



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
PROGRAMA DE DOCTORADO EN CIENCIAS BIOMÉDICAS
INSTITUTO DE ECOLOGÍA**

**Filogeografía y procesos de domesticación de
Crescentia alata y *Crescentia cujete* (Bignoniaceae) en México**

TESIS
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
DOCTORA EN CIENCIAS

PRESENTA:
XITLALI AGUIRRE DUGUA

Tutor principal:
Dr. Alejandro Casas Fernández
Centro de Investigaciones en Ecosistemas

Comité tutor:
Dr. Alejandro Casas Fernández, Centro de Investigaciones en Ecosistemas
Dr. Antonio González Rodríguez, Centro de Investigaciones en Ecosistemas
Dr. Luis Enrique Eguiarte Fruns, Instituto de Ecología

México D.F., marzo de 2015



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.

INDICE

Agradecimientos

Resumen/Abstract

| | |
|---|-----|
| Introducción general | 1 |
| Evolución bajo domesticación..... | 1 |
| Prácticas actuales de manejo y selección artificial..... | 6 |
| Domesticación de plantas perennes..... | 8 |
| Pregunta general y objetivos..... | 13 |
| Estructura de la tesis..... | 15 |
| Referencias..... | 18 |
| | |
| Capítulo 1. Sistema de estudio: las especies mesoamericanas del género <i>Crescentia</i> | 25 |
| Distribución y características ecológicas de <i>Crescentia</i> | 25 |
| Relevancia histórica y cultural de los frutos de <i>Crescentia</i> en México..... | 33 |
| Referencias..... | 44 |
| | |
| Capítulo 2. Round and large: morphological and genetic consequences of artificial selection on the gourd tree <i>Crescentia cujete</i> by the Maya of the Yucatan Peninsula, Mexico | 54 |
| | |
| Capítulo 3. Phenotypic differentiation between wild and domesticated varieties of <i>Crescentia cujete</i> L. and culturally relevant uses of their fruits as bowls in the Yucatan Peninsula, Mexico | 55 |
| | |
| Capítulo 4. Patrones filogeográficos en <i>Crescentia alata</i> y <i>C. cujete</i> | 56 |
| Introducción..... | 56 |
| Métodos..... | 58 |
| Resultados..... | 65 |
| Discusión y conclusiones..... | 81 |
| Referencias..... | 92 |
| | |
| Conclusiones generales | 100 |
| | |
| Anexo I. Phylogeographical approaches to the study of plant domestication, with special emphasis on perennial plants..... | 103 |
| Anexo II. Referencias históricas relativas a los árboles de <i>Crescentia</i> y sus frutos en la Nueva España y otras regiones conquistadas por los españoles..... | 153 |
| Anexo III. Protocolo de extracción de DNA de <i>Crescentia</i> | 160 |
| Anexo IV. Datos adicionales asociados a los análisis filogeográficos..... | 161 |
| Anexo V. Folleto distribuido en las comunidades mayas tras la investigación etnobotánica... | 178 |

Agradecimientos

El Posgrado de la Universidad Nacional Autónoma de México, particularmente el Programa de Doctorado en Ciencias Biomédicas, constituyó un espacio de formación de alto nivel y excelente calidad humana; me permitió aprovechar numerosas oportunidades en México y el extranjero para crecer tanto en aspectos académicos como personales. A través del Posgrado, el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) me proporcionó una beca para la realización de mis estudios (no. 268674).

Esta tesis se realizó con apoyo de los siguientes proyectos:

2008-2010. Casas, A. **Manejo y conservación *in situ* de recursos vegetales de zonas áridas de México: un enfoque ecológico y etnobotánico.** Financiado por el Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica, UNAM.

2010-2013. Casas, A. **Manejo y conservación *in situ* de recursos genéticos de zonas áridas de México: un enfoque etnobotánico, ecológico y evolutivo** (CONACYT, Proyecto CB-2008-01-103551).

2011-2014. Casas A. **Manejo y domesticación de recursos vegetales en Mesoamérica.** Financiado por el Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica, UNAM (proyecto IN205111-3).

2014-2017- Casas A. **Domesticación y manejo *in situ* de recursos genéticos forestales en Mesoamérica.** Financiado por el Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica, UNAM (proyecto IN209214).

2014-2017. **Domesticación y manejo *in situ* de recursos genéticos en el Nuevo Mundo: Mesoamérica, Los Andes y Amazonia.** CONACYT, Proyecto CB-2013-01-221800).

