo el modelo de admixia para la matriz concatenada se muestran en la Figura 14.

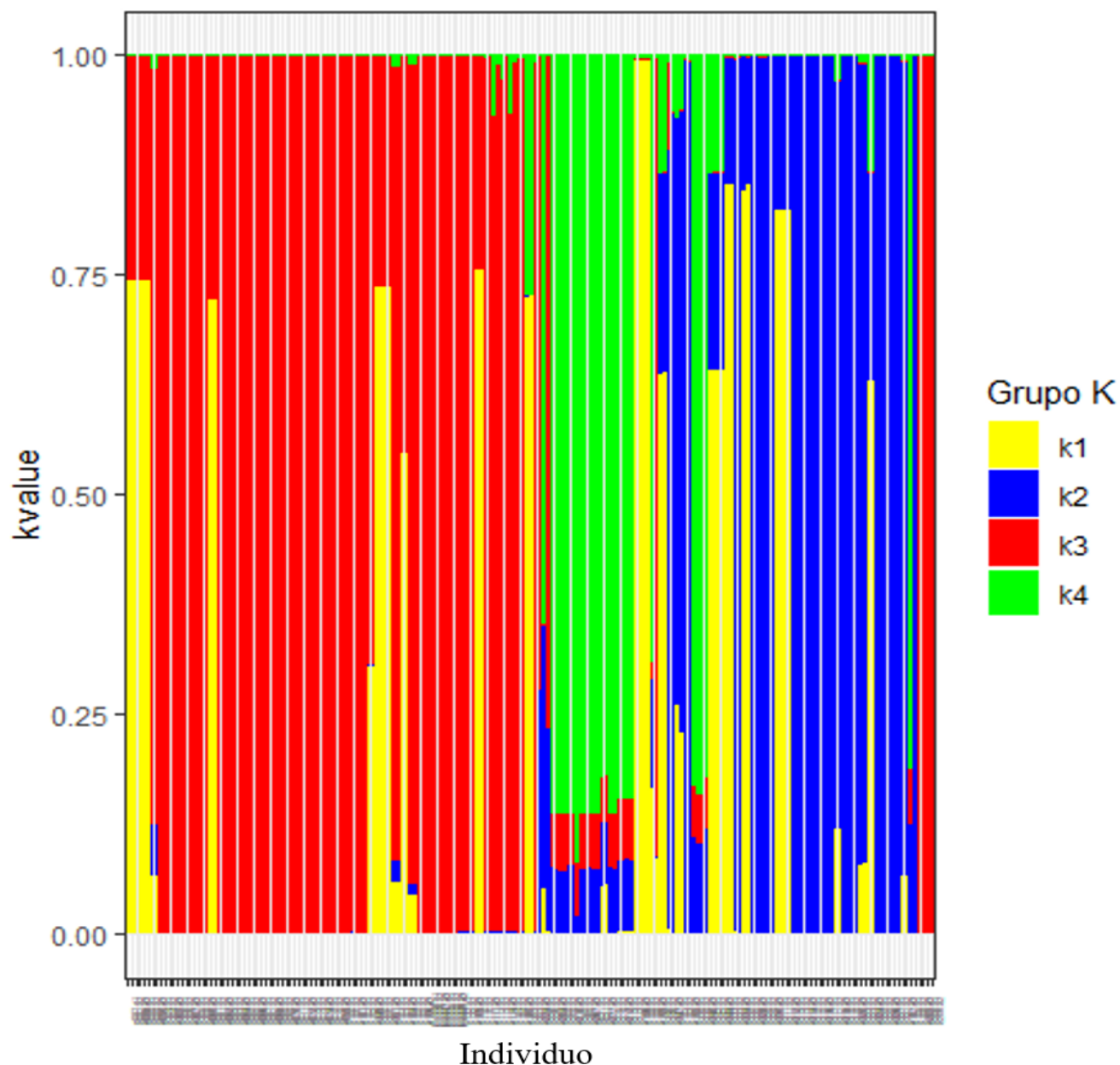


Figura 14. Grupos genéticos asignados por STRUCTURE para la matriz concatenada bajo el modelo de admixia. Cada color representa un grupo genético. El orden de los individuos es primero por grupo genético asignado por el modelo de STRUCTURE y después por distancia al Pasaje de Anegada (PA), de tal forma que los individuos más cercanos al PA están en los extremos de la gráfica y la distancia aumenta hacia el centro del gráfico.

En las Figuras 15 y 16 se puede observar el promedio de la probabilidad de asignación a cada uno de los grupos genéticos identificados por STRUCTURE para valores de $k=4$ y $k=3$, respectivamente.

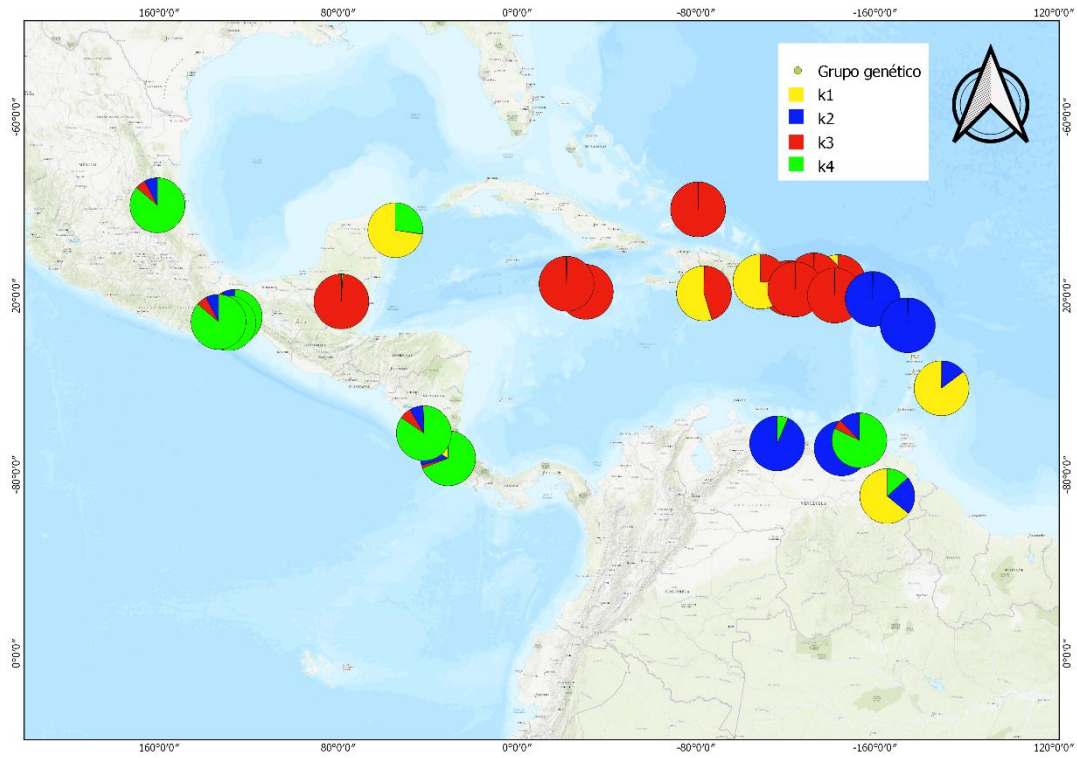


Figura 15. Promedio de pertenencia los grupos genéticos identificados por STRUCTURE, para un valor de $k = 4$ para la matriz concatenada.

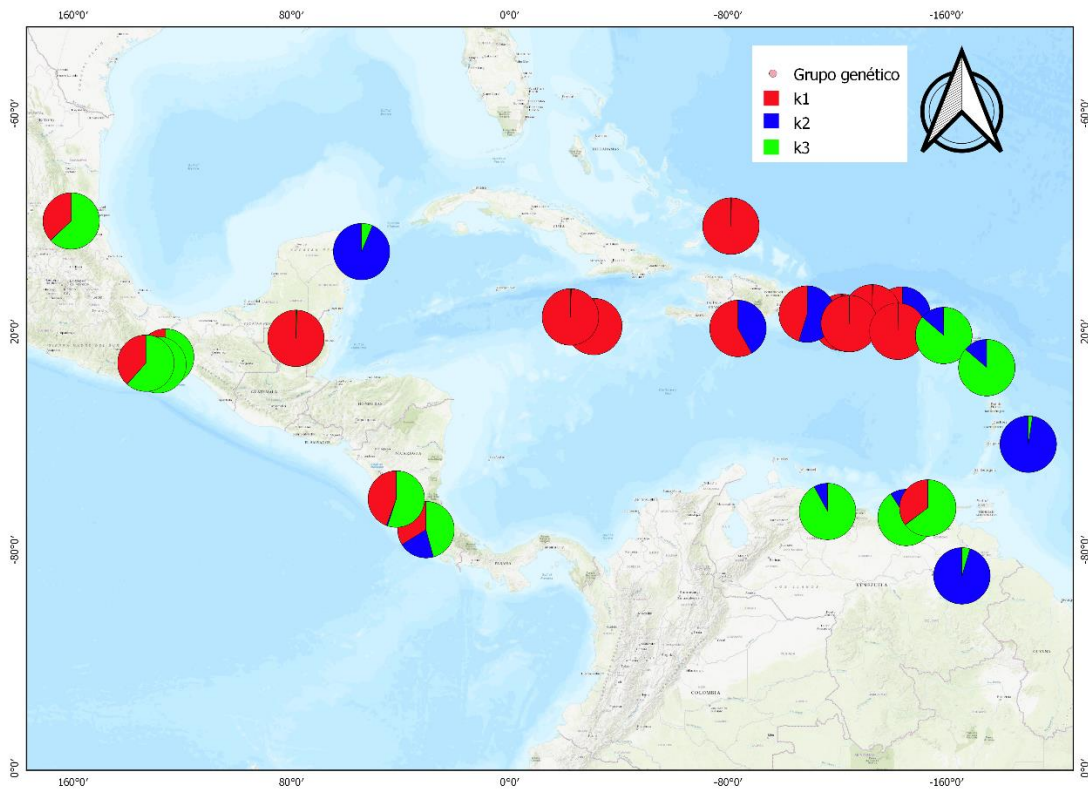


Figura 16. Promedio de pertenencia los grupos genéticos identificados por STRUCTURE, para un valor de $k = 3$ para la matriz concatenada.

En cuanto a los resultados obtenidos en las AMOVA, se encontró que todos los escenarios son estadísticamente significativos ($P > 0.001$) para los dos genes y la matriz concatenada (Tabla 8). De manera específica, para el gen *SGN-U34200* encontramos que en todos los escenarios el mayor porcentaje de variación se encuentra dentro de las poblaciones (entre el 86 y 92%) con valores de PhiPT que van de 0.079 para el escenario isla vs. continente a 0.136 para el escenario filogenético (Tabla 8).

En el caso del gen *G3PDH*, se encontró que la mayor variación se encuentra dentro de las poblaciones (entre el 60 y 79%) con valores de PhiPT que van de 0.212 para el escenario filogenético a 0.401 para el escenario isla vs continente (Tabla 8). Finalmente, para la matriz concatenada se observó que, al igual que con los genes, la mayor variación está dentro de las poblaciones (entre el 51% y 80%) con valores de PhiPT que van de 0.204 para el escenario isla vs continente a 0.494 para el escenario filogenético (Tabla 8).

El valor más alto de PhiPT se encontró para el escenario filogenético (PhiPT = 0.494) y geográfico (PhiPt = 0.434), ambos para la matriz concatenada (Tabla 8), mientras que el valor más bajo de PhiPT se encontró para los escenarios geográfico (PhiPT = 0.082) e isla vs continente (PhiPt = 0.079), ambos para la matriz *SGN-U34200*.

Los resultados de AMOVA también mostraron que, en todos los escenarios evaluados, existen diferencias significativas entre las poblaciones que varío entre 8% (para los escenarios geográfico e isla vs continente de la matriz de *SGN-U34200*) a 49% (para el escenario filogenético de la matriz concatenada).

Tabla 8. Valores de PhiPT y de varianza molecular dentro de las poblaciones.

Escenario	PhiPT ($P > 0.001$)	Porcentaje de variación dentro de las poblaciones	Porcentaje de variación entre las poblaciones
<i>SGN-U34200</i>			
Geográfico	0.082	92%	8%
Isla vs continente	0.079	92%	8%
Filogenético	0.136	86%	14%
STRUCTURE	0.135	86%	14%
<i>G3PDH</i>			
Geográfico	0.370	63%	37%
Isla vs continente	0.401	60%	40%
Filogenético	0.212	79%	21%
STRUCTURE	0.278	72%	28%
Matriz concatenada			
Geográfico	0.434	57%	43%

Escenario	PhiPT (P > 0.001)	Porcentaje de variación dentro de las poblaciones	Porcentaje de variación entre las poblaciones
Isla vs continente	0.204	80%	20%
Filogenético	0.494	51%	49%
STRUCTURE	0.264	74%	26%

Influencia del clima

Con base en los resultados de colinearidad, se eliminaron las siguientes ocho variables que presentaron alta correlación (>0.8) con alguna otra: BIO2, BIO3, BIO7, BIO8, BIO10, BIO11, BIO16 y BIO17 (ver Anexo 9). Los análisis de PCA se llevaron a cabo utilizando únicamente las 11 variables restantes. De acuerdo con el PCA para los alelos del gen *SGN-U34200* los primeros tres componentes principales (PC, por sus siglas en inglés) explican el 83.70% de la varianza climática (Tabla 9).

Tabla 9. Desviación estándar, proporción de varianza y proporción acumulada de los primeros tres componentes principales del PCA.

	PC1	PC2	PC3
Desviación estándar	2.124	1.6950	1.3508
Proporción de varianza	0.410	0.2612	0.1659
Proporción acumulada	0.410	0.6711	0.8370

El primer PC que explica el 41% de la varianza climática de los sitios, está influenciado en su mayoría por las variables temperatura mínima del mes más frío (BIO6, -0.444), precipitación del cuarto más frío (BIO9, -0.391) y estacionalidad de la precipitación (BIO15, 0.387) (Tabla 10). El segundo PC explica un 26.12% de la varianza climática y está influenciado en su mayoría por las variables de precipitación anual (BIO12, 0.548), precipitación del cuarto más cálido (BIO18, 0.450) y precipitación del cuarto más frío (BIO19, 0.432) (Tabla 10). El tercer PC explica un 16.59% de la varianza climática y está influenciado en su mayoría por estacionalidad en la temperatura (BIO4, -0.538), temperatura máxima del mes más cálido (BIO5, -0.492) y precipitación del mes más seco (BIO14, -0.352) (Tabla 10). Sin embargo, no parece que cada grupo genético tenga su propio espacio ambiental (Figura 17).

Tabla 10. Valores de *loadings* para los primeros tres componentes principales (PC) obtenidos en el análisis de componentes principales para los valores climáticos de los alelos del gen *SGN-U34200*.

Variable	PC1	PC2	PC3
Temperatura anual promedio (BIO1)	-0.378	-0.181	-0.24
Estacionalidad en la temperatura (BIO4)	0.286	0.04	-0.538
Temperatura máxima del mes más cálido (BIO5)	0.213	-0.173	-0.492
Temperatura mínima del mes más frío (BIO6)	-0.444	-0.058	0.129
Temperatura promedio del cuarto más seco (BIO9)	-0.391	-0.054	0.139
Precipitación anual (BIO12)	0.061	0.548	0.151
Precipitación del mes más húmedo (BIO13)	0.295	0.347	0.276
Precipitación del mes más seco (BIO14)	-0.312	0.288	-0.352
Estacionalidad en la precipitación (BIO15)	0.387	-0.19	0.257
Precipitación del cuarto más cálido (BIO18)	0.05	0.45	-0.292
Precipitación del cuarto más frío (BIO19)	-0.197	0.432	0.027

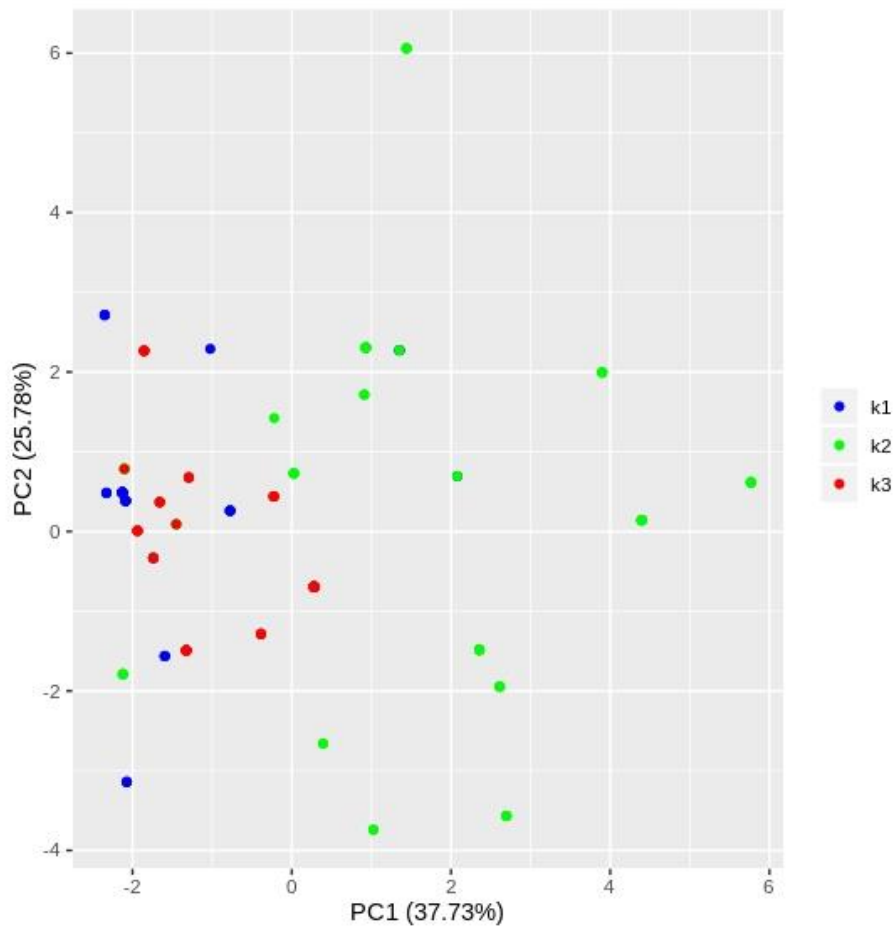


Figura 17. PCA para la asignación de los alelos del gen *SGN-U34200*. Los colores muestran la asignación genética de los alelos de acuerdo con el modelo de admixia de STRUCTURE.

De acuerdo con el PCA para los alelos del locus del gen *G3PDH*, los primeros tres PC explican el 86.33% de la varianza climática (Tabla 11).

Tabla 11. Desviación estándar, proporción de varianza y proporción acumulada de los primeros tres componentes principales del PCA.

	PC1	PC2	PC3
Desviación estándar	2.011	1.884	1.379
Proporción de varianza	0.368	0.323	0.173
Proporción acumulada	0.368	0.691	0.863

El primer PC que explica el 36.78% de la varianza climática de los sitios está influenciado en su mayoría por las variables temperatura mínima del mes más frío (BIO6, -0.470), temperatura promedio del cuarto más seco (BIO9, -0.386) y estacionalidad en la precipitación (BIO15, 0.381) (Tabla 12). El segundo PC explica un 32.27% de la varianza climática y está influenciado en su mayoría por las variables precipitación anual (BIO12, -0.374), precipitación del cuarto más frío (BIO19, -0.452) y precipitación del mes más húmedo (BIO13, -0.435) (Tabla 12). El tercer PC explica un 17.28% de la varianza climática y está influenciado en su mayoría por la precipitación del mes más seco (BIO14, 0.503), estacionalidad de la temperatura (BIO4, 0.451) y estacionalidad de la precipitación (BIO15, -0.400) (Tabla 12). Sin embargo, no parece que cada grupo genético tengo su propio espacio ambiental (Figura 18).

Tabla 12. Valores de *loadings* para los primeros tres componentes principales (PC) para los valores climáticos de los alelos del locus del gen *G3PDH*.

Variable	PC1	PC2	PC3
Temperatura anual promedio (BIO1)	-0.299	0.330	0.161
Estacionalidad en la temperatura (BIO4)	0.351	-0.004	0.451
Temperatura máxima del mes más cálido (BIO5)	0.359	0.221	0.216
Temperatura mínima del mes más frío (BIO6)	-0.470	0.103	-0.077
Temperatura promedio del cuarto más seco (BIO9)	-0.386	0.130	-0.281
Precipitación anual (BIO12)	-0.070	-0.505	-0.057
Precipitación del mes más húmedo (BIO13)	0.141	-0.435	-0.260
Precipitación del mes más seco (BIO14)	-0.308	-0.135	0.503
Estacionalidad en la precipitación (BIO15)	0.381	0.073	-0.400
Precipitación del cuarto más cálido (BIO18)	-0.020	-0.377	0.381
Precipitación del cuarto más frío (BIO19)	-0.152	-0.452	-0.097

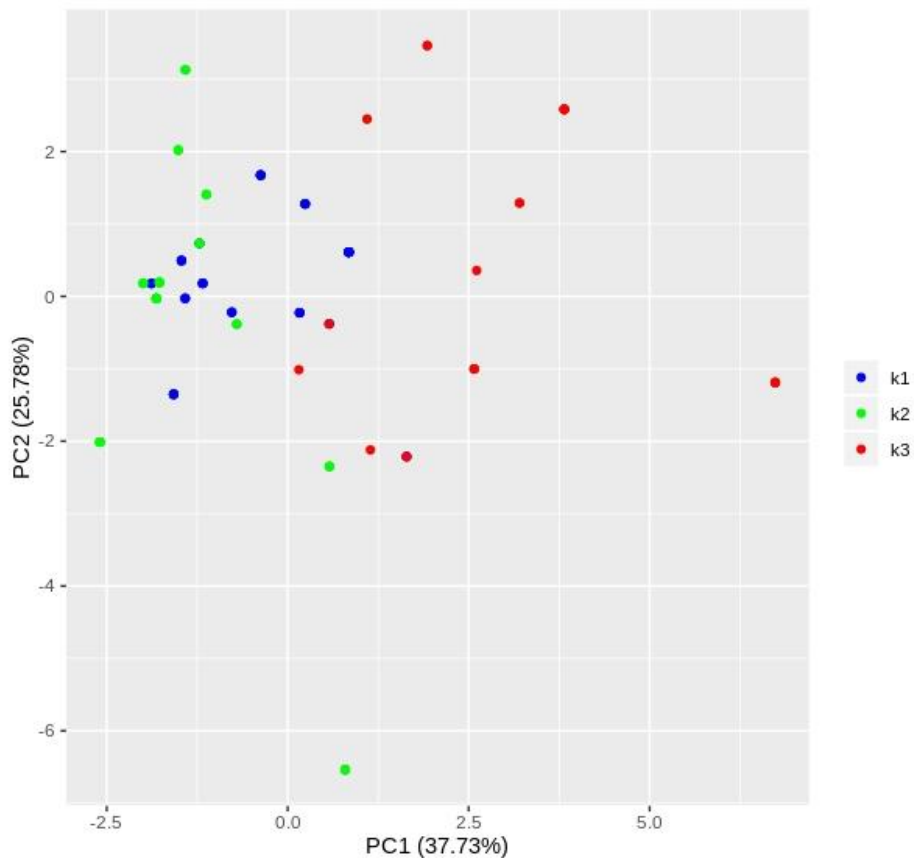


Figura 18. PCA para la asignación de los alelos del locus del gen *G3PDH*. Los colores muestran la asignación genética de los alelos de acuerdo con el modelo de admixia de STRUCTURE.

Los resultados de estos análisis, señalan que las variables con mayor contribución al PC1 para ambos genes son la temperatura mínima del mes más frío, la precipitación del cuarto más frío y la estacionalidad de la precipitación. En cuanto al PC2, tanto para el gen *SGN-U34200* y el locus del gen *G3PDH*, la mayor influencia climática está dada por variables relacionadas con la precipitación. Finalmente, para el gen *SGN-U34200* el PC3 está influenciado por las variables de estacionalidad en la temperatura, temperatura máxima del mes más cálido y precipitación del mes más seco. En contraste, el locus del gen *G3PDH* tiene una mayor influencia por variables relacionadas con la precipitación del mes más seco, la estacionalidad de la temperatura y la estacionalidad de la precipitación.

DISCUSIÓN

Las especies-anillo (Cacho & Baum, 2012; Irwin *et al.*, 2001; Kuchta & Wake, 2016) se pueden considerar como un buen modelo para explorar los diversos factores que moldean el proceso de especiación, ya que proveen información de los estados intermedios de diferenciación de las poblaciones. Dentro de estos factores, se encuentra la geografía, la historia de la especie, la heterogeneidad ambiental y el cambio de hábitat (Harmon & Harrison, 2015; Hewitt, 2004; Qiao *et al.*, 2018).

Euphorbia tithymaloides, la única especie-anillo descrita en plantas, cuenta con una distribución circumcaribeña a lo largo de la cual se puede evaluar la diferenciación genética y geográfica entre las distintas poblaciones a pesar de que las diferencias sean sutiles y exista intergradación entre ellas (Cacho & Baum, 2012; Dressler, 1957). Los resultados obtenidos tanto en los análisis morfológicos como genéticos son consistentes con una expansión del área de distribución de *E. tithymaloides* desde el continente hacia las islas del Caribe mediante dos frentes geográficos, un resultado que es consistente con lo reportado anteriormente (Cacho & Baum 2012).

Patrones morfológicos y genéticos de E. tithymaloides con respecto a su geografía

Los análisis de diferenciación morfológica entre las poblaciones de *E. tithymaloides* documentan que las poblaciones terminales de cada frente geográfico presentan un patrón geográfico que es consistente con la evolución de convergencia floral. Las poblaciones de las Antillas se caracterizan por tener ciatios más cortos y compactos comparados con los ciatios con involucros alargados de las poblaciones continentales. En cuanto a los caracteres vegetativos, a pesar de que las hojas son distintas entre las poblaciones de las Antillas y las de poblaciones continentales, los análisis mostraron la ausencia de patrones geográficos en la variación foliar a lo largo de los dos frentes de expansión. Mayor detalle sobre esta discusión se presenta en el Anexo 1.

Influencia del clima en la distribución espacial de la variación genética de E. tithymaloides.

Estructura genética

La asignación de alelos por STRUCTURE para los dos genes analizados identifica tres grupos genéticos: uno que a grandes rasgos corresponde al frente de las Antillas Mayores (GA), otro al frente de las Antillas Menores (LA) y uno al Continente (Figuras 4 y 5). Específicamente, para el gen *SGN-*

U34200, el grupo k1 corresponde a grandes rasgos a las poblaciones de las Antillas Menores (frente LA), el grupo k2 a poblaciones que se ubican en continente y el grupo k3 a las que se ubican en las Antillas Mayores (frente GA) (Figura 7). Sin embargo, como se había reportado anteriormente (Cacho y Baum 2012), en la asignación genética para el gen *SGN-U34200* existen alelos que no presentan una fuerte asignación a alguno de los grupos genéticos, sino que presentan probabilidades altas de asignación para al menos dos de los grupos genéticos identificados por STRUCTURE (Tabla 7, Figura 8). Estos alelos pertenecen a individuos que se encuentran en algunas poblaciones del continente (localidades Cahui y Uaxantun, Guatemala y Carmelas y Tzimol, México), Jamaica y de la isla de St. Croix (Figuras 9-11). En cuanto al gen *G3PDH*, los alelos presentan una menor admixia, es decir, los individuos son asignados con mayor probabilidad a algunos de los grupos genéticos (Figuras 12 y 13).

La discrepancia entre genes se ha observado en estudios genéticos de otras especies-anillo (Alcaide *et al.*, 2014) y se puede deber a que los genes utilizados para llevar a cabo el estudio pueden estar sujetos a distintas presiones de selección ocasionando que reflejen historias distintas (Coyne, Orr, & Orr, 2004) o bien, a que han existido eventos de introgresión (Alcaide *et al.*, 2014) que han permitido el intercambio de alelos entre los distintos grupos genéticos. Esto último, sería consistente con lo descrito por Cacho y Baum (2012), donde los resultados sugieren la ocurrencia de eventos de intercambio genético entre los frentes genéticos GA y LA en la isla de Vieques.

En cuanto al análisis de la matriz concatenada, el análisis de STRUCTURE identifica cuatro grupos genéticos (Figura 6), de los cuales se pueden distinguir tres grupos a grandes rasgos: uno que corresponde al frente de las Antillas Mayores, otro al frente de las Antillas Menores y el tercero al frente del Continente. Sin embargo, se observa que uno de los grupos genéticos identificados se distribuye a lo largo de lo que podría corresponder al frente de las Antillas Mayores y al frente de las Antillas Menores. Para una $K = 3$, es decir, tomando en cuenta solo 3 grupos asignados por STRUCTURE, se observa que uno de los grupos parece corresponder al de las Antillas Mayores, otro al de continente y el tercero se encuentra mezclado entre el grupo de continente y el de Antillas Mayores.

En cuanto a los estadísticos genéticos, los resultados para ambos genes muestran que existen diferencias entre la diversidad haplotídica y nucleotídica en todos los escenarios evaluados. La diversidad haplotídica (H_d) en general fue alta mientras que los valores de diversidad nucleotídica fueron bajos para todos los casos (0.01-0.02) indicando una baja diferenciación en la mayoría de los haplotipos (Rivera 2016). Se ha reportado que estos valores pueden ser consistentes con una expansión reciente del área de distribución de una especie (Brunke *et al.*, 2019; Grant & Bowen, 1998; Osborne,

et al. 2019). Esto es consistente con lo reportado por Bruyns, Klak, & Hanáček (2011) quienes indican una diversificación del subgénero *Euphorbia* entre hace ocho y 10 Mya.

De manera general para el gen *SGN-U34200*, se reporta que bajo todos los escenarios el frente con mayor diversidad haplotídica es el continente. Este resultado es consistente con lo reportado para el gen *G3PDH* para todos los escenarios excepto el de STRUCTURE donde el frente con mayor diversidad haplotídica fue el frente GA. Por el contrario, al analizar el gen *SGN-U34200*, para todos los escenarios, el frente con menor diversidad haplotídica fue el frente LA. Los resultados del gen *G3PDH* son consistentes con esto para los escenarios geográfico y filogenético. En cuanto al escenario STRUCTURE, el menor valor se reportó para el frente de continente.

En lo reportado para el gen *SGN-U34200*, los valores mayores y menores de diversidad nucleotídica variaron entre los distintos escenarios, donde los mayores valores se registraron en el frente del continente bajo el escenario geográfico y STRUCTURE. Al analizar el gen *G3PDH*, se encontró que los valores mayores también se obtienen para el frente del continente en el escenario geográfico. En cuanto al escenario filogenético para el gen *SGN-U34200*, el valor mayor se obtuvo para el frente LA, mientras que para los escenarios filogenéticos y STRUCTURE del gen *G3PDH* los valores mayores fueron para el frente GA. En cuanto a los valores menores, estos fueron más consistentes y se encontraron en el frente GA para los escenarios geográfico, filogenético y STRUCTURE para el gen *SGN-U34200*. Sin embargo, para el gen *G3PDH*, los valores más bajos fueron para el frente LA en el escenario geográfico y para el frente del continente para los escenarios filogenético y STRUCTURE.

Con respecto a las diferencias entre poblaciones, en el gen *SGN-U34200* todos los estadísticos (K_{xy} , D_{xy} , F_{ST} y G_{ST}) resultaron ser mayores entre los frentes GA y LA. Estos resultados son consistentes con lo esperado en una especie anillo, donde la mayor distancia genética es entre cada uno de los frentes geográficos. A pesar de que este gen presenta un mayor grado de admixión de acuerdo con los resultados de STRUCTURE, las diferencias genéticas son muy claras sin importar de qué manera se agrupen los alelos (por su asignación filogenética, geográfica o genética).

En contraste con el gen *SGN-U34200*, las diferencias entre poblaciones no son consistentes para todos los estadísticos ni entre los escenarios evaluados. En el escenario geográfico, la mayor diferencia nucleotídica (K_{xy}) y de sustituciones nucleotídicas (D_{xy}) se encontró entre el frente GA y continente, mientras que la mayor distancia pareada (F_{ST}) y el mayor coeficiente de diferenciación (G_{ST}) fueron entre el frente LA y GA. Estos últimos siendo consistentes con los resultados del gen *SGN-U34200* y

con lo esperado para una especie anillo. En cuanto al escenario filogenético, se encontró que los valores más grandes de K_{xy} , D_{xy} y F_{ST} están entre el continente y el frente GA. Sin embargo, los de G_{ST} fueron entre los frentes LA y GA. Finalmente, para el escenario STRUCTURE, las diferencias más grandes fueron entre los frentes GA y LA para los estadísticos K_{xy} , D_{xy} y F_{ST} . En contraste, el valor más grande de G_{ST} fue entre los frentes LA y continente.

De manera general para la matriz concatenada, se reporta que bajo todos los escenarios, excepto el filogenético, el frente con mayor diversidad haplotídica es el continente (en el escenario filogenético fue el frente GA). Por el contrario, para todos los escenarios, el frente con menor diversidad haplotídica fue el frente LA. Estos resultados son consistentes con lo reportado en los análisis de los genes de manera individual. En lo reportado para la matriz concatenada, los valores mayores y menores de diversidad nucleotídica variaron entre los distintos escenarios, donde los mayores valores se registraron en el frente del continente bajo el escenario geográfico y filogenético; en el frente de isla bajo el escenario isla vs. continente, y bajo el escenario STRUCTURE, k1 fue el que presentó el menor valor (el grupo genético k1 incluye individuos tanto del frente de Antillas Mayores como del frente de Antillas Menores). En cuanto a los valores menores, estos se encontraron en el frente GA para el escenario geográfico y en el frente LA para los escenarios filogenético y de STRUCTURE.

Con respecto a las diferencias entre poblaciones, todos los estadísticos (K_{xy} , D_{xy} , F_{ST} y G_{ST}) resultaron ser mayores entre los frentes GA y LA bajo todos los escenarios evaluados. Estos resultados son consistentes con el análisis individual de los genes y con lo esperado en una especie anillo, donde la mayor distancia genética es entre cada uno de los frentes geográficos. El análisis de la matriz concatenada, en contraste con lo reportado para cada gen, identifica 4 grupos genéticos mostrando que al incluir mayor información genética en una sola matriz podría aportar una mayor resolución de los grupos genéticos existentes.

Los resultados de los AMOVA señalan que existen diferencias significativas entre las poblaciones analizadas bajo todos los escenarios propuestos, donde los que mayor diferencia presentan son el escenario filogenético y STRUCTURE para la matriz de *SGN.U34200* (PhiPT = 14% para ambos escenarios), el escenario isla vs continente para la matriz de *G3PDH* (PhiPT = 40%) y el escenario filogenético para la matriz concatenada (PhiPT = 49%). Los resultados encontrados muestran que existen tendencias de diferenciación entre las poblaciones bajo los diferentes escenarios evaluados. Dichas diferencias son consistentes con el concepto de especie anillo, donde se espera que exista aislamiento genético entre las poblaciones terminales de la distribución anillo y que exista algo de flujo génico entre las poblaciones intermedias (Irwin *et al.* 2001).

Uno de los mayores retos en la ecología es determinar qué factores influyen en los límites de la distribución geográfica de una especie (Broennimann et al., 2012). Caracterizar el espacio climático de las especies permite identificar los factores ambientales que determinan su distribución (Rissler & Apodaca, 2007). Los PCA muestran que los grupos genéticos no parecen agruparse en un espacio climático propio (Figuras 17 y 18). Sin embargo, los resultados de PCA y los modelos de nicho ecológico indican que las variables con mayor influencia en las preferencias climáticas de *E. tithymaloides* para ambos genes son aquellas relacionadas con la precipitación (p.ej. precipitación del cuarto más frío y estacionalidad de la precipitación) así como la temperatura mínima del mes más frío (Tablas 10 y 12).

Se estima que el clado *Pedilanthus* divergió del resto de los grupos de *Euphorbia* subgénero *Euphorbia* hace aproximadamente 25 Mya (Oligoceno-Mioceno temprano) y empezó a diversificar entre los ocho y 10 mya (Bruyns et al., 2011). Durante el Mioceno las condiciones climáticas en el Caribe eran más cálidas (You et al., 2009) y secas que el presente (François et al., 2011). Las condiciones más cálidas durante el Mioceno pudieron modificar los límites de distribución de *E. tithymaloides* y permitir que su área de distribución se expandiera. La caracterización de espacio climático sugiere que los grupos genéticos carecen de un espacio climático propio que pueda visualizarse en el PCA. Esto sugiere que las condiciones que puedan influir en la divergencia de las distintas poblaciones pueden ser más factores bióticos (p. ej. polinizadores), como se ha propuesto por Cacho et al. 2018.

Con los resultados descritos a lo largo de este estudio se puede apreciar que las poblaciones *E. tithymaloides* parecen presentar tres grupos genéticos distintos los cuales corresponden con la propuesta de especie anillo, la cual considera tres grupos de poblaciones: el frente GA, el frente LA y el Continente. Asimismo, el análisis de la matriz concatenada muestra que a pesar de que existen estos tres grupos genéticos, existe un grupo de individuos que corresponde tanto al frente GA como al frente LA. A pesar de las diferencias genéticas encontradas no existe evidencia de divergencia genética atribuible a las cuestiones climáticas, ya que no con los datos analizados no fue posible detectar un espacio climático propio para cada uno de los grupos y escenarios evaluados. Asimismo, en relación con los resultados de los PCA, se pudo observar que los grupos genéticos parecen ocupar espacios climáticos similares donde las variables con mayor influencia están relacionadas con la temperatura y la precipitación, siendo consistente con la idea de que la especie amplió su área de distribución para rodear una barrera geográfica, buscando hábitats con ambientes favorables o mejores condiciones ambientales para la especie.

CONCLUSIONES

Las especies-anillo (Cacho & Baum, 2012; Irwin *et al.*, 2001; Kuchta & Wake, 2016) se pueden considerar como un buen modelo para explorar los diversos factores que moldean el proceso de especiación, ya que proveen información de los estados intermedios de diferenciación de las poblaciones. Dentro de estos factores, se encuentra la geografía, la historia de la especie, la heterogeneidad ambiental y el cambio de hábitat (Harmon & Harrison, 2015; Hewitt, 2004; Qiao *et al.*, 2018).

Este estudio evalúa si la evidencia morfológica, genética, ecológica y biogeográfica disponible para *E. tithymaloides* corresponde al modelo de una especie-anillo. Se documenta el patrón de convergencia de las características morfológicas del ciatio de *E. tithymaloides* y se proponen hipótesis como posibles explicaciones de esta convergencia. Se explora la estructura genética de las poblaciones de *E. tithymaloides*, donde se identificaron tres grupos genéticos que corresponden a poblaciones de las Antillas Menores (LA), a poblaciones de las Antillas Mayores (GA) y a poblaciones del continente. Sin embargo, existen individuos que presentan una asignación genética inconsistente.

Euphorbia tithymaloides, la única especie-anillo descrita en plantas, cuenta con una distribución circumcaribeña a lo largo de la cual se puede evaluar la diferenciación genética y geográfica entre las distintas poblaciones a pesar de que las diferencias sean sutiles y exista intergradación entre ellas (Cacho & Baum, 2012; Dressler, 1957). Los resultados obtenidos en este estudio, tanto en los análisis morfológicos como genéticos, son consistentes con una expansión del área de distribución de *E. tithymaloides* desde el continente hacia las islas del Caribe mediante dos frentes geográficos.

Los resultados de los análisis de la influencia del clima sobre las características morfológicas y la estructura genética indican que el clima carece de un papel importante y que posiblemente tanto las diferencias morfológicas como genéticas se deban a factores bióticos (p. ej. polinizadores). Un enfoque de genómica poblacional permitirá evaluar a la única especie-anillo en plantas a mayor detalle y con mayor profundidad en el aspecto genético, ya que estas metodologías permiten obtener un mayor número de marcadores genéticos lo que mejora los análisis de estimación de parámetros demográficos (p. ej. flujo génico, tamaño población, admixia, etc.) (DiBattista *et al.* 2017).

Los análisis de diferenciación morfológica entre las poblaciones de *E. tithymaloides* documentan que las poblaciones terminales de cada frente geográfico presentan convergencia floral. Se caracterizan por tener ciatios más cortos y compactos comparados con los ciatios largos de las poblaciones continentales. En cuanto a los caracteres vegetativos, a pesar de que las hojas son distintas

entre las poblaciones de las Antillas y las de continente, los análisis mostraron la ausencia de cambios en paralelo a lo largo de los dos frentes de expansión.

Los análisis de estructura genética sugieren que existen tres grupos genéticos (GA, LA y Continente) que corresponden con la propuesta de Cacho y Baum (2012) donde establecen que existen dos frentes geográficos (Antillas Mayores y Antillas Menores) e indican que la población ancestral de *E. tithymaloides* se encontraba en México/Guatemala. Sin embargo, los análisis de este estudio sugieren que algunos individuos que son asignados de manera inconsistente a alguno de estos grupos (Figuras 9-11; Cacho & Baum 2012).

Los análisis de espacio climático indican que el clima carece de un papel importante para explicar la morfología ni la estructura genética de las poblaciones de *Euphorbia tithymaloides* (Figuras 17 y 18), sugiriendo que los factores bióticos son los que pueden tener mayor influencia en promover los patrones de convergencia morfológica y la diferenciación genética de las poblaciones de *E. tithymaloides*. Sin embargo, las variables climáticas relacionadas con la temperatura son las que tienen más influencia en el espacio climático de *E. tithymaloides*.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abrahamczyk, S., D. Souto-Vilaros, J. A. McGuire, and S. S. Renner. 2015. Diversity and clade ages of West Indian hummingbirds and the largest plant clades dependent on them: A 5–9 Myr young mutualistic system. *Biological Journal of the Linnean Society* 114: 848–859.
- Alcaide, M., E. S. C. Scordato, T. D. Price, and D. E. Irwin. 2014. Genomic divergence in a ring species complex. *Nature* 511: 83–85.
- Alexandrino, J., S. J. E. Baird, L. Lawson, J. R. Macey, C. Moritz, and D. B. Wake. 2005. Strong selection against hybrids at a hybrid zone in the *Ensatina* ring species complex and its evolutionary implications. *Evolution* 59: 1334–1347.
- Ashlock, D., E. L. Clare, T. E. von Konigslow, and W. Ashlock. 2010. Evolution and instability in ring species complexes: an in silico approach to the study of speciation. *Journal of Theoretical Biology* 264: 1202–1213.
- Baker, M. A. 2016. Morphological and cytological analyses in *Cylindropuntia* (Cactaceae): the taxonomic circumscription of *C. echinocarpa*, *C. multigeniculata*, and *C. whipplei*. *J. Bot. Res. Inst. Texas* 10: 325–343.
- Barrett, S. C. H. 1996. The reproductive biology and genetics of island plants. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 351:725–733.
- Bensch, S., M. Grahn, N. Muller, L. Gay, and S. Akesson. 2009. Genetic, morphological, and feather isotope variation of migratory willow warblers show gradual divergence in a ring. *Molecular Ecology* 18: 3087–3096.
- Bond, J. E., & Stockman, A. K. 2008. An integrative method for delimiting cohesion species: finding the population-species interface in a group of Californian trapdoor spiders with extreme genetic divergence and geographic structuring. *Systematic Biology*, 57(4), 628–646.
<https://doi.org/10.1080/10635150802302443>
- Bowen, B. W., A. L. Bass, L. A. Rocha, W. S. Grant, and D. R. Robertson. 2001. Phylogeography of the trumpETFishes (*Aulostomus*): Ring species complex on a global scale. *Evolution* 55: 1029–1039.
- Brito Martins, Ayana de, and Marcus Aloizio Martinez de Aguiar. 2016. “Barriers to Gene Flow and Ring Species Formation.” *Evolution*, 1–7. <https://doi.org/10.1111/evo.13121>.
- Broennimann, O., Fitzpatrick, M. C., Pearman, P. B., Petitpierre, B., Pellissier, L., Yoccoz, N. G., ... Guisan, A. (2012). Measuring ecological niche overlap from occurrence and spatial environmental data. *Global Ecology and Biogeography*, 21(4), 481–497. <https://doi.org/10.1111/j.1466-8238.2011.00698.x>
- Brown, J. H., and M. A. Brown. 1985. Community organization in hummingbirds: relationships between morphology and ecology. *The Auk* 102: 251–269.
- Brunke, J., Radespiel, U., Russo, I. R., Bruford, M. W., & Goossens, B. 2019. Messing about on the river: the role of geographic barriers in shaping the genetic structure of Bornean small mammals

- in a fragmented landscape. *Conservation Genetics*. <https://doi.org/10.1007/s10592-019-01159-3>
- Bruyns, P. V., Klak, C., & Hanáček, P. (2011). Age and diversity in old world succulent species of *Euphorbia* (Euphorbiaceae). *Taxon*, 60(6), 1717–1733.
- Cacho, N., and D. Baum. 2012. The Caribbean Slipper Spurge *Euphorbia Tithymaloides*: The First Example of a Ring Species in Plants. *Proceedings. Biological Sciences / The Royal Society* 279 (1742): 3377–83. <https://doi.org/10.1098/rspb.2012.0498>.
- Cacho, N. I., Berry, P. E., Olson, M. E., Steinmann, V. W., & Baum, D. A. 2010. Are spurred cyathia a key innovation? Molecular systematics and trait evolution in the slipper spurges (Pedilanthus clade: *Euphorbia*, Euphorbiaceae). *American Journal of Botany*, 97(3), 493–510. <https://doi.org/10.3732/ajb.0900090>
- Cacho, N. I., M. Monteverde-Suarez, and P. J. McIntyre. 2019. Data from: Convergent evolution in floral morphology in a plant ring species, the Caribbean *Euphorbia tithymaloides*. Dryad Digital Repository. <https://doi.org/10.5061/dryad.24bb47s>.
- Cano, Á., Bacon, C. D., Stauffer, F. W., Antonelli, A., Serrano-Serrano, M. L., & Perret, M. 2018. The roles of dispersal and mass extinction in shaping palm diversity across the Caribbean. *Journal of Biogeography*, 45(6), 1432–1443. <https://doi.org/10.1111/jbi.13225>
- Carlquist, S. 1974. *Island Biology*. Columbia University Press, New York.
- Coyne, J. A., and H. A. Orr. 2004. *Speciation*. Sinauer Associates Inc, Sunderland, MA.
- Colwell, R., & Futuyma, D. 1971. On the Measurement of Niche Breadth and Overlap. *Ecology*, 52(4), 567–576.
- Coyne, J. A., Orr, A. H., & Orr, H. A. 2004. *Speciation*. Retrieved from <https://books.google.com/books?id=2Y9rQgAACAAJ&pgis=1>
- Cracraft, Joel, and Richard O. Prum. 1988. Patterns and Processes of Diversification: Speciation and Historical Congruence in Some Neotropical Birds. *Evolution* 42 (3): 603–20. <https://doi.org/10.2307/2409043>.
- Croizat, L. 1936. On the classification of *Euphorbia*. I. How important is the cyathium? *Bulletin of the Torrey Botanical Club*.
- Cruz-Cárdenas, G., Villaseñor, J. L., López-Mata, L., Martínez-Meyer, E., & Ortiz, E. 2014. Selección de predictores ambientales para el modelado de la distribución de especies en Maxent. *Revista Chapingo, Serie Ciencias Forestales y Del Ambiente*. <https://doi.org/10.5154/r.rchscfa.2013.09.034>
- Dai, K., Bergot, A., Liang, C., Xiang, W. N., & Huang, Z. 2015. Environmental issues associated with wind energy - A review. *Renewable Energy*, 75, 911–921. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2014.10.074>
- Dalsgaard, B., A. M. Martin Gonzalez, J. M. Olesen, J. Ollerton, A. Timmermann, L. H. Andersen, and A. G. Tossas. 2009. Plant-hummingbird interactions in the West Indies: Floral specialisation gradients associated with environment and hummingbird size. *Oecologia* 159: 757–766.

- de Brito Martins, A., & de Aguiar, M. A. M. 2016. Barriers to gene flow and ring species formation. *Evolution*, 1–7. <https://doi.org/10.1111/evo.13121>.
- De Sanctis, M., A. Adeb, A. Farcomeni, C. Patriarca, A. Saed, and F. Attorre. 2013. Classification and distribution patterns of plant communities on Socotra Island, Yemen. *Applied Vegetation Science* 16: 148–165.
- DiBattista, J.D., P. Saenz-Agudelo, M. J. Piatek, X. Wang, M. Aranda y M.L. Berumen. 2017. “Using butterflyfish genome as a general tool for RAD-Seq studies in specialized reef fish”. *Molecular Ecology Resources*. doi: 10.1111/1755-0998.12662.
- Diniz-Filho, J. A. F., L. Mauricio Bini, T. Fernando Rangel, R. D. Loyola, C. Hof, D. Nogues-Bravo, and M. B. Araujo. 2009. Partitioning and mapping uncertainties in ensembles of forecasts of species turnover under climate change. *Ecography* 32: 897–906.
- Dressler, R. 1957. The genus *Pedilanthus* (Euphorbiaceae). *Contributions from the Gray Herbarium of Harvard University*, CLXXXII.
- Earl, D. A., & VonHoldt, B. M. 2012. STRUCTURE HARVESTER: A website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. *Conservation Genetics Resources*, 4(2), 359–361. <https://doi.org/10.1007/s12686-011-9548-7>.
- Eguiarte, L. E., Aguirre-Liguori, J., Jardón-Barbolla, L., Aguirre-Planter, E., & Souza, V. 2013. Genómica de Poblaciones: Nada en Evolución va a tener sentido si no es a la luz de la Genómica, y nada en Genómica tendrá sentido si es a la luz de la Evolución. *Revista Especializada En Ciencias Químico-Biológicas*, 16(1), 42–56. <https://doi.org/10.1055/s-0031-1289629>.
- Elith, J., Graham, C. H., Anderson, R. P., Dudík, M., Ferrier, S., Guisan, A., ... Zimmermann, N. E. 2006. Novel methods improve prediction of species’ distributions from occurrence data. *Ecography*, 29, 129–151.
- Elith, J., & Leathwick, J. R. 2009. Species Distribution Models : Ecological Explanation and Prediction Across Space and Time. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 40, 677–697. <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.110308.120159>.
- Evans, M. E., Smith, S. A., Flynn, R. S., & Donoghue, M. J. 2009. Climate , Niche Evolution , and Diversification of the “ Bird-Cage ” Evening Primroses (*Oenothera* , Sections *Anogra* and *Kleinia*). *The American Naturalist*, 173(2), 225–240. <https://doi.org/10.1086/595757>.
- Feder, J. L., S. P. Egan, and P. Nosil. 2012. The genomics of speciation-with-geneflow. *Trends in Genetics* 28: 342–350.
- Feinsinger, P., J. A. Wolfe, and L. A. Swarm. 1982. Island ecology: reduced hummingbird diversity and the pollination biology of plants, Trinidad and Tobago, West Indies. *Ecology* 63: 494–506.
- Flaxman, S. M., J. L. Feder, and P. Nosil. 2013. Genetic hitchhiking and the dynamic buildup of genomic divergence during speciation with gene flow. *Evolution* 67: 2577–2591.
- Foote, A. D. 2018. Sympatric Speciation in the Genomic Era. *Trends in Ecology and Evolution* 33: 85–95.

- François, L., Utescher, T., Favre, E., Henrot, A. J., Warnant, P., Micheels, A., ... Mosbrugger, V. 2011. Modelling Late Miocene vegetation in Europe: Results of the CARAIB model and comparison with palaeovegetation data. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 304(3–4), 359–378. <https://doi.org/10.1016/j.palaeo.2011.01.012>
- Fuchs, Jerome, Per G P Ericson, Coline Bonillo, Arnaud Couloux, and Eric Pasquet. 2015. “The Complex Phylogeography of the Indo-Malayan Alophoixus Bulbuls with the Description of a Putative New Ring Species Complex.” *Molecular Ecology* 24 (21): 5460–74. <https://doi.org/10.1111/mec.13337>.
- Galpern, P., P. R. Peres-Neto, J. Polfus, and M. Manseau. 2014. MEMGENE: Spatial pattern detection in genetic distance data. *Methods in Ecology and Evolution* 5: 1116–1120.
- Grant, W. S., & Bowen, B. W. 1998. Shallow population histories in deep evolutionary lineages of marine fishes: Insights from sardines and anchovies and lessons for conservation. *Journal of Heredity*. <https://doi.org/10.1093/jhered/89.5.415>.
- Guillot, G., and F. Rousset. 2013. Dismantling the Mantel tests. *Methods in Ecology and Evolution* 4: 336–344.
- Guillot, G., R. Leblois, A. Coulon, and A. C. Frantz. 2009. Statistical methods in spatial genetics. *Molecular Ecology* 18: 4734–4756.
- Hamasha, H. R., Schmidt-Lebuhn, A. N., Durka, W., Schleuning, M., & Hensen, I. 2013. Bioclimatic regions influence genetic structure of four Jordanian *Stipa* species. *Plant Biology*, 15(5), 882–891. <https://doi.org/10.1111/j.1438-8677.2012.00689.x>
- Harmon, Luke J., and Susan Harrison. 2015. “Species Diversity Is Dynamic and Unbounded at Local and Continental Scales.” *The American Naturalist* 185 (5): 584–93. <https://doi.org/10.1086/680859>.
- Hedges, B. 2006. Paleogeography of the Antilles and Origin of West Indian Terrestrial Vertebrates Paleogeography of the Antilles and Origin of West Indian Terrestrial. *Ann. Missouri Bot. Garden*, 93(2), 231–244. [https://doi.org/10.3417/0026-6493\(2006\)93\[231:POTAAO\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.3417/0026-6493(2006)93[231:POTAAO]2.0.CO;2)
- Hedges, S. B., Hass, C. A., & Maxson, L. R. 1992. Caribbean biogeography: molecular evidence for dispersal in West Indian terrestrial vertebrates. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 89(5), 1909–1913. <https://doi.org/10.1073/pnas.89.5.1909>
- Hewitt, G. M. 2004. “Genetic Consequences of Climatic Oscillations in the Quaternary.” *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 359 (1442): 183–95. <https://doi.org/10.1098/rstb.2003.1388>.
- Hijmans, R. J., Cameron, S. E., Parra, J. L., Jones, G., & Jarvis, A. 2005. Very High Resolution Interpolated Climate Surfaces For Global Land Areas. *International Journal of Climatology*, 1978, 1965–1978. <https://doi.org/10.1002/joc.1276>
- Hijmans, R. J., & van Etten, J. 2010. raster: Geographic analysis and modeling with raster data. *R Package Version*.

- Hijmans, R. J., E. Williams, and C. Vennes. 2017. geosphere: Spherical Trigonometry. R package version 1.5-7.
- Hortelano-Moncada, Y., Cervantes, F. A., & Trejo-Ortíz, A. 2009. Mamíferos silvestres. In A. Lot & Z. Cano-Santana (Eds.), *Biodiversidad del Pedregal de San Ángel* (pp. 277–293). D.F. México: UNAM, Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel y Coordinación de la Investigación Científica.
- Hua, X., & Wiens, J. J. 2013. How does climate influence speciation? *American Naturalist*, 182(1), 1–12. <https://doi.org/10.1086/670690>
- Irwin, D E, S Bensch, J H Irwin, and T D Price. 2005. “Speciation by Distance in a Ring Species.” Journal Article. *Science* 307 (5708): 414–16.
- Irwin, Darren E., Jessica H. Irwin, and Trevor D. Price. 2001. Ring Species as Bridges between Microevolution and Speciation. *Genetica* 112–113: 223–43. <https://doi.org/10.1023/A:1013319217703>.
- Irwin, D. E. 2002. Phylogeographic Breaks Without Geographic Barriers To Gene Flow. *Evolution* 56: 2383–2394.
- Irwin, D. E., and J. H. Irwin. 2002. Circular overlaps: Rare demonstrations of speciation. *Auk* 119: 596–602.
- Irwin, D. E., Thimgan, M. P., & Irwin, J. H. 2008. Call divergence is correlated with geographic and genetic distance in greenish warblers (*Phylloscopus trochiloides*): A strong role for stochasticity in signal evolution? *Journal of Evolutionary Biology*, 21(2), 435–448. <https://doi.org/10.1111/j.1420-9101.2007.01499.x>
- Irwin, D. E. 2009. Incipient ring speciation revealed by a migratory divide. *Molecular Ecology* 18: 2923–2925.
- Irwin, D. E., M. Alcaide, K. E. Delmore, J. H. Irwin, and G. L. Owens. 2016. Recurrent selection explains parallel evolution of genomic regions of high relative but low absolute differentiation in a ring species. *Molecular Ecology* 25: 4488–4507.
- Jakobsson, M., & Rosenberg, N. A. 2007. CLUMPP: A cluster matching and permutation program for dealing with label switching and multimodality in analysis of population structure. *Bioinformatics*. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btm233>
- Janekovi, F., & Novak, T. 2012. PCA – A Powerful Method for Analyze Ecological Niches. In *Principal Component Analysis - Multidisciplinary Applications*. <https://doi.org/10.5772/38538>
- Jezkova, T., & Wiens, J. J. 2018. Testing the role of climate in speciation: New methods and applications to squamate reptiles (lizards and snakes). *Molecular Ecology*, 27(12), 2754–2769. <https://doi.org/10.1111/mec.14717>
- Jombart, T., S. Devillard, A. B. Dufour, and D. Pontier. 2008. Revealing cryptic spatial patterns in genetic variability by a new multivariate method. *Heredity* 101: 92–103.
- Joseph, L., Dolman, G., Donnellan, S., Saint, K. M., Berg, M. L., & Bennett, A. T. 2008. Where and

when does a ring start and end? Testing the ring-species hypothesis in a species complex of Australian parrots. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 275(1650), 2431–2440. <https://doi.org/10.1098/rspb.2008.0765>

- Jossart, Q., De Ridder, C., Lessios, H. A., Bauwens, M., Motreuil, S., Rigaud, T., ... David, B. 2017. Highly contrasted population genetic structures in a host–parasite pair in the Caribbean Sea. *Ecology and Evolution*, 7(22), 9267–9280. <https://doi.org/10.1002/ece3.3413>
- Kisel, Y., and T. G. Barraclough. 2010. Speciation has a spatial scale that depends on levels of gene flow. *The American Naturalist* 175: 316–334.
- Kuchta, Shawn R., and David B. Wake. 2016. “Wherefore and Whither the Ring Species?” *Copeia* 104 (1): 189–201. <https://doi.org/10.1643/OT-14-176>.
- Lack, D. 1973. The numbers of species of hummingbirds in the West Indies. *Evolution* 27: 326–337. Available at: <http://www.jstor.org/pss/2406972>.
- Legendre, P., and L. Legendre. 1998. Numerical Ecology. *Elsevier*: The Netherlands.
- Lepage, D., G. Vaidya, and R. Guralnick. 2014. Avibase - A database system for managing and organizing taxonomic concepts. *ZooKeys* 420: 117–135.
- Librado, P., & Rozas, J. (2009). DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics*. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btp187>.
- Liebers, D., P. de Knijff, and A. J. Helbig. 2004. The herring gull complex is not a ring species. *Proceedings of the Biological Sciences* 271: 893–901.
- Losos, J. 1992. The evolution of convergent structure in Caribbean Anolis communities. *Systematic Biology* 41: 403–420.
- Mainali, K. P., Warren, D. L., Dhileepan, K., McConnachie, A., Strathie, L., Hassan, G., ... Parmesan, C. 2015. Projecting future expansion of invasive species : comparing and improving methodologies for species distribution modeling. *Global Change Biology*, 21, 4464–4480. <https://doi.org/10.1111/gcb.13038>.
- Marten-Rodriguez, S., A. Almarales-Castro, and C. B. Fenster. 2009. Evaluation of pollination syndromes in Antillean Gesneriaceae: Evidence for bat, hummingbird and generalized flowers. *Journal of Ecology* 97: 348–359.
- Marten-Rodriguez, S., C. B. Fenster, I. Agnarsson, L. E. Skog, and E. A. Zimmer. 2010. Evolutionary breakdown of pollination specialization in a Caribbean plant radiation. *New Phytologist* 188: 403–417.
- Marten-Rodriguez, S., W. J. Kress, E. J. Temeles, and E. Melendez-Ackerman. 2011. Plant-pollinator interactions and floral convergence in two species of *Heliconia* from the Caribbean Islands. *Oecologia* 167: 1075–1083.
- Martin, S. H., K. K. Dasmahapatra, N. J. Nadeau, C. Salazar, J. R. Walters, F. Simpson, M. Blaxter, et al. 2013. Genome-wide evidence for speciation with gene flow in *Heliconius* butterflies. *Genome Research* 23: 1817–1828.

- Martins, A. B., M. A. M. de Aguiar, and Y. Bar-Yam. 2013. Evolution and stability of ring species. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 110: 5080–5084.
- Mayr, E. 1942. *Systematics and the origin of species, from the viewpoint of a zoologist*. New York: Colombia Universal Press.
- Mayr, Ernst. 1963. *Animal Species and Evolution*. Cambridge, MA: Belknap Press.
- McArdle, B. H., and M. J. Anderson. 2001. Fitting multivariate models to community data: a comment on distance-based redundancy analysis. *Ecology* 82: 290–297.
- Moen, D. S., and J. J. Wiens. 2009. Phylogenetic evidence for competitively driven divergence: Body-size evolution in caribbean treefrogs (Hylidae: *Osteopilus*). *Evolution* 63: 195–214.
- Monahan, William B, Ricardo J Pereira, and David B Wake. 2012. Ring Distributions Leading to Species Formation: A Global Topographic Analysis of Geographic Barriers Associated with Ring Species. *BMC Biology* 10: 20. <https://doi.org/10.1186/1741-7007-10-20>.
- Moreno-Letelier, A., Ortíz-Medrano, A., & Pinero, D. 2013. Niche divergence versus neutral processes: Combined environmental and genetic analyses identify contrasting patterns of differentiation in recently diverged pine species. *PLoS ONE*, 8(10). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0078228>.
- Morjan, C. L., & Rieseberg, L. H. 2004. How species evolve collectively: Implications of gene flow and selection for the spread of advantageous alleles. *Molecular Ecology*, 13(6), 1341–1356. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2004.02164.x>
- Nieto-Blázquez, M. E., Antonelli, A., & Roncal, J. 2017. Historical Biogeography of endemic seed plant genera in the Caribbean: Did GAARlandia play a role? *Ecology and Evolution*, 7(23), 10158–10174. <https://doi.org/10.1002/ece3.3521>.
- O’Dea, A., Lessios, H. A., Coates, A. G., Eytan, R. I., Restrepo-Moreno, S. A., Cione, A. L., ... Jackson, J. B. C. 2016. Formation of the Isthmus of Panama. *Science Advances*, 2(8), e1600883–e1600883. <https://doi.org/10.1126/sciadv.1600883>.
- Oksanen, J., G. Blanchet, M. Friendly, R. Kindt, P. Legendre, D. McGlenn, P. R. Minchin, et al. 2018. vegan: *Community Ecology Package*. R package version 2.4-6.
- Olesen, J. M., L. I. Eskildsen, and S. Venkatasamy. 2002. Invasion of pollination networks on oceanic islands: Importance of invader complexes and endemic super generalists. *Diversity and Distributions* 8: 181–192.
- Orme, C. D. L., R. P. Freckleton, G. H. Thomas, T. Petzoldt, and S. A. Fritz. 2013. Caper: comparative analyses of phylogenetics and evolution in R.
- Osborne, M. J., Cordova, S. J., Cameron, A. C., & Turner, T. F. 2019. Isolation by elevation: mitochondrial divergence among sky island populations of Sacramento Mountain salamander (*Aneides hardii*). *Conservation Genetics*, 20(3), 545–556. <https://doi.org/10.1007/s10592-019-01155-7>.

- Paradis, E., and K. Schliep. 2018. ape 5.0: an environment for modern phylogenetics and evolutionary analyses in R. *Bioinformatics* 35: 526–528.
- Paradis, E., J. Claude, and K. Strimmer. 2004. APE: Analyses of phylogenetics and evolution in R language. *Bioinformatics* 20: 289–290.
- Peakall, R., & Smouse, P. E. 2017. *GenAlEx 6. 5 : genetic analysis in Excel . Population genetic software for teaching and research — an update*. 28(19), 2537–2539. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts460>
- Pereira, R. J., and D. B. Wake. 2009. Genetic leakage after adaptive and nonadaptive divergence in the *Ensatina eschscholtzii* ring species. *Evolution* 63: 2288–2301.
- Petit, R. J., & Excoffier, L. 2009. Gene flow and species delimitation. *Trends in Ecology and Evolution*, 24(7), 386–393. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2009.02.011>
- Phillips, S. J., Anderson, R. P., & Schapire, R. E. 2006. Maximum entropy modeling of species geographic distributions. *Ecological Modelling*, 190, 231–259. <https://doi.org/10.1016/j.ecolmodel.2005.03.026>
- Pritchard, J. K., Wen, X., & Falush, D. 2010. Documentation for structure software : Version 2 . 3. *University of Chicago. IL*, 6(3), 321–326. <https://doi.org/10.1002/spe.4380060305>
- Qiao, Liang, Guannan Wen, Yin Qi, Bin Lu, Junhua Hu, Zhaobin Song, and Jinzhong Fu. 2018. “Evolutionary Melting Pots and Reproductive Isolation: A Ring-Shaped Diversification of an Odorous Frog (*Odorrana margaritacea*) around the Sichuan Basin.” *Molecular Ecology*, 0–3. <https://doi.org/10.1111/mec.14899>.
- R Development Core Team. 2018. R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing.
- Revell, L. J. 2012. phytools: An R package for phylogenetic comparative biology (and other things). *Methods in Ecology and Evolution* 3: 217–223.
- Reznick, D. N., F. Helen Rodd, and M. Cardenas. 1996. Life -history evolution in guppies *Poecilia reticulata*: Poeciliidae). IV. Parallelism in life-history phenotypes. *The American Naturalist* 147: 319–338.
- Rieseberg, Loren H, and John M Burke. 2001. “The Biological Reality of Species: Gene Flow , Selection , and Collective Evolution Author (s): Loren H . Rieseberg and John M . Burke Reviewed Work (s): Published by: International Association for Plant Taxonomy (IAPT) Stable URL : [Http://Www.Jst.org](http://www.jst.org).” *Evolution* 50 (1): 47–67.
- Rissler, L. J., & Apodaca, J. J. 2007. Adding more ecology into species delimitation: Ecological niche models and phylogeography help define cryptic species in the black salamander (*Aneides flavipunctatus*). *Systematic Biology*, 56(6), 924–942. <https://doi.org/10.1080/10635150701703063>
- Rosche, C., Heinicke, S., Hensen, I., Silantyeva, M. M., Stolz, J., Gröning, S., & Wesche, K. 2018. Spatio-environmental determinants of the genetic structure of three steppe species in a highly fragmented landscape. *Basic and Applied Ecology*, 28, 48–59.

<https://doi.org/10.1016/j.baae.2018.02.001>

- Sahagun-Godinez, E., and J. A. Lomeli-Sencion. 1997. *Pedilanthus diazlananus* (Euphorbiaceae): Pollination by hymenopterans in a bird-pollinated genus. *American Journal of Botany* 84: 1584–1587.
- Santiago-Valentin, E., & Olmstead, R. G. 2004. Historical biogeography of Caribbean plants : introduction to current know- ledge and possibilities from a phylogenetic perspective. *Taxon*, 53(May), 299–319.
- Schindelin, J., C. T. Rueden, M. C. Hiner, and K. W. Eliceiri. 2015. The ImageJ ecosystem: an open platform for biomedical image analysis. *Molecular Reproduction and Development* 82: 518–529.
- Schneider, J., Bosch, D., Monié, P., Guillot, S., García-Casco, A., Lardeaux, J. M., ... Trujillo, G. M. (2004). Origin and evolution of the Escambray Massif (Cenral Cuba): An example of HP/LT rocks exhumed during intraoceanic subduction. *Journal of Metamorphic Geology*, 22(3), 227–247. <https://doi.org/10.1111/j.1525-1314.2004.00510.x>
- Schoener, T. W. (1974). Research on how similar species divide resources helps. *Science*, 185, 27–39.
- Scordato, E. S. C. 2017. Geographical variation in male territory defence strategies in an avian ring species. *Animal Behaviour* 126: 153–162.
- Scordato, E. S. C. 2018. Male competition drives song divergence along an ecological gradient in an avian ring species. *Evolution* 72: 2360–2377.
- Shirk, A. J., E. L. Landguth, and S. A. Cushman. 2018. A comparison of regression methods for model selection in individual-based landscape genetic analysis. *Molecular Ecology Resources* 18: 55–67.
- Soberón, J. (2007). Grinnellian and Eltonian niches and geographic distributions of species. *Ecology Letters*, 10(12), 1115–1123. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2007.01107.x>
- Steinmann, V. W., and J. M. Porter. 2002. Phylogenetic relationships in Euphorbieae (Euphorbiaceae) based on its and ndhF sequence data. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 89: 453–490.
- System, Q. G. G. I. (2016). *Quantum GIS Development Team*. Open Source Geospatial Foundation Project.
- Temeles, E. J., and W. J. Kress. 2003. Adaptation in a plant-hummingbird association. *Science* 300: 630–633.
- Temeles, E. J., C. R. Koulouris, S. E. Sander, and W. J. Kress. 2009. Effect of flower shape and size on foraging performance and trade-offs in a tropical hummingbird. *Ecology* 90: 1147–1161.
- Veiga Blanco, T., L. Galetto, and I. C. Machado. 2013. Nectar regulation in *Euphorbia tithymaloides* L., a hummingbird-pollinated Euphorbiaceae. *Plant Biology* 15: 910–918.
- Vijay, N. 2017. Digest: Why are there no ring species? *Evolution* 71: 501–502.
- Ward, D. 2011. Population differentiation in a purported ring species, *Acacia karroo* (Mimosoideae). *Biological Journal of the Linnean Society* 104: 748–755.
- Warren, D. L., Glor, R. E., & Turelli, M. 2008. Environmental niche equivalency versus conservatism :

quantitative approaches to niche evolution. *Evolution*, 62(11), 2868–2883.
<https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.2008.00482.x>

Webster, G. L. 1967. The genera of Euphorbiaceae in the Southeastern United States. *Journal of the Arnold Arboretum* 48: 303–361.

Wickham, H. 2016. ggplot 2: Elegant graphics for data analysis. Springer.

Wiens, J. J. 2004. Speciation and Ecology Revisited: Phylogenetic Niche Conservatism and the Origin of Species. *Evolution*, 58(1), 193. <https://doi.org/10.1554/03-447>

You, Y., Huber, M., Müller, R. D., Poulsen, J., & Ribbe, J. 2009. Simulation of the middle miocene climate optimum. *Geophysical Research Letters*, 36(4), 1–5.
<https://doi.org/10.1029/2008GL036571>

ANEXOS

Anexo 1. ARTÍCULO *Convergent evolution in floral morphology in a plant ring species, the Caribbean Euphorbia tithymaloides*, publicado en *American Journal of Botany*, en 2019.

Citar este trabajo como:

Cacho, NI, MJ Monteverde-Suárez & PJ McIntyre. 2019. *Convergent evolution in floral morphology in a plant ring species, the Caribbean Euphorbia tithymaloides*. **American Journal of Botany** 106(7): 1–14. DOI:10.1002/ajb2.1318.

Convergent evolution in floral morphology in a plant ring species, the Caribbean *Euphorbia tithymaloides*

N. Ivalú Cacho^{1,3} , María José Monteverde-Suárez¹, and Patrick J. McIntyre² 

Manuscript received 12 October 2018; revision accepted 15 April 2019.

¹Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, CDMX 04510, Mexico

²NatureServe, Western Regional Office, 1680 38th St., Suite 120, Boulder, Colorado 80301, USA

³Author for correspondence (e-mail: ivalu.cacho@gmail.com)

Citation: Cacho, N. I., M. J. Monteverde-Suárez, and P. J. McIntyre. 2019. Convergent evolution in floral morphology in a plant ring species, the Caribbean *Euphorbia tithymaloides*. *American Journal of Botany* 106(7): 1032–1045.

doi:10.1002/ajb2.1318

PREMISE: Ring species have long fascinated evolutionary biologists for their potential insights into lineage divergence and speciation across space. Few studies have investigated the potential for convergent or parallel evolution along the diverging fronts of ring species. We investigated a potential case of parallel floral variation in the Caribbean spurge *Euphorbia tithymaloides*, the only plant system with molecular support as a ring species. The terminal populations of each front, despite being the most divergent, exhibit such similar floral traits that they were originally considered each other's closest relative.

METHODS: We evaluated convergence in floral and leaf traits in relation to geography across 95 populations spanning the distribution of *E. tithymaloides*. We also reanalyzed available genetic data (from previous phylogenetic analyses) in an explicitly spatial framework.

RESULTS: Floral morphology appears to have shifted in a convergent fashion along both geographic fronts of *E. tithymaloides*, resulting in shorter and more compact inflorescences in Antillean populations compared to the typical elongate “slipper-like” cyathia characteristic of the area of origin. Patterns of spatial genetic variation were more consistent with a two-fronted invasion of the Caribbean than with a simpler model of isolation-by-distance.

CONCLUSIONS: Floral divergence in *E. tithymaloides* is consistent with convergent evolution along the two fronts of a ring species. We outline several (not mutually exclusive) mechanisms that could be driving patterns in morphology, including shifts toward generalized pollination with reduced reliance on hummingbirds, shifts in floral structure closely matching available hummingbird bill traits, and shifts toward increased selfing.

KEY WORDS divergence; convergence; speciation; reproductive isolation; pollination; parallel evolution.

Ring species are species complexes with a circular distribution resulting from an ancestral population expanding along two geographic fronts whose terminal populations behave as distinct species upon reuniting (Mayr, 1942; Irwin et al., 2001). Although contemporary molecular approaches suggest that proposed ring species seldom conform to the simplistic model of two neatly diverging lineages that exhibit strong reproductive isolation when they return into contact (Lieberman et al., 2004; Martins et al., 2013; Alcaide et al., 2014), the ring species concept of lineage divergence around geographic barriers and the evolutionary details of what happens when those lineages reunite continue to provide insights into biogeography and speciation (Irwin, 2002; Ashlock et al., 2010; Kisel and Barraclough,

2010; Martins et al., 2013; Alcaide et al., 2014; de Brito Martins and de Aguiar, 2016; Irwin et al., 2016; Kuchta and Wake, 2016; Scordato, 2017; Vijay, 2017).

The classic conceptual model of a ring species suggests that these systems would meet four criteria (Mayr, 1942; Irwin et al., 2001; Irwin and Irwin, 2002; Coyne and Orr, 2004): (1) a circular distribution resulting from historical range expansion along two fronts diverging from an ancestral population surrounding unsuitable habitat; (2) secondary contact between the two terminal forms so that there is potential for direct gene flow between them; (3) a chain of populations that may allow the two termini to exchange genes indirectly; and (4) lack of hybridization between the terminal forms due to some intrinsic reproductive isolation.

We argue that the main features of a ring species, and those that render these systems valuable for studying the generation of diversity, are (1) a historical range expansion along two fronts that diverged from an ancestral population and (2) that the terminal forms can persist as distinct entities despite the opportunity for direct gene flow. A strictly continuous clinal distribution is not met by many proposed ring species, possibly due to a variety of factors, including habitat discontinuity on the landscape (e.g., habitat heterogeneity or loss) and local extinction of populations (e.g., Irwin, 2002, 2009). Also, as long as the terminal forms of the expansion fronts persist as distinct entities, we argue that reproductive isolation between them need not be complete. Leaky species barriers are now recognized as common, especially in plants, and do not preclude recognition of distinct species that persist and evolve along separate trajectories despite limited gene flow. The study of differentiation or persistence in the face of gene flow is a now classic area of research in the field of speciation (Coyne and Orr, 2004; Feder et al., 2012; Flaxman et al., 2013; Martin et al., 2013; Foote, 2018).

While much work on ring species has focused on divergence along expansion fronts leading to speciation (Bowen et al., 2001; Alexandrino et al., 2005; Bensch et al., 2009; Pereira and Wake, 2009; Alcaide et al., 2014; Scordato, 2017, 2018), the potential for parallel or convergent evolution in ring species complexes has received less focus (but see Irwin et al., 2016). Populations expanding around geographic barriers that eventually reunite may experience similar selective pressures (e.g., trends in day length, temperature, or exposure to mutualists and enemies), resulting in parallel clines of traits along expansion fronts without direct gene flow. Several ring species complexes have been noted to exhibit similar patterns of morphological or genetic variation along their diverging fronts, suggesting that similar traits may have resulted from parallel (i.e., shared underlying pathway) or convergent (different pathways) evolution (Bensch et al., 2009; Irwin et al., 2016). The potential interplay of convergence and divergence in the face of gene flow that characterizes ring species makes them interesting models in which to address the repeatability of evolution. Thus, a complete picture of evolution in ring species complexes should address the potential for parallel and convergent as well as divergent patterns of evolution across fronts, and the potential for these to lead to cryptic divergence or to influence gene flow when populations come back into contact.

We explore a possible case of parallel evolution in a Caribbean plant, *Euphorbia tithymaloides* L. (Euphorbiaceae), which conforms to the ring species model (Cacho and Baum, 2012). Classic taxonomic work by Robert Dressler (1957) first suggested that *E. tithymaloides* could be a ring species. When referring to two divergent forms in the Antilles, Dressler remarked that these “are broadly sympatric and appear to behave as distinct species [...], each closely tied in to the mainland population by a different chain of taxa” (Dressler, 1957, p. 137). Dressler’s hypothesis was later supported by phylogenetic analyses of two nuclear loci in 42 natural populations spanning the range of *E. tithymaloides* in the Caribbean (Cacho and Baum, 2012). Besides supporting a two-fronted range expansion of *E. tithymaloides* from Mexico and Guatemala along the Greater and Lesser Antillean island chains toward the Anegada Passage in the Caribbean (Fig. 1A), data are also consistent with a lack of free gene exchange between the two terminal forms, which remain distinct (Cacho and Baum, 2012). The most divergent forms identified by molecular work correspond to a pair of subspecies, *E. tithymaloides* L. ssp. *angustifolia*

(Poi.) Steinm. and *E. tithymaloides* L. ssp. *padifolia* (L.) Steinm., that Dressler actually considered closely related taxa due to their shared floral morphology (Dressler, 1957). Specifically, both termini possess relatively shortened cyathia (the modified flower-like inflorescence characteristic of the Euphorbiaceae; Fig. 1B) in contrast to the typical elongate cyathium responsible for the group’s common name, slipper spurges.

Phylogenetic data in combination with morphology raise intriguing questions about floral evolution in these lineages: Are shortened floral involucres of Antillean *E. tithymaloides* a case of parallel evolution associated with similar selective pressures following independent colonization events of the eastern Caribbean? And, more generally, how does morphological variation correspond to geography? Similar trends in variation along the two diverging fronts of a ring species have also been shown in the greenish warbler (Irwin et al., 2016), suggesting that parallel or convergent evolution may be an underreported feature in ring species, whose fronts may experience similar selective regimes.

Here, we first analyze available sequence data from Cacho and Baum (2012) of Caribbean *E. tithymaloides* using models that evaluate genetic variation in an explicit landscape context to assess the two-fronted range-expansion scenario suggested by previous phylogenetic analyses. To investigate whether patterns of morphological variation support a parallel shortening of the inflorescence along the Greater and Lesser Antillean expansion fronts toward the Anegada Passage, we examine floral and leaf traits in the context of geography using herbarium and field specimens from 95 populations spanning the range of *E. tithymaloides* around the Caribbean. We then outline potential drivers of the morphological patterns we have documented.

MATERIALS AND METHODS

Study system

The *E. tithymaloides* L. species complex is the most widespread and variable species of the *Pedilanthus* clade of *Euphorbia* (Dressler, 1957; Steinmann and Porter, 2002), with a distribution that spans Mexico, Florida, Central America, northern South America, and the Caribbean (Dressler, 1957; Cacho et al., 2010; Fig. 1A). Like all *Euphorbia*, *E. tithymaloides* has highly modified inflorescences that resemble and function as single flowers, called cyathia (singular “cyathium”; Fig. 1B). Cyathia are composed of a central female flower reduced to a single gynoecium surrounded by many staminate inflorescences that are themselves reduced to single anthers. In the *Pedilanthus* clade of *Euphorbia*, the cyathium is strongly bilateral and has an expanded involucre that encloses the flowers and nectar glands in a structure that resembles a “slipper”—hence their common name “slipper spurges” (Fig. 1B). Although clade-wide studies are lacking, available data and observations support that members of the *Pedilanthus* clade are primarily pollinated by hummingbirds (Dressler, 1957; Cacho et al., 2010; Veiga Blanco et al., 2013). The bilateral cyathia characteristic of the clade resemble the single flowers typical of hummingbird-pollinated groups in possessing large amounts of nectar, reddish coloration, and a tubular structure (Dressler, 1957; Cacho et al., 2010; Veiga Blanco et al., 2013). In at least one member of the clade, *E. diazlanana* (Lomeli & Sahagún) Steinm., reversion to the more typical hymenopteran pollination of *Euphorbia* has been documented (Sahagún-Godínez

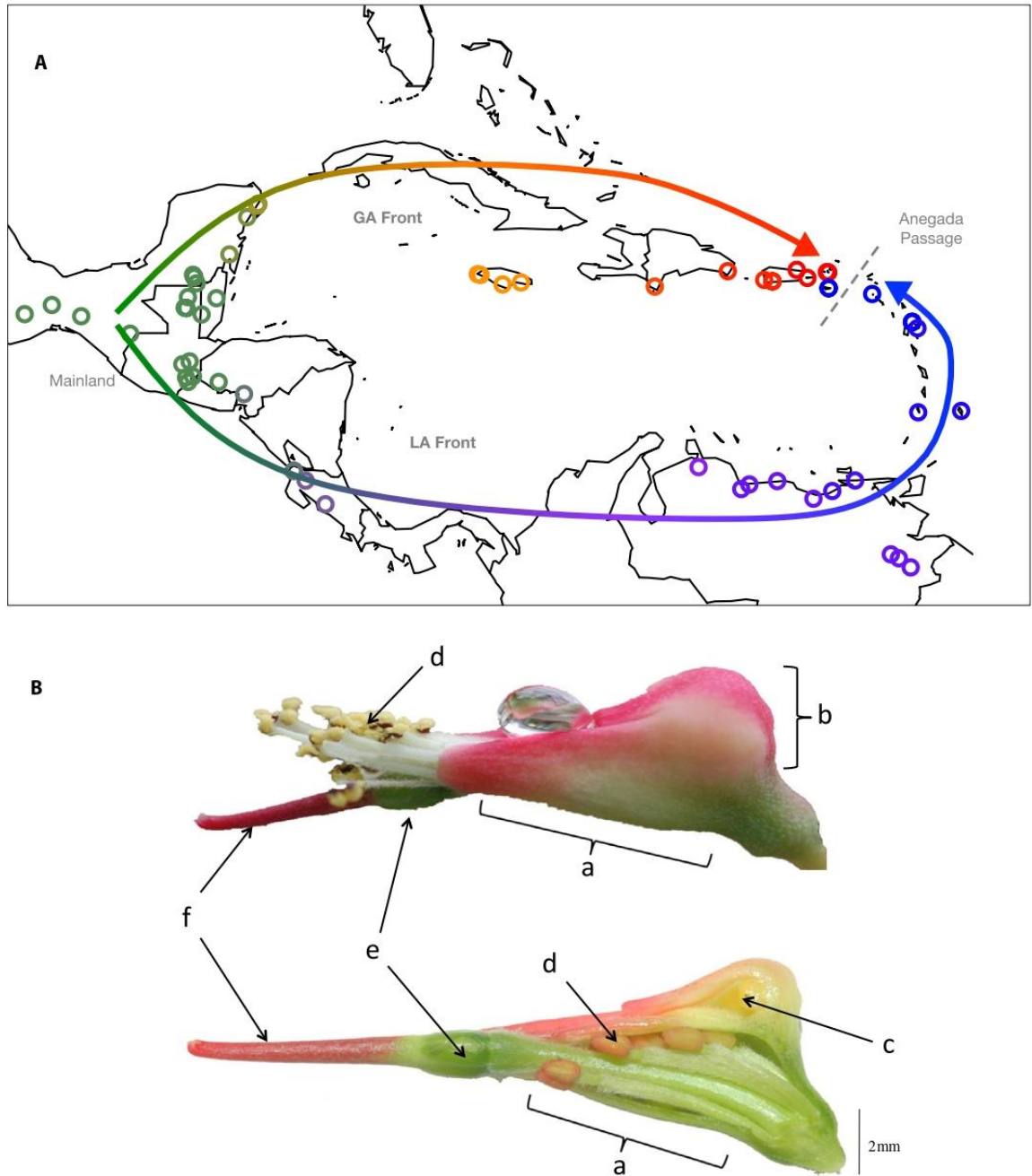


FIGURE 1. (A) Current data support a two-fronted range expansion of *Euphorbia tithymaloides* from Mexico/Guatemala toward the Caribbean. Populations are colored as a function of their distance from the Aneгада Passage, where terminal populations of the two expansion fronts persist as distinct entities despite potential direct gene flow given their close geographic proximity. (B) The strongly zygomorphic cyathium of *E. tithymaloides* is characterized by bracts conforming an involucre (a) and a chamber (b) that encloses the nectar glands (c) as well as the highly reduced male flowers (d) and the single central female flower. In the image, the ovary (e) and style (f) are exposed (male flowers exposed only in the upper panel), as is a nectar droplet.

and Lomeli-Senci3n, 1997), a change that is accompanied by shortened cyathia with yellowish rather than reddish coloration.

To our knowledge, *E. tithymaloides* is the only plant system supported by molecular data as a ring species (Cacho and Baum, 2012). Phylogenetic analyses support a two-fronted range expansion from Mexico/Guatemala toward the Caribbean, with terminal forms being rather distinct and broadly sympatric and with no evidence of direct free gene flow between them. Morphological intergradation among populations of *E. tithymaloides* across its geographic range, including clinal variation across insular habitats, makes subspecies recognition challenging (Dressler, 1957; Cacho and Baum, 2012), and phylogenetic resolution of available data does not correspond to either subspecies or islands, a pattern consistent with alleles moving rather freely across the chains of populations. Some plant species (e.g., *Acacia karroo*) have failed to conform to the ring species model due to lack of support from genetic data (Ward, 2011). Other systems with potential to fit the ring species model (e.g., *Cylindropuntia*) have recently been described (Baker, 2016) but have not yet been tested from a genetic or phylogenetic standpoint. More work assessing ring species in plants is needed.

The ring species hypothesis under explicitly spatial models

Questions, hypotheses, and expectations—The phylogenetic approach of Cacho and Baum (2012) to evaluate the *E. tithymaloides* system provided a framework for visualizing the historical range expansion along two geographic expansion fronts. In the present study, we assess the genetic structure of *E. tithymaloides* using methods that explicitly incorporate a landscape component. We have two main goals in this section. Our first goal is to evaluate whether (1) populations of *E. tithymaloides* conform to discrete genetic clusters (e.g., corresponding to islands); or (2) genetic variation is distributed in a more continuous manner, in a way that would be consistent with expansion along independent fronts with gene flow among populations. In the light of analyses by Cacho and Baum (2012), we expected that populations would not conform to a series of well-defined clusters but would rather reflect variation corresponding loosely to the Greater and Lesser Antillean expansion fronts. Our second goal in this section is to assess genetic variation across the system using models with an explicit geographic and landscape component. Our current understanding of the two-fronted geographic expansion of *E. tithymaloides* around the Caribbean relies on an island-hopping model (Dressler, 1957; Cacho and Baum, 2012) and suggests the Aneгада Passage (17.9251611 N, -63.916925 W) as a semipermeable barrier where the two geographic fronts meet (Cacho and Baum, 2012). To incorporate such an island-hopping model in our analyses, we built a geographic distance matrix for which we measured pairwise distances among all populations along trajectories that avoid the Aneгада Passage and include intermediate islands and populations rather than straight-line aerial “as the crow flies” distances. We refer to this distance as a “stepping-stone” geographic distance. If, however, geographic expansion did not follow such a historical two-fronted expansion, models using pairwise straight-line geographic distances among populations should perform equally as well as models that reflect two fronts of geographic expansion. Thus, we expected that under the ring species concept, the models that best fit the data would be those that incorporate stepping-stone geographic distances. Likewise, if divergence along two fronts has

resulted in variation with a dominant phylogenetic structure, as the phylogenetic analyses of Cacho and Baum (2012) would suggest, then models using patristic genetic distances (measured along a tree) rather than mere pairwise genetic distances should fit the data best. We recognize that the geographic layout of islands in the Caribbean Basin would preclude a tight fit of an isolation-by-distance (IBD) model. Yet we still expect that geographically distant populations would also be genetically distant. Also, the ring species dynamics of the system might complicate expectations for IBD: given our current understanding of the system, populations at either side of the Aneгада Passage are expected to be outliers in that they represent the most genetically divergent populations despite their close geographic proximity (Cacho and Baum, 2012).

Genetic data—We analyzed available DNA sequence data from Cacho and Baum (2012), which cover most of the known distribution of *E. tithymaloides* (i.e., Mexico, Central America, northern South America, and several Caribbean islands). Data consist of DNA sequences with no missing data or ambiguities, which represent all alleles of two nuclear regions: *SGN-U34200* (160 sequences, 118 individuals from 39 populations) and *G3PDH* (127 sequences, 114 individuals from 35 populations). GenBank accession numbers for all sequences analyzed are in Appendix S1.

We aligned sequences manually and performed all analyses for the two genes separately. Concatenating data is not appropriate in this case because genes show population discordance: they exhibit different numbers of haplotypes and these are distributed differently across individuals. All subsequent analyses were done in R version 3.5.2 (R Development Core Team, 2018) unless otherwise indicated.

Genetic distances—We constructed two genetic distance matrices. The first one consists of pairwise genetic distance (proportion or the number of sites that differ between each pair of sequences), which we estimated using the R function “dna.dist” (method = raw) from the “ape” package version 5.0 (Paradis et al., 2004; Paradis and Schliep, 2018). For the second genetic distance matrix, we estimated patristic (cophenetic) distances using the “cophenetic” function of the “phytools” package version 0.6.44 (Revell, 2012) in R from the maximum likelihood trees of Cacho and Baum (2012).

Geographic distances—We built two geographic distance matrices, to accommodate the IBD and island-hopping models. For the matrix of Euclidean geographic distances, we used the function “distm” from the R package “geosphere” (Hijmans et al., 2017) to calculate geographic distance matrices from population locations. To build our “stepping-stone” matrix of trajectories reflecting the two expansion fronts suggested by previous phylogenetic analyses (Cacho and Baum, 2012), we measured distances along trajectories that include intermediate populations and avoid the Aneгада Passage, using the path tool in Google Earth Pro version 7.3.2.5491 (2018 Google LLC).

Spatial structure of genetic variation—We visualized genetic data by plotting the first two axes of a principal coordinate analysis (PCoA; R function “pcoa” in “ape” version 5.0; Paradis and Schliep, 2018) based on pairwise genetic distances only. We used “ggplot2” (Wickham, 2016) to make final versions of our plots.

To explore the spatial structure of *E. tithymaloides* populations on the landscape, we implemented several approaches. We first

used Mantel tests, under which a significant correlation between geographic and genetic distance matrices is indicative of spatial structure (Guillot et al., 2009). We assessed the significance of Mantel tests with permutation tests ($n = 999$), using the function “mantel” from the R package “vegan” version 2.4-6 (Oksanen et al., 2018), and compared correlation coefficients between models, which has been identified as a robust measure of comparison for Mantel approaches (Shirk et al., 2018). We implemented all eight possible models that result from combinations of our pairwise and patristic genetic distances with Euclidean and stepping-stone geographic distances.

Mantel tests can be sensitive to spatial autocorrelation when samples close in geographic space tend to be more similar to each other than expected by chance alone for a given variable of interest, such as genetic distance (Legendre and Legendre, 1998; Diniz-Filho et al., 2009; Guillot and Rousset, 2013). We thus performed MEMGENE analyses, a method designed for spatial pattern detection in genetic distance data that relies on multivariate regression (McArdle and Anderson, 2001) and Moran’s Eigenvector Maps (MEM) to identify the proportion of genetic variance accounted-for by spatial variation (Galpern et al., 2014). This method is broadly analogous to spatial analysis of principal components (sPCA; Jombart et al., 2008) in that the methodology attempts to identify patterns of genetic variation among populations or individuals while accounting for spatial autocorrelation. We used the R package “MEMGENE” (Galpern et al., 2014) to identify patterns of spatial genetic variation in Caribbean *E. tithymaloides*, based on geographic distance and 1000 permutations for each run. We implemented the same eight models as for the Mantel tests described above.

The relation between MEMGENE axes and the proportion of spatial variation related to autocorrelation can be partitioned among the multiple independent MEM axes, because the spatial eigenvectors result from a modified PCA of the geographic distance matrix. In addition, the MEMGENE package decomposes the proportion of variation explained by genetic spatial and geographic components, as well as the proportion of variation that is confounded between the two. Results of MEMGENE are frequently presented in map form (as are those of sPCA), depicting spatial genetic structure on the landscape. The relative values along the MEMGENE axis are depicted through a combination of color and size in relation to a midpoint at zero on the MEMGENE axis (Galpern et al., 2014). To emphasize differences along the MEMGENE axis, points are colored according to their position in relation to the zero midpoint—whether they are positive or negative. Points are also scaled so that their size increases with distance from the midpoint of the axis. Thus, points that differ in color and are of the largest size represent extremes that are the farthest apart on the MEMGENE axis, suggesting that they are more distant in terms of the spatial genetic variation captured by that axis. Under the ring species scenario outlined by Cacho and Baum (2012), we would expect that the most distinct populations depicted by the largest points differing in color correspond to terminal populations of either front, in the vicinity of the Anegada Passage (a map outlining this expectation is in Appendix S2).

Geographic patterns of morphological variation

Questions, hypotheses, and expectations—Our aim in this section is to evaluate whether patterns of morphological variation support a shortening of the inflorescence of *E. tithymaloides* toward

the Anegada Passage in a parallel fashion along the Greater and Lesser Antillean expansion fronts. We examined floral traits from herbarium and field specimens across 95 populations spanning the range of *E. tithymaloides* in the Caribbean in the context of geography. If shortening of the cyathial involucre occurred in a parallel fashion, we expect a similar decrease in involucral length along both fronts. Alternatively, different pathways to relatively shorter cyathia could be revealed, suggesting that such shorter cyathia in the vicinity of the Anegada Passage are rather a case of convergent evolution. Because morphological patterns in floral traits may also reflect forces acting on other traits, such as allometric changes, we also examined leaf traits. If observed patterns are the result of an allometric scaling, we expect leaf and cyathial traits to behave in a similar fashion. Under this scenario, selective regimes are likely to be affecting the plants as a whole, and could include components of the niche such as climate or soil. On the other hand, different geographic patterns for leaf and cyathial traits would point to selection being exerted in a decoupled fashion in vegetative and reproductive structures. In particular, geographic patterns exclusive of floral traits would point to biotic factors related to reproductive biology as the most likely agents of selection shaping of the cyathium of *E. tithymaloides*.

Morphological measurements—We measured cyathium and leaf traits from an image collection (our own pictures) of live specimens and individuals in the field, as well as high-resolution images of specimens of our own collections of *E. tithymaloides* and those deposited in the Herbario Nacional de México (MEXU). Together, all the images analyzed represent a total of 95 populations (Appendix 1) spanning the geographic range of *E. tithymaloides* (Mexico, Central and South America, and the Caribbean; Fig. 1A). Cyathium measurements included cyathium height, involucral length, and distal cyathial angle, and were taken from 197 images representing 73 populations (1–12 images per population, $\bar{x} = 2.5$; 44 populations collected in the field between 2004 and 2008, and 29 populations from herbarium vouchers, mainly from the collections at the National Herbarium of Mexico, MEXU). Leaf measurements included leaf maximum width, length (base to tip), leaf angle, and tip angle and were made from a total of 302 images that represent 82 populations of *E. tithymaloides* (1–15 images per population, $\bar{x} = 3.5$; 41 populations collected in the field, and 41 from MEXU herbarium vouchers). A visual representation of cyathial and leaf measurements is in Appendix S3. Only one cyathium or leaf was measured per individual, to avoid pseudoreplication. All measurements were performed in ImageJ version 2.0 (Schindelin et al., 2015).

Geographic patterns in morphology—Because range expansion in the *E. tithymaloides* species-complex conforms to two geographic fronts, we used simple linear regression to investigate geographic patterns in morphology. We tested whether geographic distance from the Anegada Passage was a significant predictor of cyathial or leaf trait variation with separate regressions for populations in the Greater and Lesser Antillean fronts. We measured each population’s distance from the Anegada Passage using the path tool in Google Earth Pro 7.3.2.5491 (2018 Google LLC).

Assigning populations from the area of origin (western Mexico and an area close to the Mexico/Guatemala border, as identified by Cacho and Baum, 2012) to either geographic front would be entirely subjective; thus, we excluded populations from this area from

our regressions. This omission renders our analyses rather conservative, not only because the power is reduced but also because populations with the most elongated cyathia and farthest from the Aneгада Passage are not considered. Regressions were performed separately for each trait, and the Bonferroni correction was applied to adjust for multiple tests.

To summarize and visualize patterns of variation in leaf and cyathium morphology, we utilized principal component analysis (PCA). We used the R function “prcomp” on the correlation matrix (i.e., option `cor = T`) to account for potential differences in scale among morphological variables, with separate PCAs conducted on cyathium and leaf traits. To visualize the relationship between morphological variation and geography, we fitted a vector of geographic distance to the morphology PCA using the “`envfit`” function in the “`vegan`” package (Oksanen et al., 2018) and overlaid a model of geographic distance on the PCA plot using the “`ordisurf`” function (Orme et al., 2013). This latter approach implements generalized additive modeling with thin plate splines to fit smooth surfaces on a given ordination (De Sanctis et al., 2013; Oksanen et al., 2018). Because the goal of our PCA was to visualize patterns of morphological variation in the context of geography across the species range, in these analyses we included the populations from the center of origin of *E. tithymaloides*.

RESULTS

Spatial structure of genetic variation

Principal coordinate analysis reveals genetic variation corresponding to the Greater Antilles and the Lesser Antilles fronts previously proposed by Cacho and Baum (2012). Alleles from the mainland either segregate as distinct or are closer to the alleles that correspond to the Greater and Lesser Antillean fronts (Fig. 2A, B). These results suggest independent affinities of both fronts to mainland populations when looking at genetic variation alone, without the assumptions and methods implied by previous phylogenetic analyses.

Both our Mantel and MEMGENE analyses indicate that an important part of the variance in genetic variation is explained by spatial variation, but that a spatial model of dispersal through the Greater and Lesser Antilles toward the Aneгада Passage (modeled by the stepping-stone geographic distances) is a better fit to patterns of genetic variation than Euclidean geographic distances among populations. Coefficients of both Mantel and MEMGENE analyses are presented in Table 1. Biplots of genetic versus geographic distance for all eight models evaluated by Mantel tests are presented in Appendix S4, both for the whole system and separated by front. Map results of MEMGENE analyses for the best models are presented in Figure 2C

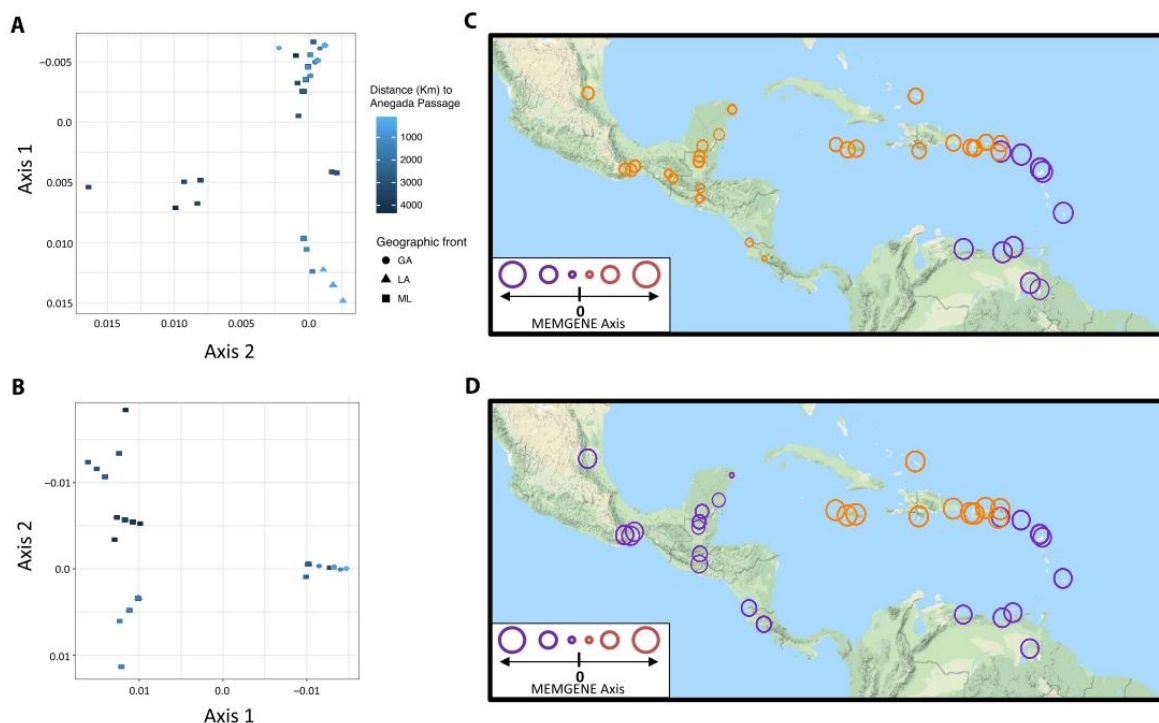


FIGURE 2. (A, B) Principal coordinate analysis plots of pairwise genetic distances (proportion of sites that differ between accessions) among alleles present in two genes of populations of *Euphorbia tithymaloides*. Populations are color coded by their geographic occurrence as a function of their distance to the Aneгада Passage, and shapes correspond to a categorical geographic placement. Alleles from the Greater Antillean (GA) and Lesser Antillean (LA) fronts are genetically closer to alleles present in different mainland (ML) populations. (C, D) MEMGENE maps for best models for two genes. In both cases, the best model includes pairwise genetic distances and stepping-stone geographic distances. (A, C) *SGN-U34200*. (B, D) *G3PDH*.

}

TABLE 1. A significant proportion of genetic variance in *Euphorbia tithymaloides* is explained by geographic distance (D = distance by a MEMGENE analysis. Asterisk denotes significance at $P \leq 0.001$. The proportion of genetic variation that cannot be attributed to either component (confounded) and the residual variation are also provided, but significance tests do not apply for these components. Analyses were done in R with functions in the packages “vegan” (Oksanen et al., 2018) and “MEMGENE” (Galpern and Peres-Neto, 2014). Patristic (cophenetic) distances were estimated with the “cophenetic” function of the R package “phytools” (Revell, 2012) from the maximum likelihood trees of (Cacho and Baum, 2012).

A. Gene	D_{Genetic}	$D_{\text{Geographic}}$	r	P	P (Bonferroni)	Significance
SGN-U34200	Raw	Euclidean	0.133	0.0001	0.0004	**
SGN-U34200	Raw	Stepping-stone	0.712	0.0001	0.0004	**
SGN-U34200	Patristic	Euclidean	0.113	0.0003	0.0012	*
SGN-U34200	Patristic	Stepping-stone	0.647	0.0001	0.0004	**
G3PDH	Raw	Euclidean	0.133	0.0001	0.0004	**
G3PDH	Raw	Stepping-stone	0.712	0.0001	0.0004	**
G3PDH	Patristic	Euclidean	0.113	0.0001	0.0012	*
G3PDH	Patristic	Stepping-stone	0.647	0.0001	0.0004	**
B. Gene	D_{Genetic}	$D_{\text{Geographic}}$	R^2	MEM 1	MEM 2	MEM 3
SGN-U34200	Raw	Euclidean	0.434	0.906	0.077	0.012
SGN-U34200	Raw	Stepping-stone	0.676	0.933	0.053	0.012
SGN-U34200	Patristic	Euclidean	0.425	0.897	0.080	0.014
SGN-U34200	Patristic	Stepping-stone	0.633	0.931	0.055	0.010
G3PDH	Raw	Euclidean	0.615	0.831	0.138	0.019
G3PDH	Raw	Stepping-stone	0.796	0.880	0.102	0.018
G3PDH	Patristic	Euclidean	0.624	0.842	0.128	0.018
G3PDH	Patristic	Stepping-stone	0.793	0.887	0.096	0.016
C. Gene	D_{Genetic}	$D_{\text{Geographic}}$	Spatial genetic	Coordinates	Confounded	Residual
SGN-U34200	Raw	Euclidean	0.270*	0.053*	0.164	0.513
SGN-U34200	Raw	Stepping-stone	0.485*	0.025*	0.191	0.299
SGN-U34200	Patristic	Euclidean	0.289*	0.059*	0.136	0.516
SGN-U34200	Patristic	Stepping-stone	0.459*	0.021*	0.174	0.346
G3PDH	Raw	Euclidean	0.296*	0.012*	0.319	0.372
G3PDH	Raw	Stepping-stone	0.473*	0.009*	0.323	0.196
G3PDH	Patristic	Euclidean	0.301*	0.017	0.322	0.359
G3PDH	Patristic	Stepping-stone	0.460*	0.007	0.332	0.200

and 2D; those for all eight models we implemented are presented in Appendix S5. Maps of our MEMGENE analyses reveal consistent yet somewhat distinct patterns between the two genes analyzed. In both cases, points of different colors of largest sizes occur in the area of the Anegada Passage, suggesting that these are the most distinct populations. However, maps also differ, in particular with respect to the location of the midpoint of variation along the MEMGENE axis. For the SGN gene (Fig. 2C), this point appears to be somewhere in Central America, close to Costa Rica. For the G3PDH gene (Fig. 2D), the midpoint appears to be in the Yucatan Peninsula.

Our analyses consistently reveal that when the spatial component of variation is depicted by the stepping-stone model of dispersal, the variance explained by the model is larger compared to the spatial framework consisting of simple Euclidean distances among populations (Table 1). In the Mantel framework, the models with stepping-stone geographic distances have an average value of $\bar{r} = 0.68$ (min = 0.65, max = 0.71, $n = 4$), compared to those that use Euclidean distances $\bar{r} = 0.12$ (min = 0.11, max = 0.13, $n = 4$). When accounting for spatial autocorrelation using a MEMGENE approach, the spatial component of genetic variation is also consistently larger in models that use stepping-stone distances ($R^2 = 0.72$, min = 0.63, max = 0.80, $n = 4$) compared to Euclidean distances ($R^2 = 0.52$, min = 0.42, max = 0.62, $n = 4$).

In neither the Mantel nor the MEMGENE analyses did geographic distance explain a larger proportion of genetic variation

when phylogenetic structure is incorporated through the use of patristic distances as a measure of genetic distance, compared to models that use pairwise genetic distances alone (Table 1).

Geographic patterns in morphology

Data on *E. tithymaloides* inflorescence morphology support the reshaping of the cyathium along both range expansion fronts (cyathium length:width ratio: GA front: adj. $R^2 = 0.77$, $P < 0.0001$; LA front: adj. $R^2 = 0.62$, $P < 0.0001$; Fig. 3; for coefficients, see Appendix S6). Furthermore, the cyathia on both fronts have converged on a less elongate shape through different means—via a reduction of the involucre length in the GA front (Fig. 3B), and through an increase in cyathial height in the LA front (not shown). In contrast to changes in cyathium shape, plants along the GA and LA fronts do not show similar patterns of change in leaf shape (leaf length:width ratio: GA front: adj. $R^2 = 0.51$, $P < 0.002$; LA front: adj. $R^2 = 0.17$, $P = 0.58$; Fig. 4; Appendix S6), habit (shrub, treelet, succulence), or other vegetative traits, suggesting that selection involving reproduction may underlie cyathial patterns in morphology across the geographic range of *E. tithymaloides*.

Our analyses of the relationship of distance to the Anegada Passage in the context of PCA of cyathium and leaf data for mainland and Antillean populations reveal patterns of morphological differentiation between island and mainland populations. A vector of geographic distance was significantly related to variation in

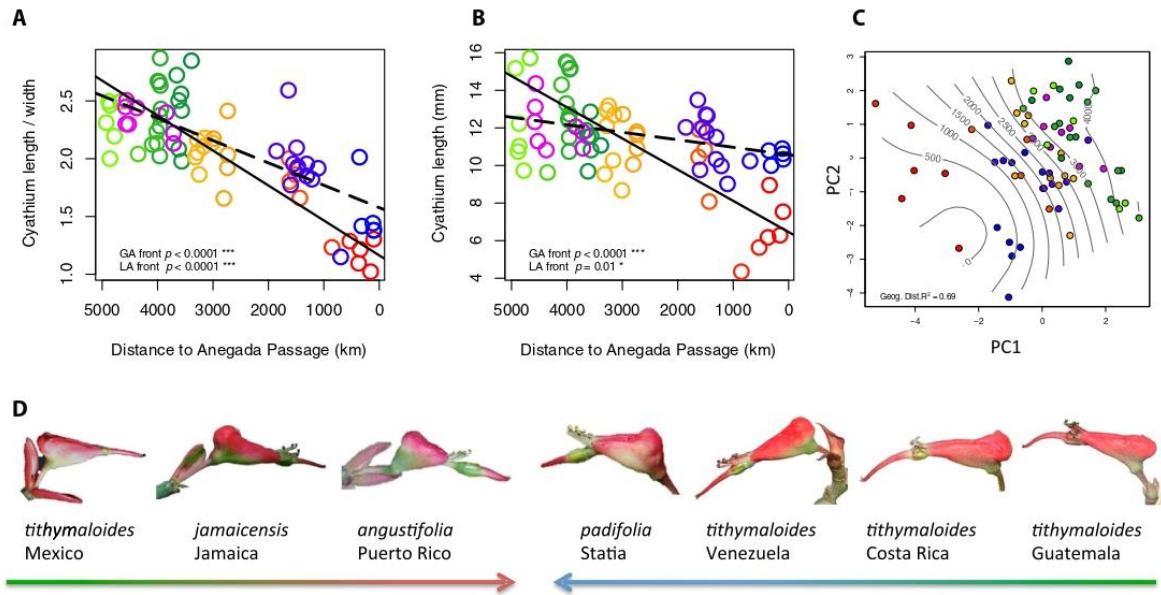


FIGURE 3. Geographic patterns in the morphology of the cyathium of *Euphorbia tithymaloides* in relation to distance from the Aneгада Passage along the two geographic expansion fronts, Greater Antillean (GA; solid line) and Lesser Antillean (LA; dotted line). (A) Cyathium length:height ratio and (B) cyathium length (simple linear regressions for A and B were implemented in R). (C) Principal component analysis plot of cyathium traits in relation to distance from Aneгада Passage; generalized additive modeling with thin plate splines to fit smooth surfaces on an ordination was implemented with the “ordisurf” function (Orme et al., 2013) in R. (D) Our analyses of geographic patterns of cyathium morphology support reshaping of the cyathium of *E. tithymaloides* toward structures with relatively less elongated involucres along both fronts of geographic expansion.

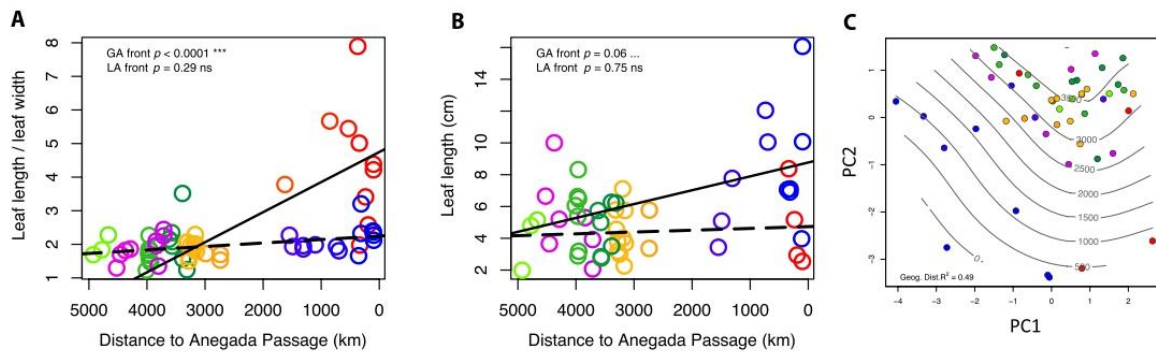


FIGURE 4. Geographic patterns in leaf morphology in *Euphorbia tithymaloides* in relation to distance from the Aneгада Passage do not reveal convergence in leaf morphology along the two geographic expansion fronts, Greater Antillean (GA; solid line) and Lesser Antillean (LA; dotted line). (A) Leaf length:width ratio and (B) leaf length (simple linear regressions were implemented in R). (C) PCA plot of leaf traits in relation to distance from Aneгада Passage; generalized additive modeling with thin plate splines to fit smooth surfaces on an ordination was implemented with the “ordisurf” function (Orme et al., 2013) in R.

morphology captured by PCA for both cyathium and leaf traits (cyathium $R^2 = 0.69$, $P < 0.001$; leaf $R^2 = 0.49$, $P < 0.001$), suggesting that the simple linear relationship between morphological variation and distance to the Aneгада Passage captures much of the variation. This is easily visualized in the plotted fit of geographic distance for PCA of both cyathium and leaf traits, which show clear, generally linear trends of distance across morphospace (Figs. 3C, 4C).

The first PCA axis of variation of cyathium traits is strongly correlated with cyathium length and overall area (Appendix S7). In the context of geography, our PCA analyses indicate that populations closer to the Aneгада Passage tend to have shorter cyathia, with a lower ratio of length to height, and a reduced overall size (Fig. 3). The second PCA axis of variation in cyathium traits distinguishes populations based on reduced cyathium height as well as reduced overall

size, and also corresponds to distance to the Anegada Passage. For leaf traits, the first PCA axis primarily reflected overall leaf size and did not correspond to distance from the Anegada Passage (Fig. 4). By contrast, the second PCA axis was oriented parallel to the fit of geographic distance and reflected a trend toward less lanceolate leaves (lower ratio of length to width) with more obtuse tips toward the Anegada Passage (Fig. 3D).

DISCUSSION

Taken together, our analyses support a scenario in which *E. tithymaloides* expanded its range from the mainland toward the Caribbean along two fronts, both characterized by convergent changes in floral morphology toward distinctively more compact cyathia with relatively shorter involucres.

Our PCoA, Mantel, and MEMGENE analyses of spatial patterns of genetic variation provide additional support for a two-fronted colonization of the Caribbean beyond that previously reported by phylogenetic analyses (Cacho and Baum, 2012). We show that models incorporating measures of geographic distance based on a two-fronted expansion through the Greater and Lesser Antilles and avoiding the Anegada Passage (i.e., with populations in close proximity to the Anegada Passage but belonging to different fronts having the greatest distance between them) explain a larger proportion of the genetic variance than models assuming simple Euclidean distances among populations. Our results are thus consistent with an island-hopping mode of geographic expansion along the Lesser and Greater Antillean colonization fronts. A scenario of multiple independent colonizations would be unlikely to result in support for a stepping-stone model over a simple Euclidean measure of geographic distance. Furthermore, multiple colonizations might also preclude a good fit of more isolated populations being more distinct from one another, which is the basic premise of IBD. Although previous phylogenetic analyses (Cacho and Baum, 2012) were useful in informing us on the general biogeographic pattern of range expansion in *E. tithymaloides*, the results of the present study did not conform to expectations of a strict phylogenetic structure to genetic distance on the landscape, in that models incorporating a patristic measure of genetic distances were no better than those modeling genetic differentiation as unstructured pairwise genetic distances. However, we acknowledge that this is a rather simplistic view of the process of divergence across space. The degree of genetic and phylogenetic structure might depend on the relationship between the rates of divergence and gene flow in *E. tithymaloides* across the overall Caribbean basin. Across a diversity of taxonomic groups and insular habitats, speciation rates conform to a general geographic model that includes both opportunity for divergence (modeled as geographic area) and intraspecific gene flow (Kisel and Barraclough, 2010). Our results are consistent with a two-fronted colonization of the Caribbean from the mainland through island hopping, and also with gene flow occurring among populations and across islands.

The present study documents convergence in floral morphology in *E. tithymaloides* toward cyathia with relatively shorter and more compact involucres in populations at the termini of both geographic expansion fronts. The resulting cyathia of Antillean populations are shorter and compact in comparison to the elongate slipper-shape characteristic of the mainland *Pedilanthus* clade in general. This pattern suggests that similar processes may have acted to shape cyathium traits in each lineage of *E. tithymaloides*. Our data and analyses do

not reveal similar shifts in leaf traits along the two expansion fronts of *E. tithymaloides* (leaf traits exhibit different patterns between the lineages), suggesting that forces shaping the convergence in floral morphology are related to reproduction rather than to changes related to shifts in general morphology that may reflect a common environmental setting in the Antilles (climate explains a rather small proportion of the variation in morphology; Appendix S8).

The shifts in floral morphology documented here are associated with terminal populations of both fronts that resemble each other in such a conspicuous fashion that they were proposed by Dressler (1957) to be “closely allied taxa.” However, current molecular data do not support these terminal populations being each other’s closest relative nor the free exchange of genes between them. Although cyathia in both the Greater and Lesser Antillean fronts converge on a similar more squarish shape (Fig. 3), they achieve this shape through different shifts in length or height. Populations in the Greater Antilles exhibit much shortened and smaller cyathia, while populations in the Lesser Antilles converge on a similar overall shape through proportionally smaller decreases in length in relation to the height of the cyathium, which also increases (Fig. 3) (see Dressler, 1957 for additional morphological patterns within the complex). What forces potentially underlie this convergence in floral shape? We outline three explanations, not mutually exclusive, of phenomena that could account for such parallel reshaping of the cyathia from the mainland toward the Antillean populations.

One potential explanation of convergence toward relatively shortened cyathia relies on the relative importance of insect versus hummingbird pollination. *Euphorbia tithymaloides*, as is typical of the *Pedilanthus* clade, is reported to be pollinated by hummingbirds (Dressler, 1957; Cacho et al., 2010; Veiga Blanco et al., 2013), in an otherwise typically insect-pollinated *Euphorbia* (Croizat, 1936; Webster, 1967). In at least one species of the *Pedilanthus* clade, *E. diazumanana*, reversal to bee pollination has been documented. This shift from hummingbird to hymenopteran pollination has been accompanied by a drastic shortening of cyathium and a noticeable loss of red coloration (Sahagún-Godínez and Lomelí-Senci6n, 1997). While no formal pollination studies exist in *E. tithymaloides*, in many populations bee (and other insect) visitation is common (N. Cacho, personal observation), suggesting that mixed pollination systems are possible in this species. Insular plant species have often been noted to exhibit shifts away from specialized pollinator relationships toward more generalized or wind pollination syndromes, attributed to lower pollinator diversity and availability in islands (Olesen et al., 2002; Mart6n-Rodr6guez et al., 2010). Also, there are reports of lower rates of hummingbird visitation in Caribbean insular populations of hummingbird-pollinated Gesneriaceae compared to mainland populations (Mart6n-Rodr6guez et al., 2009, 2010). A reduced availability of hummingbird pollinators on islands, or reduced availability of pollinators in general, could relax forces shaping cyathia to maintain their attractiveness to hummingbirds. Hummingbird-associated plants of lowland areas of the Antillean islands, where *E. tithymaloides* occurs, have been reported to have smaller flowers than their continental counterparts and to exhibit mixed entomophilous pollination (Feinsinger et al., 1982; Dalgaard et al., 2009). A trend toward reduced hummingbird availability in islands near the Anegada Passage, which are more isolated from the mainland, coupled with an increased importance of insect pollination, could account for the parallel trends of cyathium shortening that we observe in both the Lesser and Greater Antilles geographic fronts of *E. tithymaloides*.

Pollinator-mediated selection as a driver of floral convergence and the evolution of local cyathial forms could also arise via matching shifts in cyathium morphology and hummingbird traits (e.g., bill depth and shape). Classic work by David Lack (1973) and others suggests that Antillean islands support a number of distinctly short-billed hummingbird species that inhabit lower-elevation environments and that are associated with pollination of short-throated flowers (Lack, 1973; Brown and Brown, 1985; Dalsgaard et al., 2009). Convergence in floral shape associated with size and difference in hummingbird pollinators has been documented across islands in Antillean *Heliconia* (Martín-Rodríguez et al., 2011). Also, it has been shown that Antillean *Heliconia* exhibits intraspecific and interspecific variation in floral morphology associated with differences in bill curvature and length between male and female hummingbirds of the purple-throated carib, *Eulampis jugularis* (Temeles and Kress, 2003; Temeles et al., 2009). These results indicate that pollinators, specifically hummingbirds, can exert strong selection on floral morphology in the Antilles. A recent phylogenetic analysis across plant and hummingbird clades suggests that the hummingbird–plant association in the Caribbean may date to 5–9 mya (Abrahamczyk et al., 2015). More generally, because pollinator communities in islands tend to be subsets of those in nearby continental areas, available pollinators in insular habitats may exert strong selective pressures on insular plants (Barrett, 1996). However, trends in bill length are not clearly associated with proximity to the Anegada Passage: Puerto Rico, in close proximity to the Anegada Passage has the highest diversity of hummingbird species in the Antilles, with five resident species and a diversity of bill lengths (Lack, 1973; Lepage et al., 2014), although not all hummingbird species may overlap habitats where *E. tithymaloides* occurs. Further work assessing hummingbird presence and preferences in relation to *E. tithymaloides* across the Antilles would be needed to assess whether shifts in cyathium traits may be matching hummingbird traits.

A third explanation that could account for convergent reshaping of cyathia toward the Anegada Passage relies on shifts in breeding system. In particular, less conspicuous cyathia could follow the evolution of higher rates of (or shifts to) selfing following the colonization of the Antilles. In some systems, insularity has been associated with shifts to selfing, presumably due to factors such as small population size and reduced pollinator availability (Carlquist, 1974; Barrett, 1996). We see no seed set in our greenhouse plants of *E. tithymaloides* unless hand pollinated (N. Cacho, unpublished data), but with available data we cannot rule out the possibility of selfing in the field.

The three explanations we outline above are not mutually exclusive and may contribute jointly to changes in floral structure across the two geographic fronts of the *E. tithymaloides* ring species. Further work is needed to identify the relative importance of potential pollinators, selfing rates, and correspondence between pollinator availability and efficacy and floral traits across geography. Gene flow between the two fronts represents an additional potential explanation for floral similarity between the terminal populations. Although direct gene flow across the two geographic fronts is not supported by our existing data, we cannot rule out the possibility of selective flow of alleles related to floral traits across the chains of populations, which could result in a pattern of convergent reshaping of cyathia. Assessing the role of restricted introgression related to particular traits would require more extensive data allowing an assessment of introgression across the genome.

Our finding of convergent variation along the two fronts of a ring species in the Caribbean adds to the number of cases of parallel and repeated evolution reported from Antillean islands, in systems that include lizards, guppies, and tree frogs (Losos, 1992; Reznick et al., 1996; Moen and Wiens, 2009). Our results also bring attention to the idea that convergent and potential parallel evolution may be a more common feature of ring species than is currently recognized, as divergence around circular geographic barriers may extend along common environmental gradients (Irwin, 2009; Irwin et al., 2016). In addition, similar selective pressures indirectly associated with longitude, latitude, distance from the mainland, or elevation may mask divergence along expansion fronts of ring species, because they may result in counterintuitive patterns of genetic and morphological distance across space. In ring species, by definition, both geographic fronts come into secondary contact, setting the evolutionary table for a scenario of morphological convergence among distant populations based on shared environmental characteristics in the area of contact.

CONCLUSIONS

We document a pattern of convergent parallel evolution toward relatively shorter inflorescences (cyathia) in otherwise divergent Antillean populations of *E. tithymaloides*, the only plant system currently supported as an example of a ring species. We outline three potential explanations for factors that could underlie the shift of cyathia from elongated spur-like structures in continental populations of *E. tithymaloides*, to shorter and more compact cyathia in Antillean populations. Increased selfing rates, decreased importance of hummingbirds as effective pollinators, and close tracking of hummingbird bill traits by Antillean plants could all be invoked to explain the patterns we observe. Future work on this system linking floral traits with pollination biology across geography is necessary to disentangle among these and other potential factors that could be taking part in floral reshaping.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors thank funding by CONACyT (awards CB2015-0255829 and INFR2016 268109 to N.I.C.). This manuscript is part of M.M.S.'s master's research in the Biological Sciences Program at the Instituto de Biología de UNAM. We thank two anonymous reviewers for comments that greatly improved the manuscript.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

N.I.C. and P.J.M. conceived of the project. N.I.C. and M.M.S. collected morphological measurements. N.I.C., P.J.M., and M.M.S. designed and conducted statistical analyses. N.I.C. and P.J.M. wrote the paper.

DATA ACCESSIBILITY

Alignments and morphological and image data for this paper have been archived at Dryad Digital Repository: <https://doi.org/10.5061/dryad.24bb47s> (Cacho et al., 2019).

SUPPORTING INFORMATION

Additional Supporting Information may be found online in the supporting information tab for this article.

APPENDIX S1. GenBank accession numbers of sequences analyzed in this study.

APPENDIX S2. Map showing expectations of MEMGENE analyses under a ring species model.

APPENDIX S3. Measurements of cyathial and leaf traits.

APPENDIX S4. Biplots of pairwise and patristic genetic distances versus Euclidean and “stepping-stone” geographic distances for the eight models tested in this study.

APPENDIX S5. Plots of MEMGENE analyses for both genes used in this study.

APPENDIX S6. Coefficients of models of geographic patterns in morphological traits as a function of distance from Anegada Passage.

APPENDIX S7. PCA loadings cyathium and leaf data.

APPENDIX S8. The role of climate as a potential driver of geographic patterns in the morphological reshaping of the cyathium of *E. tithymaloides*.

LITERATURE CITED

- Abrahamczyk, S., D. Souto-Vilarós, J. A. Mcguire, and S. S. Renner. 2015. Diversity and clade ages of West Indian hummingbirds and the largest plant clades dependent on them: A 5–9 Myr young mutualistic system. *Biological Journal of the Linnean Society* 114: 848–859.
- Alcaide, M., E. S. C. Scordato, T. D. Price, and D. E. Irwin. 2014. Genomic divergence in a ring species complex. *Nature* 511: 83–85.
- Alexandrino, J., S. J. E. Baird, L. Lawson, J. R. Macey, C. Moritz, and D. B. Wake. 2005. Strong selection against hybrids at a hybrid zone in the *Ensatina* ring species complex and its evolutionary implications. *Evolution* 59: 1334–1347.
- Ashlock, D., E. L. Clare, T. E. von Königslów, and W. Ashlock. 2010. Evolution and instability in ring species complexes: an in silico approach to the study of speciation. *Journal of Theoretical Biology* 264: 1202–1213.
- Baker, M. A. 2016. Morphological and cytological analyses in *Cylindropuntia* (Cactaceae): the taxonomic circumscription of *C. echinocarpa*, *C. multigeniculata*, and *C. whipplei*. *J. Bot. Res. Inst. Texas* 10: 325–343.
- Barrett, S. C. H. 1996. The reproductive biology and genetics of island plants. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 351: 725–733.
- Bensch, S., M. Grahn, N. Müller, L. Gay, and S. Akesson. 2009. Genetic, morphological, and feather isotope variation of migratory willow warblers show gradual divergence in a ring. *Molecular Ecology* 18: 3087–3096.
- Bowen, B. W., A. L. Bass, L. A. Rocha, W. S. Grant, and D. R. Robertson. 2001. Phylogeography of the trumpetfishes (Aulostomus): Ring species complex on a global scale. *Evolution* 55: 1029–1039.
- Brown, J. H., and M. A. Brown. 1985. Community organization in hummingbirds: relationships between morphology and ecology. *The Auk* 102: 251–269.
- Cacho, N. I., and D. A. Baum. 2012. The Caribbean slipper spurge *Euphorbia tithymaloides*: the first example of a ring species in plants. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 279: 3377–3383.
- Cacho, N. I., P. E. Berry, M. E. Olson, V. W. Steinmann, and D. A. Baum. 2010. Are spurred cyathia a key innovation? Molecular systematics and trait evolution in the slipper spurges (Pedilanthus clade: *Euphorbia*, Euphorbiaceae). *American Journal of Botany* 97: 493–510.
- Cacho, N. I., M. Monteverde-Suarez, and P. J. McIntyre. 2019. Data from: Convergent evolution in floral morphology in a plant ring species, the Caribbean *Euphorbia tithymaloides*. Dryad Digital Repository. <https://doi.org/10.5061/dryad.24bb47s>.
- Carlquist, S. 1974. *Island Biology*. Columbia University Press, New York.
- Coyne, J. A., and H. A. Orr. 2004. *Speciation*. Sinauer Associates Inc, Sunderland, MA.
- Croizat, L. 1936. On the classification of *Euphorbia*. I. How important is the cyathium? *Bulletin of the Torrey Botanical Club*.
- Dalsgaard, B., A. M. Martín González, J. M. Olesen, J. Ollerton, A. Timmermann, L. H. Andersen, and A. G. Tossas. 2009. Plant-hummingbird interactions in the West Indies: Floral specialisation gradients associated with environment and hummingbird size. *Oecologia* 159: 757–766.
- de Brito Martins, A., and M. A. M. de Aguiar. 2016. Barriers to gene flow and ring species formation. *Evolution* 71: 442–448.
- De Sanctis, M., A. Adeeb, A. Farcomeni, C. Patriarca, A. Saed, and F. Attorre. 2013. Classification and distribution patterns of plant communities on Socotra Island, Yemen. *Applied Vegetation Science* 16: 148–165.
- Diniz-Filho, J. A. F., L. Mauricio Bini, T. Fernando Rangel, R. D. Loyola, C. Hof, D. Nogués-Bravo, and M. B. Araújo. 2009. Partitioning and mapping uncertainties in ensembles of forecasts of species turnover under climate change. *Ecography* 32: 897–906.
- Dressler, R. L. 1957. *The genus Pedilanthus (Euphorbiaceae)*. Cambridge MA.
- Feder, J. L., S. P. Egan, and P. Nosil. 2012. The genomics of speciation-with-gene-flow. *Trends in Genetics* 28: 342–350.
- Feinsinger, P., J. A. Wolfe, and L. A. Swam. 1982. Island ecology: reduced hummingbird diversity and the pollination biology of plants, Trinidad and Tobago, West Indies. *Ecology* 63: 494–506.
- Flaxman, S. M., J. L. Feder, and P. Nosil. 2013. Genetic hitchhiking and the dynamic buildup of genomic divergence during speciation with gene flow. *Evolution* 67: 2577–2591.
- Foote, A. D. 2018. Sympatric Speciation in the Genomic Era. *Trends in Ecology and Evolution* 33: 85–95.
- Galpern, P., P. R. Peres-Neto, J. Polfus, and M. Manseau. 2014. MEMGENE: Spatial pattern detection in genetic distance data. *Methods in Ecology and Evolution* 5: 1116–1120.
- Guillot, G., and F. Rousset. 2013. Dismantling the Mantel tests. *Methods in Ecology and Evolution* 4: 336–344.
- Guillot, G., R. Leblois, A. Coulon, and A. C. Frantz. 2009. Statistical methods in spatial genetics. *Molecular Ecology* 18: 4734–4756.
- Hijmans, R. J., E. Williams, and C. Vennes. 2017. *geosphere: Spherical Trigonometry*. R package version 1.5-7.
- Irwin, D. E. 2002. Phylogeographic Breaks Without Geographic Barriers To Gene Flow. *Evolution* 56: 2383–2394.
- Irwin, D. E. 2009. Incipient ring speciation revealed by a migratory divide. *Molecular Ecology* 18: 2923–2925.
- Irwin, D. E., and J. H. Irwin. 2002. Circular overlaps: Rare demonstrations of speciation. *Auk* 119: 596–602.
- Irwin, D. E., J. H. Irwin, and T. D. Price. 2001. Ring species as bridges between microevolution and speciation. *Genetica* 112–113: 223–243.
- Irwin, D. E., M. Alcaide, K. E. Delmore, J. H. Irwin, and G. L. Owens. 2016. Recurrent selection explains parallel evolution of genomic regions of high relative but low absolute differentiation in a ring species. *Molecular Ecology* 25: 4488–4507.
- Jombart, T., S. Devillard, A. B. Dufour, and D. Pontier. 2008. Revealing cryptic spatial patterns in genetic variability by a new multivariate method. *Heredity* 101: 92–103.
- Kisel, Y., and T. G. Barraclough. 2010. Speciation has a spatial scale that depends on levels of gene flow. *The American Naturalist* 175: 316–334.
- Kuchta, S. R., and D. B. Wake. 2016. Wherefore and whither the ring species? *Copeia* 104: 189–201.
- Lack, D. 1973. The numbers of species of hummingbirds in the West Indies. *Evolution* 27: 326–337. Available at: <http://www.jstor.org/pss/2406972>.
- Legendre, P., and L. Legendre. 1998. *Numerical Ecology*. Elsevier: The Netherlands.

- Lepage, D., G. Vaidya, and R. Guralnick. 2014. Avibase - A database system for managing and organizing taxonomic concepts. *ZooKeys* 420: 117–135.
- Liebers, D., P. de Knijff, and A. J. Helbig. 2004. The herring gull complex is not a ring species. *Proceedings of the Biological Sciences* 271: 893–901.
- Losos, J. 1992. The evolution of convergent structure in Caribbean *Anolis* communities. *Systematic Biology* 41: 403–420.
- Martín-Rodríguez, S., A. Almarales-Castro, and C. B. Fenster. 2009. Evaluation of pollination syndromes in Antillean Gesneriaceae: Evidence for bat, hummingbird and generalized flowers. *Journal of Ecology* 97: 348–359.
- Martín-Rodríguez, S., C. B. Fenster, I. Agnarsson, L. E. Skog, and E. A. Zimmer. 2010. Evolutionary breakdown of pollination specialization in a Caribbean plant radiation. *New Phytologist* 188: 403–417.
- Martín-Rodríguez, S., W. J. Kress, E. J. Temeles, and E. Meléndez-Ackerman. 2011. Plant-pollinator interactions and floral convergence in two species of *Heliconia* from the Caribbean Islands. *Oecologia* 167: 1075–1083.
- Martin, S. H., K. K. Dasmahapatra, N. J. Nadeau, C. Salazar, J. R. Walters, F. Simpson, M. Blaxter, et al. 2013. Genome-wide evidence for speciation with gene flow in *Heliconius* butterflies. *Genome Research* 23: 1817–1828.
- Martins, A. B., M. A. M. de Aguiar, and Y. Bar-Yam. 2013. Evolution and stability of ring species. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 110: 5080–5084.
- Mayr, E. 1942. Systematics and the origin of species. Columbia University Press, New York, NY.
- McArdle, B. H., and M. J. Anderson. 2001. Fitting multivariate models to community data: a comment on distance-based redundancy analysis. *Ecology* 82: 290–297.
- Moen, D. S., and J. J. Wiens. 2009. Phylogenetic evidence for competitively driven divergence: Body-size evolution in caribbean treefrogs (Hylidae: *Osteopilus*). *Evolution* 63: 195–214.
- Oksanen, J., G. Blanchet, M. Friendly, R. Kindt, P. Legendre, D. McGlinn, P. R. Minchin, et al. 2018. vegan: Community Ecology Package. R package version 2.4-6.
- Olesen, J. M., L. I. Eskildsen, and S. Venkatasamy. 2002. Invasion of pollination networks on oceanic islands: Importance of invader complexes and endemic super generalists. *Diversity and Distributions* 8: 181–192.
- Orme, C. D. L., R. P. Freckleton, G. H. Thomas, T. Petzoldt, and S. A. Fritz. 2013. Caper: comparative analyses of phylogenetics and evolution in R.
- Paradis, E., and K. Schliep. 2018. ape 5.0: an environment for modern phylogenetics and evolutionary analyses in R. *Bioinformatics* 35: 526–528.
- Paradis, E., J. Claude, and K. Strimmer. 2004. APE: Analyses of phylogenetics and evolution in R language. *Bioinformatics* 20: 289–290.
- Pereira, R. J., and D. B. Wake. 2009. Genetic leakage after adaptive and non-adaptive divergence in the *Ensatina eschscholtzii* ring species. *Evolution* 63: 2288–2301.
- R Development Core Team. 2018. R: A Language and Environment for Statistical Computing. *R Foundation for Statistical Computing*.
- Revell, L. J. 2012. phytools: An R package for phylogenetic comparative biology (and other things). *Methods in Ecology and Evolution* 3: 217–223.
- Reznick, D. N., F. Helen Rodd, and M. Cardenas. 1996. Life-history evolution in guppies *Poecilia reticulata*: Poeciliidae). IV. Parallelism in life-history phenotypes. *The American Naturalist* 147: 319–338.
- Sahagún-Godínez, E., and J. A. Lomeli-Sención. 1997. *Pedilanthus diazlananus* (Euphorbiaceae): Pollination by hymenopterans in a bird-pollinated genus. *American Journal of Botany* 84: 1584–1587.
- Schindelin, J., C. T. Rueden, M. C. Hiner, and K. W. Eliceiri. 2015. The ImageJ ecosystem: an open platform for biomedical image analysis. *Molecular Reproduction and Development* 82: 518–529.
- Scordato, E. S. C. 2017. Geographical variation in male territory defence strategies in an avian ring species. *Animal Behaviour* 126: 153–162.
- Scordato, E. S. C. 2018. Male competition drives song divergence along an ecological gradient in an avian ring species. *Evolution* 72: 2360–2377.
- Shirk, A. J., E. L. Landguth, and S. A. Cushman. 2018. A comparison of regression methods for model selection in individual-based landscape genetic analysis. *Molecular Ecology Resources* 18: 55–67.
- Steinmann, V. W., and J. M. Porter. 2002. Phylogenetic relationships in Euphorbiae (Euphorbiaceae) based on its and ndhF sequence data. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 89: 453–490.
- Temeles, E. J., and W. J. Kress. 2003. Adaptation in a plant-hummingbird association. *Science* 300: 630–633.
- Temeles, E. J., C. R. Koulouris, S. E. Sander, and W. J. Kress. 2009. Effect of flower shape and size on foraging performance and trade-offs in a tropical hummingbird. *Ecology* 90: 1147–1161.
- Veiga Blanco, T., L. Galetto, and I. C. Machado. 2013. Nectar regulation in *Euphorbia tithymaloides* L., a hummingbird-pollinated Euphorbiaceae. *Plant Biology* 15: 910–918.
- Vijay, N. 2017. Digest: Why are there no ring species? *Evolution* 71: 501–502.
- Ward, D. 2011. Population differentiation in a purported ring species, *Acacia karroo* (Mimosoideae). *Biological Journal of the Linnean Society* 104: 748–755.
- Webster, G. L. 1967. The genera of Euphorbiaceae in the Southeastern United States. *Journal of the Arnold Arboretum* 48: 303–361.
- Wickham, H. 2016. ggplot 2: Elegant graphics for data analysis. Springer.

APPENDIX 1. Summary of populations of *Euphorbia tithymaloides* included in morphological analyses in this study. Collection numbers correspond to NIC numbers (Natalia Ivalú Cacho) unless otherwise indicated (BH = Barry Hammel). Population assignment to the Mainland (ML), the Greater Antillean (GA), or the Lesser Antillean (LA) front and herbarium numbers for individual sheets from which data were derived are available in the Supplemental Material with this study (see Cacho et al., 2019).

n	Population identifier	Country	Distance from Anegada Passage (km)	Dataset	Collection number
1	akumal.groo	Mexico	2804.882	MEXU	NA
2	allighole	Jamaica	1512.379	field	84
3	anzoategui	Venezuela	1308.851	field	129
4	araya	Venezuela	1102.985	field	98
5	barbados	Barbados	736.412	field	614
6	bullbay	Jamaica	1432.075	field	82
7	caguesan	Costa Rica	3712.938	field	294
8	cahui1	Guatemala	3280.335	field	372
9	cahui2	Guatemala	3280.335	field	381
10	cambur	Venezuela	1638.683	field	280
11	candelaria.camp	Mexico	3312.43	MEXU	NA
12	care	Venezuela	1482.513	field	157
13	carmelas	Mexico	3148.983	field	517
14	carmelas8.camp	Mexico	3168.648	MEXU	NA
15	carolina	Puerto Rico	236.874	field	555
16	cayo.belize	Belize	3319.379	MEXU	NA
17	chimanas	Venezuela	1214.754	field	115
18	cobgut1	St. John	100.669	field	53
19	coro	Venezuela	1854.311	field	229
20	corozal.chis	Mexico	3388.612	MEXU	NA
21	cr_tempisque	Costa Rica	3803.838	field	BH_25117
22	dompneste	Rep. Dom.	531.003	field	70
23	dompnjaragua	Rep. Dom.	852.558	field	73
24	dosnaciones.camp	Mexico	3189.574	MEXU	NA
25	ebano.slp	Mexico	4778.636	MEXU	NA
26	eng.creek.belize	Belize	3194.915	MEXU	NA
27	estudiante.oax	Mexico	4096.878	MEXU	NA
28	fishbay	St. John	154.847	field	51
29	guacamayo	Venezuela	1468.526	field	204
30	guadeloupe_D122	Guadeloupe	101.213	field	579
31	guamare	Venezuela	1308.851	field	141
32	guanica.cedro2	Puerto Rico	344.526	field	65
33	guanica.cobadas	Puerto Rico	335.63	field	63
34	guaniquilla	Puerto Rico	371.49	field	46
35	guiengola.A	Mexico	3955.8	MEXU	NA
36	guiengola.B	Mexico	3952.437	MEXU	NA
37	guiengola.C	Mexico	3956.419	MEXU	NA
38	guija	Guatemala	4562.696	field	347
39	hacha1	Costa Rica	3841.329	field	311
40	hacha2	Costa Rica	3841.329	field	323
41	lasmilas.guate	Guatemala	4457.49	MEXU	NA
42	littlebay	Jamaica	1616.458	field	88
43	majahual	Mexico	2991.303	field	531
44	mante.tamps	Mexico	4860.302	MEXU	NA
45	metapan.salvador	Salvador	4373.316	MEXU	NA
46	minahill	St. John	100.669	field	59
47	mita.guate	Guatemala	4523.184	MEXU	NA
48	mujica.chis	Mexico	3654.519	MEXU	NA
49	nacimiento.tamps	Mexico	4860.769	MEXU	NA
50	nanches.oax	Mexico	3973.269	MEXU	NA
51	narcisomdz.camp	Mexico	3156.83	MEXU	NA
52	negril	Jamaica	1624.662	field	92
53	nenton	Guatemala	3570.755	field	415
54	nizanda	Mexico	3938.918	field	494
55	placer.groo	Mexico	3007.132	MEXU	NA
56	playon	Venezuela	1598.722	field	247
57	plomo	Costa Rica	3712.938	field	281

(Continued)

APPENDIX 1. (Continued)

n	Population identifier	Country	Distance from Anegada Passage (km)	Dataset	Collection number
58	portenfer1	Guadeloupe	312.841	field	589
59	portenfer2	Guadeloupe	314.934	field	589.1
60	ptchteaux	Guadeloupe	356.451	field	609
61	pte.nacional	Mexico	4350.085	MEXU	NA
62	ptevictoria	Venezuela	1490.456	field	185
63	pto.morelos.A	Mexico	2735.79	MEXU	NA
64	pto.morelos.B	Mexico	2733.859	MEXU	NA
65	quebrada_vieques	Vieques	191.94	field	60
66	reitoca.honduras	Honduras	4288.035	MEXU	NA
67	remate.guate	Guatemala	3302.367	MEXU	NA
68	riohondo_guate	Guatemala	4572.047	field	360
69	riohondo_mex1	Mexico	3993.24	field	476
70	riohondo_mex2	Mexico	3951.212	field	486
71	secreto	Mexico	2739.455	field	538
72	servilleta.tamps	Mexico	4882.124	MEXU	NA
73	slp_taninul	Mexico	4666.673	field	434
74	starita.camp	Mexico	3385.628	MEXU	NA
75	statia	Statia	113.687	field	569
76	stcroix.rd85	St.Croix	97.599	field	76
77	stcroix.springut	St.Croix	97.599	field	75
78	stvincent	St. Vincent	695.718	field	621
79	taninulB.slp	Mexico	4776.472	MEXU	NA
80	tehuantepec.A	Mexico	3957.856	MEXU	NA
81	tehuantepec.B	Mexico	3967.421	MEXU	NA
82	tehuantepec.C	Mexico	3964.018	MEXU	NA
83	tehuantepec.D	Mexico	3960.219	MEXU	NA
84	trinitaria.chis	Mexico	3564.861	MEXU	NA
85	trinitariaB.chis	Mexico	3564.861	MEXU	NA
86	tumeremo	Venezuela	1547.455	field	172
87	tzimol	Mexico	3576.362	field	507
88	tzimolA.chis	Mexico	3618.996	MEXU	NA
89	tzimolB.chis	Mexico	3618.996	MEXU	NA
90	tzimolC.chis	Mexico	3572.275	MEXU	NA
91	uaxantun	Guatemala	3248.528	field	391
92	vistahermosa	Mexico	4926	field	451
93	yautepecA.oax	Mexico	4014.616	MEXU	NA
94	yautepecB.oax	Mexico	4010.639	MEXU	NA
95	zacapa.guate	Guatemala	4580.519	MEXU	NA

Anexo 2. Individuos por gen (las coordenadas se presentan con Datum WGS84).

Población/Localidad	Latitud	Longitud	Individuo	SGN-U34200	G3PDH
Allighole, Jamaica	17.8681167	-77.391983	e113	Homocigoto	Heterocigoto
Allighole, Jamaica	17.8681167	-77.391983	e114	Heterocigoto	Heterocigoto
Araya, Venezuela	10.6364722	-63.6579167	e339	Heterocigoto	Homocigoto
Araya, Venezuela	10.6364722	-63.6579167	e340	Heterocigoto	Heterocigoto
Bahamas	21.75528	-71.748714	btd446	Homocigoto	Heterocigoto
Bahamas	21.75528	-71.748714	btd447	Heterocigoto	Heterocigoto
Bahamas	21.75528	-71.748714	btd448	Homocigoto	Heterocigoto
Bahamas	21.75528	-71.748714	btd449	Heterocigoto	Heterocigoto
Bahamas	21.75528	-71.748714	btd450	Homocigoto	N/A
Bahamas	21.75528	-71.748714	e132	Homocigoto	Homocigoto
Barbados	13.20580556	-59.52419444	e333	Homocigoto	Homocigoto
Barbados	13.20580556	-59.52419444	e334	Homocigoto	Heterocigoto
Barbados	13.20580556	-59.52419444	e335	Homocigoto	Heterocigoto
Bullbay, Jamaica	18.2479833	-78.359	e109	Homocigoto	Homocigoto
Bullbay, Jamaica	18.2479833	-78.359	e110	Homocigoto	Homocigoto
Bullbay, Jamaica	18.2479833	-78.359	e111	Heterocigoto	Homocigoto
Caguesan, Costa Rica	9.75866667	-84.297	e196	Homocigoto	Homocigoto
Caguesan, Costa Rica	9.75866667	-84.297	e197	N/A	Homocigoto
Caguesan, Costa Rica	9.75866667	-84.297	e198	Homocigoto	Homocigoto
Caguesan, Costa Rica	9.75866667	-84.297	e199	Homocigoto	Heterocigoto
Cahui, Guatemala	16.9986111	-89.717	e140	Heterocigoto	N/A
Cahui, Guatemala	16.9986111	-89.717	e219	Heterocigoto	N/A
Cahui, Guatemala	16.9986111	-89.717	e221	Heterocigoto	Heterocigoto
Carmelas, México	18.1474722	-89.4146944	e288	Homocigoto	Heterocigoto
Carmelas, México	18.1474722	-89.4146944	e289	Homocigoto	Heterocigoto
Carmelas, México	18.1474722	-89.4146944	e291	N/A	Homocigoto
Carolina, Puerto Rico	18.4083333	-65.9333333	e304	Homocigoto	Homocigoto
Carolina, Puerto Rico	18.4083333	-65.9333333	e305	Homocigoto	Homocigoto
Carolina, Puerto Rico	18.4083333	-65.9333333	e306	Homocigoto	Homocigoto
Carolina, Puerto Rico	18.4083333	-65.9333333	e307	Homocigoto	Homocigoto
Carolina, Puerto Rico	18.4083333	-65.9333333	e308	Homocigoto	Homocigoto
Chateux	16.254125	-61.23126111	e328	Homocigoto	Homocigoto
Chateux	16.254125	-61.23126111	e329	Homocigoto	Homocigoto
Chateux	16.254125	-61.23126111	e330	Homocigoto	Homocigoto
Chimanas, Venezuela	10.2481944	-64.5479444	e193	Heterocigoto	Homocigoto
Chimanas, Venezuela	10.2481944	-64.5479444	e194	N/A	Homocigoto
Chimanas, Venezuela	10.2481944	-64.5479444	e195	Homocigoto	Homocigoto
Playa El Secreto, México	20.7809722	-86.9501111	e352	Homocigoto	Heterocigoto
Playa El Secreto, México	20.7809722	-86.9501111	e353	Homocigoto	Homocigoto
Playa El Secreto, México	20.7809722	-86.9501111	e354	Heterocigoto	Heterocigoto
Guacamayos, Venezuela	7.87919444	-62.24775	e342	Homocigoto	Homocigoto
Guacamayos, Venezuela	7.87919444	-62.24775	e343	Heterocigoto	Heterocigoto
Guacamayos, Venezuela	7.87919444	-62.24775	e344	Homocigoto	Homocigoto
Guanica, Puerto Rico	17.98713	-66.88104	e060	Heterocigoto	Homocigoto
Guanica, Puerto Rico	17.98713	-66.88104	e061	Homocigoto	Homocigoto
Guanica, Puerto Rico	17.98713	-66.88104	e062	Heterocigoto	Homocigoto
Guanica, Puerto Rico	17.98713	-66.88104	e063	Heterocigoto	Homocigoto

Población/Localidad	Latitud	Longitud	Individuo	SGN-U34200	G3PDH
Guanica, Puerto Rico	17.98713	-66.88104	e064	Heterocigoto	Homocigoto
Guanica, Puerto Rico	17.98713	-66.88104	e065	Homocigoto	Homocigoto
Guanica, Puerto Rico	17.98713	-66.88104	e066	Homocigoto	Homocigoto
Guanica, Puerto Rico	17.98713	-66.88104	e067	Homocigoto	Homocigoto
Guanica, Puerto Rico	17.98713	-66.88104	e068	Homocigoto	Homocigoto
Guanica, Puerto Rico	17.98713	-66.88104	e069	Heterocigoto	Homocigoto
Guanica, Puerto Rico	17.98713	-66.88104	e070	Heterocigoto	Homocigoto
Guanica, Puerto Rico	17.98713	-66.88104	e071	Heterocigoto	Homocigoto
Guanica, Puerto Rico	17.98713	-66.88104	e072	Homocigoto	Homocigoto
Guanica, Puerto Rico	17.98713	-66.88104	e073	Homocigoto	Homocigoto
Guanica, Puerto Rico	17.98713	-66.88104	e074	Homocigoto	Homocigoto
Guanica, Puerto Rico	17.98713	-66.88104	e075	Heterocigoto	Homocigoto
Guaniquilla, Puerto Rico	18.03777	-67.19954	e099	Homocigoto	Homocigoto
Guaniquilla, Puerto Rico	18.03777	-67.19954	e100	Homocigoto	Homocigoto
Guaniquilla, Puerto Rico	18.03777	-67.19954	e101	Homocigoto	Homocigoto
Guaniquilla, Puerto Rico	18.03777	-67.19954	e102	Homocigoto	Homocigoto
Guiengola, México	16.36674	-95.32304	e021	Heterocigoto	Heterocigoto
Guija, Guatemala	14.27175	-89.6475556	e139	Heterocigoto	N/A
Guija, Guatemala	14.27175	-89.6475556	e200	Homocigoto	Heterocigoto
Guija, Guatemala	14.27175	-89.6475556	e201	Homocigoto	N/A
Guija, Guatemala	14.27175	-89.6475556	e202	Heterocigoto	N/A
Hacha, Costa Rica	10.9939444	-85.5204167	e212	Homocigoto	Homocigoto
Hacha, Costa Rica	10.9939444	-85.5204167	e213	Homocigoto	Homocigoto
Hacha, Costa Rica	10.9939444	-85.5204167	e214	N/A	Homocigoto
Jaragua, República Dominicana	17.7915	-71.4623167	e103	Homocigoto	Homocigoto
Jaragua, República Dominicana	17.7915	-71.4623167	e104	Homocigoto	Homocigoto
Jaragua, República Dominicana	17.7915	-71.4623167	e105	Homocigoto	Homocigoto
Jaragua, República Dominicana	17.7915	-71.4623167	e106	Homocigoto	Homocigoto
Majahual, México	18.7166667	-87.7166667	e294	N/A	Heterocigoto
Majahual, México	18.7166667	-87.7166667	e295	Homocigoto	N/A
Negril, Jamaica	18.2479833	-78.359	e184	Heterocigoto	Homocigoto
Negril, Jamaica	18.2479833	-78.359	e185	Heterocigoto	Heterocigoto
Nenton, Guatemala	15.7701389	-91.8419444	e336	Heterocigoto	N/A
Nenton, Guatemala	15.7701389	-91.8419444	e337	Heterocigoto	N/A
Nizanda, México	16.6610278	-95.0116944	e277	Heterocigoto	Homocigoto
Nizanda, México	16.6610278	-95.0116944	e279	Heterocigoto	Homocigoto
Playón, Venezuela	10.4906389	-67.7795278	e346	Homocigoto	Heterocigoto
Playón, Venezuela	10.4906389	-67.7795278	e347	Heterocigoto	Homocigoto
Port d'Enfer	17.5171667	-62.99175	e323	Heterocigoto	Homocigoto
Port d'Enfer	17.5171667	-62.99175	e324	Homocigoto	Homocigoto
Port d'Enfer	17.5171667	-62.99175	e325	Heterocigoto	Homocigoto
Port d'Enfer	17.5171667	-62.99175	e326	Homocigoto	Homocigoto
Port d'Enfer	17.5171667	-62.99175	e327	Homocigoto	Homocigoto
Río Hondo, Guatemala	15.0313333	-89.5871667	e216	N/A	Homocigoto
Río Hondo, Guatemala	15.0313333	-89.5871667	e218	Heterocigoto	Heterocigoto
Río Hondo, México	16.4257222	-95.8251111	e265	Heterocigoto	Heterocigoto

Población/Localidad	Latitud	Longitud	Individuo	SGN-U34200	G3PDH
Río Hondo, México	16.4257222	-95.8251111	e266	N/A	Heterocigoto
Río Hondo, México	16.4257222	-95.8251111	e267	Heterocigoto	Homocigoto
San Luis Potosí, México	21.9545556	-98.8891944	e204	Heterocigoto	Heterocigoto
San Luis Potosí, México	21.9545556	-98.8891944	e209	Homocigoto	Homocigoto
San Luis Potosí, México	21.9545556	-98.8891944	e210	Heterocigoto	Homocigoto
St. Croix	17.6868333	-64.88285	e107	Homocigoto	Homocigoto
St. Croix	17.6868333	-64.88285	e108	Heterocigoto	Homocigoto
St. Croix	17.6868333	-64.88285	e205	Homocigoto	Homocigoto
St. Croix	17.6868333	-64.88285	e206	Homocigoto	Homocigoto
St. John	18.3171167	-64.7098	e087	Homocigoto	Homocigoto
St. John	18.3171167	-64.7098	e088	Homocigoto	Homocigoto
St. John	18.3171167	-64.7098	e089	Homocigoto	Homocigoto
St. John	18.3171167	-64.7098	e090	Homocigoto	Homocigoto
Statia	17.51725	-62.991722	e311	Homocigoto	Homocigoto
Statia	17.51725	-62.991722	e312	Homocigoto	Homocigoto
Statia	17.51725	-62.991722	e313	Homocigoto	Homocigoto
Statia	17.51725	-62.991722	e314	Homocigoto	Homocigoto
Statia	17.51725	-62.991722	e315	Homocigoto	Homocigoto
Statia	17.51725	-62.991722	e316	Homocigoto	Homocigoto
Statia	17.51725	-62.991722	e317	Homocigoto	Homocigoto
Statia	17.51725	-62.991722	e318	Homocigoto	Homocigoto
Statia	17.51725	-62.991722	e319	Homocigoto	Homocigoto
Statia	17.51725	-62.991722	e320	Homocigoto	Homocigoto
Tumeremo, Venezuela	7.42977778	-61.491861	e135	Heterocigoto	N/A
Tzimol, México	16.1126944	-92.208028	e282	Heterocigoto	N/A
Tzimol, México	16.1126944	-92.208028	e283	Heterocigoto	N/A
Tzimol, México	16.1126944	-92.208028	e284	Heterocigoto	N/A
Uaxantun, Guatemala	17.4020833	-89.652917	e223	N/A	Homocigoto
Uaxantun, Guatemala	17.4020833	-89.652917	e224	Heterocigoto	Homocigoto
Uaxantun, Guatemala	17.4020833	-89.652917	e225	N/A	Homocigoto
Uaxantun, Guatemala	17.4020833	-89.652917	e226	Homocigoto	Heterocigoto
Yuma, República Dominicana	18.35985	-68.62095	e349	Homocigoto	Homocigoto
Yuma, República Dominicana	18.35985	-68.62095	e350	Homocigoto	Homocigoto
Yuma, República Dominicana	18.35985	-68.62095	e351	Homocigoto	Homocigoto

Anexo 3. Asignación genética los alelos concatenados bajo los distintos escenarios evaluados.

Alelo	Localidad	X	Y	Filogenético	Continente vs. Isla	Geográfico	Structure
btd446.a1	Bahamas	21.75528	-71.748714	GA	Isla	GA	3
btd446.a2	Bahamas	21.75528	-71.748714	GA	Isla	GA	3
btd447.a1	Bahamas	21.75528	-71.748714	GA	Isla	GA	3
btd447.a2	Bahamas	21.75528	-71.748714	GA	Isla	GA	3
btd448.a1	Bahamas	21.75528	-71.748714	GA	Isla	GA	3
btd448.a2	Bahamas	21.75528	-71.748714	GA	Isla	GA	3
btd449.a1	Bahamas	21.75528	-71.748714	GA	Isla	GA	3
btd449.a2	Bahamas	21.75528	-71.748714	GA	Isla	GA	3
e021.a1	Guiengola, Mexico	16.36674	-95.32304	GA	Continente	Continente	2
e021.a2	Guiengola, Mexico	16.36674	-95.32304	GA	Continente	Continente	2
e060.a1	Guanica, Puerto Rico	17.98713	-66.88104	GA	Isla	GA	3
e060.a2	Guanica, Puerto Rico	17.98713	-66.88104	GA	Isla	GA	3
e061.a1	Guanica, Puerto Rico	17.98713	-66.88104	GA	Isla	GA	3
e061.a2	Guanica, Puerto Rico	17.98713	-66.88104	GA	Isla	GA	3
e062.a1	Guanica, Puerto Rico	17.98713	-66.88104	GA	Isla	GA	3
e062.a2	Guanica, Puerto Rico	17.98713	-66.88104	GA	Isla	GA	3
e063.a1	Guanica, Puerto Rico	17.98713	-66.88104	GA	Isla	GA	3
e063.a2	Guanica, Puerto Rico	17.98713	-66.88104	GA	Isla	GA	3
e064.a1	Guanica, Puerto Rico	17.98713	-66.88104	GA	Isla	GA	3
e064.a2	Guanica, Puerto Rico	17.98713	-66.88104	GA	Isla	GA	3
e065.a1	Guanica, Puerto Rico	17.98713	-66.88104	GA	Isla	GA	3
e065.a2	Guanica, Puerto Rico	17.98713	-66.88104	GA	Isla	GA	3
e066.a1	Guanica, Puerto Rico	17.98713	-66.88104	GA	Isla	GA	3
e066.a2	Guanica, Puerto Rico	17.98713	-66.88104	GA	Isla	GA	3
e067.a1	Guanica, Puerto Rico	17.98713	-66.88104	GA	Isla	GA	3
e067.a2	Guanica, Puerto Rico	17.98713	-66.88104	GA	Isla	GA	3
e068.a1	Guanica, Puerto Rico	17.98713	-66.88104	GA	Isla	GA	3
e068.a2	Guanica, Puerto Rico	17.98713	-66.88104	GA	Isla	GA	3
e069.a1	Guanica, Puerto Rico	17.98713	-66.88104	GA	Isla	GA	3
e069.a2	Guanica, Puerto Rico	17.98713	-66.88104	GA	Isla	GA	3
e070.a1	Guanica, Puerto Rico	17.98713	-66.88104	GA	Isla	GA	3
e070.a2	Guanica, Puerto Rico	17.98713	-66.88104	GA	Isla	GA	3
e071.a1	Guanica, Puerto Rico	17.98713	-66.88104	GA	Isla	GA	3
e071.a2	Guanica, Puerto Rico	17.98713	-66.88104	GA	Isla	GA	3
e072.a1	Guanica, Puerto Rico	17.98713	-66.88104	GA	Isla	GA	3
e072.a2	Guanica, Puerto Rico	17.98713	-66.88104	GA	Isla	GA	3
e073.a1	Guanica, Puerto Rico	17.98713	-66.88104	GA	Isla	GA	3
e073.a2	Guanica, Puerto Rico	17.98713	-66.88104	GA	Isla	GA	3
e074.a1	Guanica, Puerto Rico	17.98713	-66.88104	GA	Isla	GA	3
e074.a2	Guanica, Puerto Rico	17.98713	-66.88104	GA	Isla	GA	3
e075.a1	Guanica, Puerto Rico	17.98713	-66.88104	GA	Isla	GA	3
e075.a2	Guanica, Puerto Rico	17.98713	-66.88104	GA	Isla	GA	3

Alelo	Localidad	X	Y	Filogenético	Continente vs. Isla	Geográfico	Structure
e087.a1	St. John	18.3171167	-64.7098	GA	Isla	GA	3
e087.a2	St. John	18.3171167	-64.7098	GA	Isla	GA	3
e088.a1	St. John	18.3171167	-64.7098	GA	Isla	GA	3
e088.a2	St. John	18.3171167	-64.7098	GA	Isla	GA	3
e089.a1	St. John	18.3171167	-64.7098	GA	Isla	GA	3
e089.a2	St. John	18.3171167	-64.7098	GA	Isla	GA	3
e090.a1	St. John	18.3171167	-64.7098	GA	Isla	GA	3
e090.a2	St. John	18.3171167	-64.7098	GA	Isla	GA	3
e099.a1	Gquilla, Puerto Rico	18.03777	-67.19954	GA	Isla	GA	3
e099.a2	Gquilla, Puerto Rico	18.03777	-67.19954	GA	Isla	GA	3
e100.a1	Gquilla, Puerto Rico	18.03777	-67.19954	GA	Isla	GA	3
e100.a2	Gquilla, Puerto Rico	18.03777	-67.19954	GA	Isla	GA	3
e101.a1	Gquilla, Puerto Rico	18.03777	-67.19954	GA	Isla	GA	3
e101.a2	Gquilla, Puerto Rico	18.03777	-67.19954	GA	Isla	GA	3
e102.a1	Gquilla, Puerto Rico	18.03777	-67.19954	GA	Isla	GA	3
e102.a2	Gquilla, Puerto Rico	18.03777	-67.19954	GA	Isla	GA	3
e103.a1	Jaragua, Republica Dominicana	17.7915	-71.462317	GA	Isla	GA	3
e103.a2	Jaragua, Republica Dominicana	17.7915	-71.462317	GA	Isla	GA	3
e104.a1	Jaragua, Republica Dominicana	17.7915	-71.462317	GA	Isla	GA	3
e104.a2	Jaragua, Republica Dominicana	17.7915	-71.462317	GA	Isla	GA	3
e105.a1	Jaragua, Republica Dominicana	17.7915	-71.462317	GA	Isla	GA	3
e105.a2	Jaragua, Republica Dominicana	17.7915	-71.462317	GA	Isla	GA	3
e106.a1	Jaragua, Republica Dominicana	17.7915	-71.462317	GA	Isla	GA	3
e106.a2	Jaragua, Republica Dominicana	17.7915	-71.462317	GA	Isla	GA	3
e107.a1	St. Croix	17.6868333	-64.88285	LA	Isla	LA	1
e107.a2	St. Croix	17.6868333	-64.88285	LA	Isla	LA	1
e108.a1	St. Croix	17.6868333	-64.88285	GA	Isla	LA	2
e108.a2	St. Croix	17.6868333	-64.88285	LA	Isla	LA	1
e109.a1	Bullbay, Jamaica	18.2479833	-78.359	GA	Isla	GA	3
e109.a2	Bullbay, Jamaica	18.2479833	-78.359	GA	Isla	GA	3
e110.a1	Bullbay, Jamaica	18.2479833	-78.359	GA	Isla	GA	3
e110.a2	Bullbay, Jamaica	18.2479833	-78.359	GA	Isla	GA	3
e111.a1	Bullbay, Jamaica	18.2479833	-78.359	GA	Isla	GA	2
e111.a2	Bullbay, Jamaica	18.2479833	-78.359	GA	Isla	GA	3
e113.a1	Allighole, Jamaica	17.8681167	-77.391983	GA	Isla	GA	2
e113.a2	Allighole, Jamaica	17.8681167	-77.391983	GA	Isla	GA	2
e114.a1	Allighole, Jamaica	17.8681167	-77.391983	GA	Isla	GA	2
e114.a2	Allighole, Jamaica	17.8681167	-77.391983	GA	Isla	GA	3
e132.a1	Bahamas	21.75528	-71.748714	GA	Isla	GA	3
e132.a2	Bahamas	21.75528	-71.748714	GA	Isla	GA	3
e184.a1	Negril, Jamaica	18.2479833	-78.359	GA	Isla	GA	2
e184.a2	Negril, Jamaica	18.2479833	-78.359	GA	Isla	GA	2
e185.a1	Negril, Jamaica	18.2479833	-78.359	GA	Isla	GA	3
e185.a2	Negril, Jamaica	18.2479833	-78.359	GA	Isla	GA	2

Alelo	Localidad	X	Y	Filogenético	Continente vs. Isla	Geográfico	Structure
e193.a1	Chim., Venezuela	10.2481944	-64.547944	LA	Continente	Continente	1
e193.a2	Chim., Venezuela	10.2481944	-64.547944	LA	Continente	Continente	1
e195.a1	Chim., Venezuela	10.2481944	-64.547944	LA	Continente	Continente	1
e195.a2	Chim., Venezuela	10.2481944	-64.547944	LA	Continente	Continente	1
e196.a1	Caguesan, Costa Rica	9.75866667	-84.297	GA	Continente	Continente	2
e196.a2	Caguesan, Costa Rica	9.75866667	-84.297	GA	Continente	Continente	2
e198.a1	Caguesan, Costa Rica	9.75866667	-84.297	GA	Continente	Continente	2
e198.a2	Caguesan, Costa Rica	9.75866667	-84.297	GA	Continente	Continente	2
e199.a1	Caguesan, Costa Rica	9.75866667	-84.297	GA	Continente	Continente	2
e199.a2	Caguesan, Costa Rica	9.75866667	-84.297	GA	Continente	Continente	2
e204.a1	San Luis Potosi, Mexico	21.9545556	-98.889194	GA	Continente	Continente	2
e204.a2	San Luis Potosi, Mexico	21.9545556	-98.889194	GA	Continente	Continente	2
e205.a1	St. Croix	17.6868333	-64.88285	GA	Isla	LA	3
e205.a2	St. Croix	17.6868333	-64.88285	GA	Isla	LA	3
e206.a1	St. Croix	17.6868333	-64.88285	GA	Isla	LA	3
e206.a2	St. Croix	17.6868333	-64.88285	GA	Isla	LA	3
e209.a1	San Luis Potosi, Mexico	21.9545556	-98.889194	GA	Continente	Continente	2
e209.a2	San Luis Potosi, Mexico	21.9545556	-98.889194	GA	Continente	Continente	2
e210.a1	San Luis Potosi, Mexico	21.9545556	-98.889194	GA	Continente	Continente	2
e210.a2	San Luis Potosi, Mexico	21.9545556	-98.889194	GA	Continente	Continente	2
e212.a1	Hacha, Costa Rica	10.9939444	-85.520417	GA	Continente	Continente	2
e212.a2	Hacha, Costa Rica	10.9939444	-85.520417	GA	Continente	Continente	2
e213.a1	Hacha, Costa Rica	10.9939444	-85.520417	GA	Continente	Continente	2
e213.a2	Hacha, Costa Rica	10.9939444	-85.520417	GA	Continente	Continente	2
e224.a1	Uaxantun, Guatamala	17.4020833	-89.652917	GA	Continente	Continente	2
e224.a2	Uaxantun, Guatamala	17.4020833	-89.652917	Continente LA	Continente	Continente	2
e226.a1	Uaxantun, Guatamala	17.4020833	-89.652917	Continente LA	Continente	Continente	1
e226.a2	Uaxantun, Guatamala	17.4020833	-89.652917	Continente LA	Continente	Continente	1
e265.a1	Rio Hondo, Mexico	16.4257222	-95.825111	GA	Continente	Continente	2
e265.a2	Rio Hondo, Mexico	16.4257222	-95.825111	GA	Continente	Continente	2
e267.a1	Rio Hondo, Mexico	16.4257222	-95.825111	GA	Continente	Continente	2
e267.a2	Rio Hondo, Mexico	16.4257222	-95.825111	GA	Continente	Continente	2
e277.a1	Nizanda, Mexico	16.6610278	-95.011694	GA	Continente	Continente	2
e277.a2	Nizanda, Mexico	16.6610278	-95.011694	GA	Continente	Continente	2
e279.a1	Nizanda, Mexico	16.6610278	-95.011694	GA	Continente	Continente	2
e279.a2	Nizanda, Mexico	16.6610278	-95.011694	GA	Continente	Continente	2
e304.a1	Carolina, Puerto Rico	18.4083333	-65.933333	GA	Isla	GA	3
e304.a2	Carolina, Puerto Rico	18.4083333	-65.933333	GA	Isla	GA	3
e305.a1	Carolina, Puerto Rico	18.4083333	-65.933333	GA	Isla	GA	3
e305.a2	Carolina, Puerto Rico	18.4083333	-65.933333	GA	Isla	GA	3
e306.a1	Carolina, Puerto Rico	18.4083333	-65.933333	GA	Isla	GA	3
e306.a2	Carolina, Puerto Rico	18.4083333	-65.933333	GA	Isla	GA	3
e307.a1	Carolina, Puerto Rico	18.4083333	-65.933333	GA	Isla	GA	3
e307.a2	Carolina, Puerto Rico	18.4083333	-65.933333	GA	Isla	GA	3

Alelo	Localidad	X	Y	Filogenético	Continente vs. Isla	Geográfico	Structure
e308.a1	Carolina, Puerto Rico	18.4083333	-65.9333333	GA	Isla	GA	3
e308.a2	Carolina, Puerto Rico	18.4083333	-65.9333333	GA	Isla	GA	3
e311.a1	Statia	17.51725	-62.991722	LA	Isla	LA	2
e311.a2	Statia	17.51725	-62.991722	LA	Isla	LA	2
e312.a1	Statia	17.51725	-62.991722	LA	Isla	LA	2
e312.a2	Statia	17.51725	-62.991722	LA	Isla	LA	1
e313.a1	Statia	17.51725	-62.991722	LA	Isla	LA	2
e313.a2	Statia	17.51725	-62.991722	LA	Isla	LA	1
e314.a1	Statia	17.51725	-62.991722	LA	Isla	LA	2
e314.a2	Statia	17.51725	-62.991722	LA	Isla	LA	1
e315.a1	Statia	17.51725	-62.991722	LA	Isla	LA	2
e315.a2	Statia	17.51725	-62.991722	LA	Isla	LA	1
e316.a1	Statia	17.51725	-62.991722	LA	Isla	LA	2
e316.a2	Statia	17.51725	-62.991722	LA	Isla	LA	1
e317.a1	Statia	17.51725	-62.991722	LA	Isla	LA	2
e317.a2	Statia	17.51725	-62.991722	LA	Isla	LA	1
e318.a1	Statia	17.51725	-62.991722	LA	Isla	LA	2
e318.a2	Statia	17.51725	-62.991722	LA	Isla	LA	1
e319.a1	Statia	17.51725	-62.991722	LA	Isla	LA	2
e319.a2	Statia	17.51725	-62.991722	LA	Isla	LA	1
e320.a1	Statia	17.51725	-62.991722	LA	Isla	LA	2
e320.a2	Statia	17.51725	-62.991722	LA	Isla	LA	1
e323.a1	Port d'Enfer	17.5171667	-62.99175	LA	Isla	LA	2
e323.a2	Port d'Enfer	17.5171667	-62.99175	LA	Isla	LA	1
e324.a1	Port d'Enfer	17.5171667	-62.99175	LA	Isla	LA	2
e324.a2	Port d'Enfer	17.5171667	-62.99175	LA	Isla	LA	1
e325.a1	Port d'Enfer	17.5171667	-62.99175	LA	Isla	LA	2
e325.a2	Port d'Enfer	17.5171667	-62.99175	LA	Isla	LA	1
e326.a1	Port d'Enfer	17.5171667	-62.99175	LA	Isla	LA	2
e326.a2	Port d'Enfer	17.5171667	-62.99175	LA	Isla	LA	1
e327.a1	Port d'Enfer	17.5171667	-62.99175	LA	Isla	LA	2
e327.a2	Port d'Enfer	17.5171667	-62.99175	LA	Isla	LA	1
e328.a1	Chateux	16.254125	-61.231261	LA	Isla	LA	1
e328.a2	Chateux	16.254125	-61.231261	LA	Isla	LA	1
e329.a1	Chateux	16.254125	-61.231261	LA	Isla	LA	1
e329.a2	Chateux	16.254125	-61.231261	LA	Isla	LA	1
e330.a1	Chateux	16.254125	-61.231261	LA	Isla	LA	1
e330.a2	Chateux	16.254125	-61.231261	LA	Isla	LA	1
e333.a1	Barbados	13.2058056	-59.524194	LA	Isla	LA	1
e333.a2	Barbados	13.2058056	-59.524194	LA	Isla	LA	1
e334.a1	Barbados	13.2058056	-59.524194	LA	Isla	LA	1
e334.a2	Barbados	13.2058056	-59.524194	LA	Isla	LA	1
e335.a1	Barbados	13.2058056	-59.524194	LA	Isla	LA	1
e335.a2	Barbados	13.2058056	-59.524194	LA	Isla	LA	1

Alelo	Localidad	X	Y	Filogenético	Continente vs. Isla	Geográfico	Structure
e339.a1	Araya, Venezuela	10.6364722	-63.657917	GA	Continente	Continente	2
e339.a2	Araya, Venezuela	10.6364722	-63.657917	GA	Continente	Continente	2
e340.a1	Araya, Venezuela	10.6364722	-63.657917	GA	Continente	Continente	2
e340.a2	Araya, Venezuela	10.6364722	-63.657917	GA	Continente	Continente	2
e342.a1	Guacamayos, Venezuela	7.87919444	-62.24775	LA	Continente	Continente	1
e342.a2	Guacamayos, Venezuela	7.87919444	-62.24775	LA	Continente	Continente	1
e344.a1	Guacamayos, Venezuela	7.87919444	-62.24775	LA	Continente	Continente	1
e344.a2	Guacamayos, Venezuela	7.87919444	-62.24775	LA	Continente	Continente	1
e346.a1	Playon, Venezuela	10.4906389	-67.779528	LA	Continente	Continente	1
e346.a2	Playon, Venezuela	10.4906389	-67.779528	LA	Continente	Continente	1
e347.a1	Playon, Venezuela	10.4906389	-67.779528	LA	Continente	Continente	1
e347.a2	Playon, Venezuela	10.4906389	-67.779528	LA	Continente	Continente	1
e349.a1	Yuma, Republica Dominicana	18.35985	-68.62095	GA	Isla	GA	3
e349.a2	Yuma, Republica Dominicana	18.35985	-68.62095	GA	Isla	GA	3
e350.a1	Yuma, Republica Dominicana	18.35985	-68.62095	GA	Isla	GA	3
e350.a2	Yuma, Republica Dominicana	18.35985	-68.62095	GA	Isla	GA	3
e351.a1	Yuma, Republica Dominicana	18.35985	-68.62095	GA	Isla	GA	3
e351.a2	Yuma, Republica Dominicana	18.35985	-68.62095	GA	Isla	GA	3
e353.a1	Playa El Secreto, Mexico	20.7809722	-86.950111	GA	Continente	Continente	2
e353.a2	Playa El Secreto, Mexico	20.7809722	-86.950111	GA	Continente	Continente	2

Anexo 4. Asignación genética de cada uno de los alelos del gen SGN-U34200 bajo los distintos escenarios evaluados.

Alelo	Localidad	X	Y	Filogenético	Continente vs. Isla	Geográfico	Structure
e113.oa	Allighole, Jamaica	17.8681167	-77.391983	GA	Isla	GA	2
e114.a1	Allighole, Jamaica	17.8681167	-77.391983	GA	Isla	GA	2
e114.a2	Allighole, Jamaica	17.8681167	-77.391983	GA	Isla	GA	3
e339.a1	Araya, Venezuela	10.6364722	-63.657917	LA	Continente	Continente	2
e339.a2	Araya, Venezuela	10.6364722	-63.657917	LA	Continente	Continente	2
e340.a1	Araya, Venezuela	10.6364722	-63.657917	LA	Continente	Continente	2
e340.a2	Araya, Venezuela	10.6364722	-63.657917	LA	Continente	Continente	2
btd446.oa	Bahamas	21.75528	-71.748714	GA	Isla	GA	3
btd447.a1	Bahamas	21.75528	-71.748714	GA	Isla	GA	3
btd447.a2	Bahamas	21.75528	-71.748714	GA	Isla	GA	3
btd448.oa	Bahamas	21.75528	-71.748714	GA	Isla	GA	3
btd449.a1	Bahamas	21.75528	-71.748714	GA	Isla	GA	3
btd449.a2	Bahamas	21.75528	-71.748714	GA	Isla	GA	3
btd450.oa	Bahamas	21.75528	-71.748714	GA	Isla	GA	3
e132.oa	Bahamas	21.75528	-71.748714	GA	Isla	GA	3
e333.oa	Barbados	13.2058056	-59.524194	LA	Isla	LA	1
e334.oa	Barbados	13.2058056	-59.524194	LA	Isla	LA	1
e335.oa	Barbados	13.2058056	-59.524194	LA	Isla	LA	1
e109.oa	Bullbay, Jamaica	18.2479833	-78.359	GA	Isla	GA	3
e110.oa	Bullbay, Jamaica	18.2479833	-78.359	GA	Isla	GA	3
e111.a1	Bullbay, Jamaica	18.2479833	-78.359	GA	Isla	GA	2
e111.a2	Bullbay, Jamaica	18.2479833	-78.359	GA	Isla	GA	3
e196.oa	Caguesan, Costa Rica	9.75866667	-84.297	LA	Continente	Continente	2
e198.oa	Caguesan, Costa Rica	9.75866667	-84.297	LA	Continente	Continente	2
e199.oa	Caguesan, Costa Rica	9.75866667	-84.297	LA	Continente	Continente	2
e140.a1	Cahui, Guatemala	16.9986111	-89.717	GA	Continente	Continente	2
e140.a2	Cahui, Guatemala	16.9986111	-89.717	GA	Continente	Continente	2
e219.a1	Cahui, Guatemala	16.9986111	-89.717	GA	Continente	Continente	2
e219.a2	Cahui, Guatemala	16.9986111	-89.717	GA	Continente	Continente	2
e221.a1	Cahui, Guatemala	16.9986111	-89.717	GA	Continente	Continente	2
e221.a2	Cahui, Guatemala	16.9986111	-89.717	GA	Continente	Continente	1
e288.oa	Carmelas, México	18.1474722	-89.414694	GA	Continente	Continente	2
e289.oa	Carmelas, México	18.1474722	-89.414694	GA	Continente	Continente	1
e304.oa	Carolina, Puerto Rico	18.4083333	-65.933333	GA	Isla	GA	3
e305.oa	Carolina, Puerto Rico	18.4083333	-65.933333	GA	Isla	GA	3
e306.oa	Carolina, Puerto Rico	18.4083333	-65.933333	GA	Isla	GA	3
e307.oa	Carolina, Puerto Rico	18.4083333	-65.933333	GA	Isla	GA	3
e308.oa	Carolina, Puerto Rico	18.4083333	-65.933333	GA	Isla	GA	3
e328.oa	Chateux	16.254125	-61.231261	LA	Isla	LA	1

Alelo	Localidad	X	Y	Filogenético	Continente vs. Isla	Geográfico	Structure
e329.oa	Chateux	16.254125	-61.231261	LA	Isla	LA	1
e330.oa	Chateux	16.254125	-61.231261	LA	Isla	LA	1
e193.a1	Chim., Venezuela	10.2481944	-64.547944	LA	Continente	Continente	1
e193.a2	Chim., Venezuela	10.2481944	-64.547944	LA	Continente	Continente	1
e195.oa	Chim., Venezuela	10.2481944	-64.547944	LA	Continente	Continente	1
e099.oa	Gquilla, Puerto Rico	18.03777	-67.19954	GA	Isla	GA	3
e100.oa	Gquilla, Puerto Rico	18.03777	-67.19954	GA	Isla	GA	3
e101.oa	Gquilla, Puerto Rico	18.03777	-67.19954	GA	Isla	GA	3
e102.oa	Gquilla, Puerto Rico	18.03777	-67.19954	GA	Isla	GA	3
e342.oa	Guacamayos, Venezuela	7.87919444	-62.24775	LA	Continente	Continente	1
e343.a1	Guacamayos, Venezuela	7.87919444	-62.24775	LA	Continente	Continente	1
e343.a2	Guacamayos, Venezuela	7.87919444	-62.24775	LA	Continente	Continente	1
e344.oa	Guacamayos, Venezuela	7.87919444	-62.24775	LA	Continente	Continente	1
e060.a1	Guanica, Puerto Rico	17.98713	-66.88104	GA	Isla	GA	3
e060.a2	Guanica, Puerto Rico	17.98713	-66.88104	GA	Isla	GA	3
e061.oa	Guanica, Puerto Rico	17.98713	-66.88104	GA	Isla	GA	3
e062.a1	Guanica, Puerto Rico	17.98713	-66.88104	GA	Isla	GA	3
e062.a2	Guanica, Puerto Rico	17.98713	-66.88104	GA	Isla	GA	3
e063.a1	Guanica, Puerto Rico	17.98713	-66.88104	GA	Isla	GA	3
e063.a2	Guanica, Puerto Rico	17.98713	-66.88104	GA	Isla	GA	3
e064.a1	Guanica, Puerto Rico	17.98713	-66.88104	GA	Isla	GA	3
e064.a2	Guanica, Puerto Rico	17.98713	-66.88104	GA	Isla	GA	3
e065.oa	Guanica, Puerto Rico	17.98713	-66.88104	GA	Isla	GA	3
e066.oa	Guanica, Puerto Rico	17.98713	-66.88104	GA	Isla	GA	3
e067.oa	Guanica, Puerto Rico	17.98713	-66.88104	GA	Isla	GA	3
e068.oa	Guanica, Puerto Rico	17.98713	-66.88104	GA	Isla	GA	3
e069.a1	Guanica, Puerto Rico	17.98713	-66.88104	GA	Isla	GA	3
e069.a2	Guanica, Puerto Rico	17.98713	-66.88104	GA	Isla	GA	3
e070.a1	Guanica, Puerto Rico	17.98713	-66.88104	GA	Isla	GA	3
e070.a2	Guanica, Puerto Rico	17.98713	-66.88104	GA	Isla	GA	3
e071.a1	Guanica, Puerto Rico	17.98713	-66.88104	GA	Isla	GA	3
e071.a2	Guanica, Puerto Rico	17.98713	-66.88104	GA	Isla	GA	3
e072.oa	Guanica, Puerto Rico	17.98713	-66.88104	GA	Isla	GA	3
e073.oa	Guanica, Puerto Rico	17.98713	-66.88104	GA	Isla	GA	3
e074.oa	Guanica, Puerto Rico	17.98713	-66.88104	GA	Isla	GA	3
e075.a1	Guanica, Puerto Rico	17.98713	-66.88104	GA	Isla	GA	3
e075.a2	Guanica, Puerto Rico	17.98713	-66.88104	GA	Isla	GA	3
e021.a1	Guiengola, México	16.36674	-95.32304	Continente	Continente	Continente	2
e021.a2	Guiengola, México	16.36674	-95.32304	Continente	Continente	Continente	2
e139.a1	Guija, Guatemala	14.27175	-89.647556	LA	Continente	Continente	2
e139.a2	Guija, Guatemala	14.27175	-89.647556	LA	Continente	Continente	2
e200.oa	Guija, Guatemala	14.27175	-89.647556	LA	Continente	Continente	2

Alelo	Localidad	X	Y	Filogenético	Continente vs. Isla	Geográfico	Structure
e201.oa	Guija, Guatemala	14.27175	-89.647556	LA	Continente	Continente	2
e202.a1	Guija, Guatemala	14.27175	-89.647556	LA	Continente	Continente	2
e202.a2	Guija, Guatemala	14.27175	-89.647556	LA	Continente	Continente	2
e212.oa	Hacha, Costa Rica	10.9939444	-85.520417	LA	Continente	Continente	2
e213.oa	Hacha, Costa Rica	10.9939444	-85.520417	LA	Continente	Continente	2
e103.oa	Jaragua, Republica Dominicana	17.7915	-71.462317	GA	Isla	GA	3
e104.oa	Jaragua, Republica Dominicana	17.7915	-71.462317	GA	Isla	GA	3
e105.oa	Jaragua, Republica Dominicana	17.7915	-71.462317	GA	Isla	GA	3
e106.oa	Jaragua, Republica Dominicana	17.7915	-71.462317	GA	Isla	GA	3
e295.oa	Majahual, México	18.7166667	-87.716667	GA	Continente	Continente	2
e184.a1	Negril, Jamaica	18.2479833	-78.359	GA	Isla	GA	2
e184.a2	Negril, Jamaica	18.2479833	-78.359	GA	Isla	GA	2
e185.a1	Negril, Jamaica	18.2479833	-78.359	GA	Isla	GA	3
e185.a2	Negril, Jamaica	18.2479833	-78.359	GA	Isla	GA	2
e336.a1	Nenton, Guatemala	15.7701389	-91.841944	Continente	Continente	Continente	2
e336.a2	Nenton, Guatemala	15.7701389	-91.841944	Continente	Continente	Continente	2
e337.a1	Nenton, Guatemala	15.7701389	-91.841944	Continente	Continente	Continente	2
e337.a2	Nenton, Guatemala	15.7701389	-91.841944	Continente	Continente	Continente	2
e277.a1	Nizanda, México	16.6610278	-95.011694	Continente	Continente	Continente	2
e277.a2	Nizanda, México	16.6610278	-95.011694	Continente	Continente	Continente	2
e279.a1	Nizanda, México	16.6610278	-95.011694	Continente	Continente	Continente	2
e279.a2	Nizanda, México	16.6610278	-95.011694	Continente	Continente	Continente	2
e352.oa	Playa El Secreto, México	20.7809722	-86.950111	GA	Continente	Continente	2
e353.oa	Playa El Secreto, México	20.7809722	-86.950111	GA	Continente	Continente	2
e354.a1	Playa El Secreto, México	20.7809722	-86.950111	GA	Continente	Continente	2
e354.a2	Playa El Secreto, México	20.7809722	-86.950111	GA	Continente	Continente	2
e346.oa	Playon, Venezuela	10.4906389	-67.779528	LA	Continente	Continente	1
e347.a1	Playon, Venezuela	10.4906389	-67.779528	LA	Continente	Continente	1
e347.a2	Playon, Venezuela	10.4906389	-67.779528	LA	Continente	Continente	1
e323.a1	Port d'Enfer	17.5171667	-62.99175	LA	Isla	LA	1
e323.a2	Port d'Enfer	17.5171667	-62.99175	LA	Isla	LA	1
e324.oa	Port d'Enfer	17.5171667	-62.99175	LA	Isla	LA	1
e325.a1	Port d'Enfer	17.5171667	-62.99175	LA	Isla	LA	1
e325.a2	Port d'Enfer	17.5171667	-62.99175	LA	Isla	LA	1
e326.oa	Port d'Enfer	17.5171667	-62.99175	LA	Isla	LA	1
e327.oa	Port d'Enfer	17.5171667	-62.99175	LA	Isla	LA	1
e218.a1	Rio Hondo, Guatemala	15.0313333	-89.587167	LA	Continente	Continente	2
e218.a2	Rio Hondo, Guatemala	15.0313333	-89.587167	LA	Continente	Continente	2
e265.a1	Rio Hondo, México	16.4257222	-95.825111	Continente	Continente	Continente	2
e265.a2	Rio Hondo, México	16.4257222	-95.825111	Continente	Continente	Continente	2
e267.a1	Rio Hondo, México	16.4257222	-95.825111	Continente	Continente	Continente	2
e267.a2	Rio Hondo, México	16.4257222	-95.825111	Continente	Continente	Continente	2

Alelo	Localidad	X	Y	Filogenético	Continente vs. Isla	Geográfico	Structure
e204.a1	San Luis Potosí, México	21.9545556	-98.889194	Continente	Continente	Continente	2
e204.a2	San Luis Potosí, México	21.9545556	-98.889194	Continente	Continente	Continente	2
e209.oa	San Luis Potosí, México	21.9545556	-98.889194	Continente	Continente	Continente	2
e210.a1	San Luis Potosí, México	21.9545556	-98.889194	Continente	Continente	Continente	2
e210.a2	San Luis Potosí, México	21.9545556	-98.889194	Continente	Continente	Continente	2
e107.oa	St. Croix	17.6868333	-64.88285	LA	Isla	LA	1
e108.a1	St. Croix	17.6868333	-64.88285	LA	Isla	LA	2
e108.a2	St. Croix	17.6868333	-64.88285	LA	Isla	LA	1
e205.oa	St. Croix	17.6868333	-64.88285	LA	Isla	LA	3
e206.oa	St. Croix	17.6868333	-64.88285	LA	Isla	LA	3
e087.oa	St. John	18.3171167	-64.7098	GA	Isla	GA	3
e088.oa	St. John	18.3171167	-64.7098	GA	Isla	GA	3
e089.oa	St. John	18.3171167	-64.7098	GA	Isla	GA	3
e090.oa	St. John	18.3171167	-64.7098	GA	Isla	GA	3
e311.oa	Statia	17.51725	-62.991722	LA	Isla	Continente	1
e312.oa	Statia	17.51725	-62.991722	LA	Isla	LA	1
e313.oa	Statia	17.51725	-62.991722	LA	Isla	LA	1
e314.oa	Statia	17.51725	-62.991722	LA	Isla	LA	1
e315.oa	Statia	17.51725	-62.991722	LA	Isla	LA	1
e316.oa	Statia	17.51725	-62.991722	LA	Isla	LA	1
e317.oa	Statia	17.51725	-62.991722	LA	Isla	LA	1
e318.oa	Statia	17.51725	-62.991722	LA	Isla	LA	1
e319.oa	Statia	17.51725	-62.991722	LA	Isla	LA	1
e320.oa	Statia	17.51725	-62.991722	LA	Isla	LA	1
e135.oa	Tumeremo, Venezuela	7.42977778	-61.491861	LA	Continente	Continente	1
e282.a1	Tzimol, México	16.1126944	-92.208028	Continente	Continente	Continente	2
e282.a2	Tzimol, México	16.1126944	-92.208028	Continente	Continente	Continente	1
e283.a1	Tzimol, México	16.1126944	-92.208028	Continente	Continente	Continente	2
e283.a2	Tzimol, México	16.1126944	-92.208028	Continente	Continente	Continente	2
e284.a1	Tzimol, México	16.1126944	-92.208028	Continente	Continente	Continente	2
e284.a2	Tzimol, México	16.1126944	-92.208028	Continente	Continente	Continente	2
e224.a1	Uaxantun, Guatemala	17.4020833	-89.652917	GA	Continente	Continente	2
e224.a2	Uaxantun, Guatemala	17.4020833	-89.652917	GA	Continente	Continente	1
e226.oa	Uaxantun, Guatemala	17.4020833	-89.652917	GA	Continente	Continente	1
e349.oa	Yuma, Republica Dominicana	18.35985	-68.62095	GA	Isla	GA	3
e350.oa	Yuma, Republica Dominicana	18.35985	-68.62095	GA	Isla	GA	3
e351.oa	Yuma, Republica Dominicana	18.35985	-68.62095	GA	Isla	GA	3

Anexo 5. Asignación genética de cada uno de los alelos del gen G3PDH bajo los distintos escenarios evaluados.

Alelo	Localidad	X	Y	Filogenético	Continente vs Isla	Geográfico	Structure
btd446.oa	Bahamas	21.75528	-71.748714	GA	Isla	GA	1
btd447.oa	Bahamas	21.75528	-71.748714	GA	Isla	GA	1
btd448.oa	Bahamas	21.75528	-71.748714	GA	Isla	GA	1
btd449.oa	Bahamas	21.75528	-71.748714	GA	Isla	GA	1
e060.oa	Guanica, Puerto Rico	17.98713	-66.88104	GA	Isla	GA	1
e061.oa	Guanica, Puerto Rico	17.98713	-66.88104	GA	Isla	GA	1
e062.oa	Guanica, Puerto Rico	17.98713	-66.88104	GA	Isla	GA	1
e063.oa	Guanica, Puerto Rico	17.98713	-66.88104	GA	Isla	GA	1
e064.oa	Guanica, Puerto Rico	17.98713	-66.88104	GA	Isla	GA	1
e065.oa	Guanica, Puerto Rico	17.98713	-66.88104	GA	Isla	GA	1
e066.oa	Guanica, Puerto Rico	17.98713	-66.88104	GA	Isla	GA	1
e067.oa	Guanica, Puerto Rico	17.98713	-66.88104	GA	Isla	GA	1
e068.oa	Guanica, Puerto Rico	17.98713	-66.88104	GA	Isla	GA	1
e069.oa	Guanica, Puerto Rico	17.98713	-66.88104	GA	Isla	GA	1
e070.oa	Guanica, Puerto Rico	17.98713	-66.88104	GA	Isla	GA	1
e071.oa	Guanica, Puerto Rico	17.98713	-66.88104	GA	Isla	GA	1
e072.oa	Guanica, Puerto Rico	17.98713	-66.88104	GA	Isla	GA	1
e073.oa	Guanica, Puerto Rico	17.98713	-66.88104	GA	Isla	GA	1
e074.oa	Guanica, Puerto Rico	17.98713	-66.88104	GA	Isla	GA	1
e075.oa	Guanica, Puerto Rico	17.98713	-66.88104	GA	Isla	GA	1
e087.oa	St. John	18.3171167	-64.7098	GA	Isla	GA	1
e088.oa	St. John	18.3171167	-64.7098	GA	Isla	GA	1
e089.oa	St. John	18.3171167	-64.7098	GA	Isla	GA	1
e090.oa	St. John	18.3171167	-64.7098	GA	Isla	GA	1
e099.oa	Gquilla, Puerto Rico	18.03777	-67.19954	GA	Isla	GA	1
e100.oa	Gquilla, Puerto Rico	18.03777	-67.19954	GA	Isla	GA	1
e101.oa	Gquilla, Puerto Rico	18.03777	-67.19954	GA	Isla	GA	1
e102.oa	Gquilla, Puerto Rico	18.03777	-67.19954	GA	Isla	GA	1
e103.oa	Jaragua, Republica Dominicana	17.7915	-71.462317	GA	Isla	GA	1
e104.oa	Jaragua, Republica Dominicana	17.7915	-71.462317	GA	Isla	GA	1
e105.oa	Jaragua, Republica Dominicana	17.7915	-71.462317	GA	Isla	GA	1
e106.oa	Jaragua, Republica Dominicana	17.7915	-71.462317	GA	Isla	GA	1
e109.oa	Bullbay, Jamaica	18.2479833	-78.359	GA	Isla	GA	1
e110.oa	Bullbay, Jamaica	18.2479833	-78.359	GA	Isla	GA	1
e111.oa	Bullbay, Jamaica	18.2479833	-78.359	GA	Isla	GA	1
e113.a1	Allighole, Jamaica	17.8681167	-77.391983	GA	Isla	GA	1
e113.a2	Allighole, Jamaica	17.8681167	-77.391983	GA	Isla	GA	1
e114.a1	Allighole, Jamaica	17.8681167	-77.391983	GA	Isla	GA	1
e114.a2	Allighole, Jamaica	17.8681167	-77.391983	GA	Isla	GA	1

Alelo	Localidad	X	Y	Filogenético	Continente vs Isla	Geográfico	Structure
e132.oa	Bahamas	21.75528	-71.748714	GA	Isla	GA	1
e184.oa	Negril, Jamaica	18.2479833	-78.359	GA	Isla	GA	1
e185.a1	Negril, Jamaica	18.2479833	-78.359	GA	Isla	GA	1
e185.a2	Negril, Jamaica	18.2479833	-78.359	GA	Isla	GA	1
e199.a2	Caguesan, Costa Rica	9.75866667	-84.297	LA	Continente	Continente	1
e205.oa	St. Croix	17.6868333	-64.88285	LA	Isla	LA	1
e206.oa	St. Croix	17.6868333	-64.88285	LA	Isla	LA	1
e223.oa	Peten, Guatemala	16.9986111	-89.717	GA	Continente	Continente	1
e224.oa	Uaxantun, Guatamala	17.4020833	-89.652917	GA	Continente	Continente	1
e225.oa	Peten, Guatemala	16.9986111	-89.717	GA	Continente	Continente	1
e226.a2	Uaxantun, Guatamala	17.4020833	-89.652917	GA	Continente	Continente	1
e304.oa	Carolina, Puerto Rico	18.4083333	-65.933333	GA	Isla	GA	1
e305.oa	Carolina, Puerto Rico	18.4083333	-65.933333	GA	Isla	GA	1
e306.oa	Carolina, Puerto Rico	18.4083333	-65.933333	GA	Isla	GA	1
e307.oa	Carolina, Puerto Rico	18.4083333	-65.933333	GA	Isla	GA	1
e308.oa	Carolina, Puerto Rico	18.4083333	-65.933333	GA	Isla	GA	1
e349.oa	Yuma, Republica Dominicana	18.35985	-68.62095	GA	Isla	GA	1
e350.oa	Yuma, Republica Dominicana	18.35985	-68.62095	GA	Isla	GA	1
e351.oa	Yuma, Republica Dominicana	18.35985	-68.62095	GA	Isla	GA	1
e352.a2	Playa El Secreto, México	20.7809722	-86.950111	GA	Continente	Continente	1
e354.a2	Playa El Secreto, México	20.7809722	-86.950111	GA	Continente	Continente	1
e107.oa	St. Croix	17.6868333	-64.88285	LA	Isla	LA	2
e108.oa	St. Croix	17.6868333	-64.88285	LA	Isla	LA	2
e193.oa	Chim., Venezuela	10.2481944	-64.547944	LA	Continente	Continente	2
e194.oa	Chim., Venezuela	10.2481944	-64.547944	LA	Continente	Continente	2
e195.oa	Chim., Venezuela	10.2481944	-64.547944	LA	Continente	Continente	2
e196.oa	Caguesan, Costa Rica	9.75866667	-84.297	LA	Continente	Continente	2
e197.oa	Caguesan, Costa Rica	9.75866667	-84.297	LA	Continente	Continente	2
e198.oa	Caguesan, Costa Rica	9.75866667	-84.297	LA	Continente	Continente	2
e199.a1	Caguesan, Costa Rica	9.75866667	-84.297	LA	Continente	Continente	2
e212.oa	Hacha, Costa Rica	10.9939444	-85.520417	LA	Continente	Continente	2
e213.oa	Hacha, Costa Rica	10.9939444	-85.520417	LA	Continente	Continente	2
e214.oa	Hacha, Costa Rica	10.9939444	-85.520417	LA	Continente	Continente	2
e216.oa	Rio Hondo, Guatemala	15.0313333	-89.587167	LA	Continente	Continente	2
e311.oa	Statia	17.51725	-62.991722	LA	Isla	GA	2
e312.oa	Statia	17.51725	-62.991722	LA	Isla	GA	2
e313.oa	Statia	17.51725	-62.991722	LA	Isla	GA	2
e314.oa	Statia	17.51725	-62.991722	LA	Isla	GA	2
e315.oa	Statia	17.51725	-62.991722	LA	Isla	GA	2
e316.oa	Statia	17.51725	-62.991722	LA	Isla	GA	2
e317.oa	Statia	17.51725	-62.991722	LA	Isla	GA	2
e318.oa	Statia	17.51725	-62.991722	LA	Isla	GA	2

Alelo	Localidad	X	Y	Filogenético	Continente vs Isla	Geográfico	Structure
e319.oa	Statia	17.51725	-62.991722	LA	Isla	GA	2
e320.oa	Statia	17.51725	-62.991722	LA	Isla	GA	2
e323.oa	Port d'Enfer	17.5171667	-62.99175	LA	Isla	GA	2
e324.oa	Port d'Enfer	17.5171667	-62.99175	LA	Isla	GA	2
e325.oa	Port d'Enfer	17.5171667	-62.99175	LA	Isla	GA	2
e326.oa	Port d'Enfer	17.5171667	-62.99175	LA	Isla	GA	2
e327.oa	Port d'Enfer	17.5171667	-62.99175	LA	Isla	GA	2
e328.oa	Chateaux	16.254125	-61.231261	LA	Isla	LA	2
e329.oa	Chateaux	16.254125	-61.231261	LA	Isla	LA	2
e330.oa	Chateaux	16.254125	-61.231261	LA	Isla	LA	2
e333.oa	Barbados	13.2058056	-59.524194	LA	Isla	LA	2
e334.a1	Barbados	13.2058056	-59.524194	LA	Isla	LA	2
e334.a2	Barbados	13.2058056	-59.524194	LA	Isla	LA	2
e335.a1	Barbados	13.2058056	-59.524194	LA	Isla	LA	2
e335.a2	Barbados	13.2058056	-59.524194	LA	Isla	LA	2
e339.oa	Araya, Venezuela	10.6364722	-63.657917	LA	Continente	Continente	2
e340.a1	Araya, Venezuela	10.6364722	-63.657917	LA	Continente	Continente	2
e340.a2	Araya, Venezuela	10.6364722	-63.657917	LA	Continente	Continente	2
e342.oa	Guacamayos, Venezuela	7.87919444	-62.24775	LA	Continente	Continente	2
e343.a1	Guacamayos, Venezuela	7.87919444	-62.24775	LA	Continente	Continente	2
e344.oa	Guacamayos, Venezuela	7.87919444	-62.24775	LA	Continente	Continente	2
e346.a1	Playon, Venezuela	10.4906389	-67.779528	LA	Continente	Continente	2
e346.a2	Playon, Venezuela	10.4906389	-67.779528	LA	Continente	Continente	2
e347.oa	Playon, Venezuela	10.4906389	-67.779528	LA	Continente	Continente	2
e021.a1	Guiengola, México	16.36674	-95.32304	Continente	Continente	Continente	3
e021.a2	Guiengola, México	16.36674	-95.32304	Continente	Continente	Continente	3
e200.a2	Guija, Guatemala	14.27175	-89.647556	LA	Continente	Continente	3
e204.a1	San Luis Potosí, México	21.9545556	-98.889194	Continente	Continente	Continente	3
e204.a2	San Luis Potosí, México	21.9545556	-98.889194	Continente	Continente	Continente	3
e209.oa	San Luis Potosí, México	21.9545556	-98.889194	Continente	Continente	Continente	3
e210.oa	San Luis Potosí, México	21.9545556	-98.889194	Continente	Continente	Continente	3
e218.a2	Rio Hondo, Guatemala	15.0313333	-89.587167	LA	Continente	Continente	3
e221.a1	Cahui, Guatemala	16.9986111	-89.717	GA	Continente	Continente	3
e226.a1	Uaxantun, Guatemala	17.4020833	-89.652917	GA	Continente	Continente	3
e265.a1	Rio Hondo, México	16.4257222	-95.825111	Continente	Continente	Continente	3
e265.a2	Rio Hondo, México	16.4257222	-95.825111	Continente	Continente	Continente	3
e266.a1	Rio Hondo, México	16.4257222	-95.825111	Continente	Continente	Continente	3
e266.a2	Rio Hondo, México	16.4257222	-95.825111	Continente	Continente	Continente	3
e267.oa	Rio Hondo, México	16.4257222	-95.825111	Continente	Continente	Continente	3
e277.oa	Nizanda, México	16.6610278	-95.011694	Continente	Continente	Continente	3
e279.oa	Nizanda, México	16.6610278	-95.011694	Continente	Continente	Continente	3
e288.a2	Carmelas, México	18.1474722	-89.414694	GA	Continente	Continente	3

Alelo	Localidad	X	Y	Filogenético	Continente vs Isla	Geográfico	Structure
e289.a2	Carmelas, México	18.1474722	-89.414694	GA	Continente	Continente	3
e291.oa	Carmelas, México	18.1474722	-89.414694	GA	Continente	Continente	3
e294.a2	Majahual, México	18.7166667	-87.716667	GA	Continente	Continente	3
e353.oa	Playa El Secreto, México	20.7809722	-86.950111	GA	Continente	Continente	3

Anexo 6. Delta K encontrado para el gen *SGN-U34200* de acuerdo con el método de Evanno.

K	Reps	Promedio LnP(K)	Stdev LnP(K)	Ln'(K)	 Ln''(K) 	Delta K
2	15	-1021.820	0.281	NA	NA	NA
3	15	-861.287	17.497	160.533	122.180	6.983
4	15	-822.933	385.750	38.353	65.787	0.171
5	15	-718.793	127.946	104.140	95.540	0.747
6	15	-710.193	78.251	8.600	28.500	0.364
7	15	-673.093	80.673	37.100	42.620	0.528
8	15	-678.613	109.784	-5.520	32.087	0.292
9	15	-652.047	33.633	26.567	19.627	0.584
10	15	-645.107	16.534	6.940	19.953	1.207
11	15	-658.120	29.222	-13.013	19.607	0.671
12	15	-690.740	30.400	-32.620	15.953	0.525
13	15	-707.407	53.770	-16.667	8.967	0.167
14	15	-715.107	43.918	-7.700	49.973	1.138
15	15	-772.780	98.988	-57.673	72.780	0.735
16	15	-757.673	31.290	15.107	13.360	0.427
17	15	-755.927	43.916	1.747	29.953	0.682
18	15	-784.133	28.469	-28.207	19.107	0.671
19	15	-831.447	86.399	-47.313	38.713	0.448
20	15	-840.047	75.378	-8.600	NA	NA

Anexo 7. Delta K encontrado para el gen *G3PDH* de acuerdo con el método de Evanno.

K	Reps	Promedio LnP(K)	Stdev LnP(K)	Ln'(K)	 Ln''(K) 	Delta K
2	15	-843.547	0.192	NA	NA	NA
3	15	-527.220	0.237	316.327	280.827	1186.709
4	15	-491.720	73.044	35.500	33.280	0.456
5	15	-422.940	82.208	68.780	359.353	4.371
6	15	-713.513	527.946	-290.573	502.580	0.952
7	15	-501.507	329.969	212.007	249.947	0.757
8	15	-539.447	454.495	-37.940	137.507	0.303
9	15	-439.880	184.586	99.567	65.800	0.356
10	15	-406.113	36.833	33.767	65.460	1.777
11	15	-437.807	85.451	-31.693	54.753	0.641
12	15	-414.747	84.865	23.060	34.320	0.404
13	15	-426.007	38.784	-11.260	27.173	0.701
14	15	-464.440	206.355	-38.433	70.400	0.341
15	15	-432.473	41.387	31.967	71.020	1.716
16	15	-471.527	162.953	-39.053	83.487	0.512
17	15	-427.093	45.325	44.433	61.520	1.357
18	15	-444.180	43.451	-17.087	24.780	0.570
19	15	-486.047	116.132	-41.867	2.387	0.021
20	15	-525.5267	189.5514	-39.48	NA	NA

Anexo 8. Delta K encontrado para la matriz concatenada de acuerdo con el método de Evanno.

K	Reps	Mean LnP(K)	Stdev LnP(K)	Ln'(K)	 Ln''(K) 	Delta K
2	15	-7884.79	256.04	NA	NA	NA
3	15	-7162.44	5463.32	722.35	1714.97	0.31
4	15	-4725.12	77.19	2437.32	5210.79	67.51
5	15	-7498.59	11820.51	-2773.47	6021.15	0.51
6	15	-4250.91	313.76	3247.68	3142.81	10.02
7	15	-4146.04	203.13	104.87	9212.81	45.35
8	15	-13253.98	25731.23	-9107.94	1561.83	0.06
9	15	-20800.09	26188.74	-7546.11	245.68	0.01
10	15	-28591.87	42918.08	-7791.79	17603.43	0.41
11	15	-18780.23	19266.43	9811.65	26377.81	1.37
12	15	-35346.39	40402.73	-16566.16	41535.83	1.03
13	15	-10376.72	11561.66	24969.67	24848.07	2.15
14	15	-10255.13	11121.53	121.59	772.15	0.07
15	15	-9361.39	5753.95	893.74	2075.28	0.36
16	15	-10542.93	12999.12	-1181.54	7475.37	0.58
17	15	-19199.83	27559.87	-8656.91	9960.15	0.36
18	15	-17896.59	31352.96	1303.25	10066.53	0.32
19	15	-26659.87	32024.48	-8763.28	18530.13	0.58
20	15	-16893.01	27802.05	9766.85	NA	NA

Anexo 9. Coeficientes de correlación para las 19 variables climáticas de Worldclim.

	bio_0 1	bio_0 2	bio_0 3	bio_0 4	bio_0 5	bio_0 6	bio_0 7	bio_0 8	bio_0 9	bio_1 0	bio_1 1	bio_1 2	bio_1 3	bio_1 4	bio_1 5	bio_1 6	bio_1 7	bio_1 8	bio_1 9
bio_0 1	1.000	0.537	0.040	0.255	0.169	0.762	0.494	0.831	0.743	0.785	0.810	0.461	0.665	0.342	0.394	0.656	0.347	0.218	0.135
bio_0 2	0.537	1.000	0.067	0.445	0.636	0.858	0.889	0.299	0.483	0.208	0.623	0.030	0.329	0.505	0.653	0.283	0.539	0.012	0.289
bio_0 3	0.040	0.067	1.000	0.862	0.497	0.398	0.495	0.322	0.475	0.517	0.542	0.017	0.036	0.201	0.024	0.001	0.166	0.302	0.137
bio_0 4	0.255	0.445	0.862	1.000	0.675	0.710	0.796	0.219	0.666	0.385	0.772	0.041	0.087	0.005	0.186	0.092	0.050	0.314	0.210
bio_0 5	0.169	0.636	0.497	0.675	1.000	0.492	0.766	0.455	0.171	0.610	0.297	0.357	0.124	0.202	0.398	0.152	0.245	0.012	0.442
bio_0 6	0.762	0.858	0.398	0.710	0.492	1.000	0.936	0.394	0.786	0.271	0.933	0.168	0.468	0.384	0.545	0.445	0.416	0.217	0.163
bio_0 7	0.494	0.889	0.495	0.796	0.766	0.936	1.000	0.107	0.649	0.047	0.808	0.020	0.295	0.365	0.563	0.267	0.406	0.155	0.299
bio_0 8	0.831	0.299	0.322	0.219	0.455	0.394	0.107	1.000	0.333	0.908	0.408	0.449	0.637	0.403	0.350	0.619	0.372	0.068	0.261
bio_0 9	0.743	0.483	0.475	0.666	0.171	0.786	0.649	0.333	1.000	0.276	0.884	0.114	0.338	0.228	0.372	0.324	0.266	0.286	0.226
bio_1 0	0.785	0.208	0.517	0.385	0.610	0.271	0.047	0.908	0.276	1.000	0.288	0.471	0.561	0.281	0.203	0.545	0.253	0.053	0.290
bio_1 1	0.810	0.623	0.542	0.772	0.297	0.933	0.808	0.408	0.884	0.288	1.000	0.277	0.490	0.229	0.370	0.483	0.258	0.342	0.038
bio_1 2	0.461	0.030	0.017	0.041	0.357	0.168	0.020	0.449	0.114	0.471	0.277	1.000	0.797	0.269	0.136	0.853	0.293	0.647	0.710
bio_1 3	0.665	0.329	0.036	0.087	0.124	0.468	0.295	0.637	0.338	0.561	0.490	0.797	1.000	0.259	0.419	0.973	0.236	0.381	0.336
bio_1 4	0.342	0.505	0.201	0.005	0.202	0.384	0.365	0.403	0.228	0.281	0.229	0.269	0.259	1.000	0.892	0.212	0.991	0.521	0.485
bio_1 5	0.394	0.653	0.024	0.186	0.398	0.545	0.563	0.350	0.372	0.203	0.370	0.136	0.419	0.892	1.000	0.370	0.899	0.335	0.520
bio_1 6	0.656	0.283	0.001	0.092	0.152	0.445	0.267	0.619	0.324	0.545	0.483	0.853	0.973	0.212	0.370	1.000	0.192	0.403	0.386
bio_1 7	0.347	0.539	0.166	0.050	0.245	0.416	0.406	0.372	0.266	0.253	0.258	0.293	0.236	0.991	0.899	0.192	1.000	0.518	0.513
bio_1 8	0.218	0.012	0.302	0.314	0.012	0.217	0.155	0.068	0.286	0.053	0.342	0.647	0.381	0.521	0.335	0.403	0.518	1.000	0.452
bio_1 9	0.135	0.289	0.137	0.210	0.442	0.163	0.299	0.261	0.226	0.290	0.038	0.710	0.336	0.485	0.520	0.386	0.513	0.452	1.000