El Centro de Investigaciones en Ecosistemas, particularmente el Laboratorio de Ecología y Evolución de Recursos Vegetales, representó un agradable y fructífero espacio de trabajo y convivencia. Gracias a investigadores, alumnos y trabajadores por hacer de este Centro la casa de todos.

La presente tesis se realizó bajo la dirección del Dr. Alejandro Casas Fernández, cuyo tiempo y disposición para platicar y orientar nunca faltaron. Esta tesis se desarrolló también con la permanente asesoría y orientación del Dr. Luis Enrique Eguiarte Fruns y del Dr. Antonio González Rodríguez como miembros del Comité Tutorial. Mi más sincero agradecimiento por haber apoyado desde un inicio este proyecto y haberme acompañado a lo largo de estos años con sus constructivas sugerencias.

Edgar Pérez Negrón, técnico académico del laboratorio de Ecología y Evolución de Recursos Vegetales, ayudó permanentemente a la realización de este proyecto, tanto en las colectas de

campo como en la adquisición de materiales de laboratorio, con actitud profesional e inagotable energía.

Se reconoce y agradece al Dr. Ken Oyama Nakagawa el préstamo de las instalaciones del laboratorio de Ecología Genética y Molecular del Centro de Investigaciones en Ecosistemas de la UNAM para la realización de los estudios genéticos, donde encontré el apoyo y la grata compañía del Dr. Víctor Rocha Ramírez y la laboratorista Sra. Dolores Lugo Aquino.

Se reconoce el cuidadoso trabajo de Jesús Llanderal, quien ayudó en la obtención de muestras de ADN y amplificación de microsátelites de diversas muestras de herbario y poblaciones colectadas en México para el análisis filogeográfico.

El Dr. José Antonio Pacheco de la Universidad Autónoma de Sinaloa, colaboró amablemente con la obtención de muestras de *Crescentia alata* del estado de Sinaloa.

Jacqueline Pérez Camacho proveyó las muestras de *C. cujete* y *C. mirabilis* provenientes de Cuba.

La Dra. Jeannine Cavender Bares y Marileth de los Angeles Briceño amablemente proporcionaron muestras de *C. cujete* y *C. alata* provenientes de Costa Rica.

Al Herbario Nacional MEXU, particularmente al Dr. David Sebastián Gernandt, por acceder a la obtención de muestras de tejido de ejemplares de *Crescentia* depositados en la colección.

Karla A. García Martínez apoyó en diversas facetas del proyecto como Servicio Social, particularmente el conteo de semillas y en la extracción de ADN; Luz Elena García Martínez, Martín de Jesús Cervantes López y Lorena Téllez García participaron también con entusiasmo en el procesamiento de frutos.

Susana Guillén colaboró con la extracción de ADN de semillas para el análisis de microsátelites nucleares que, desafortunadamente, no fue posible incluir en la presente tesis.

Se agradece la amistad y el apoyo brindados por todos los miembros del laboratorio de Ecología y Evolución de Recursos Vegetales: Selene Rangel, Nacho Torres, América Delgado, Fabiola Parra, José Blancas, Yaayé Arellanes, Ana Isabel Moreno, Mariana Vallejo, Susana Guillén, María del Carmen Godínez, Alejandro Reyes y Carmen Julia Figueredo.

A mi mamá Colette, a Maribel y Ricardo por las porras y el apoyo siempre acompañado de una sonrisa.

A Ana Julieta, Iván y Jorge, por estos años compartidos y nuestras vivencias inolvidables.

Resumen

Este proyecto analiza los procesos evolutivos de especies perennes bajo domesticación, utilizando como caso de estudio los árboles del género *Crescentia* L. (con cuyos frutos se elaboran recipientes). El objetivo principal es establecer las relaciones causa-efecto entre las estrategias de domesticación a las que están sujetas *C. cujete* y *C. alata* en los huertos familiares y su estructura filogeográfica. En particular se analizan la selección artificial, la propagación clonal/sexual, la dispersión humana de propágulos y el flujo génico entre poblaciones de huertos y con poblaciones silvestres, y sus efectos en la diversidad morfológica y genética de las especies, incluyendo la identificación de cuellos de botella y eventos de introgresión intra/interespecífica. Además de los factores humanos que modifican la estructura filogeográfica, se consideran factores naturales como capacidad de dispersión natural, cambios demográficos y la distribución histórica de las poblaciones silvestres.

Por un lado, el estudio realizado con *C. cujete* en huertos de siete comunidades de Yucatán simpátricas con dos poblaciones silvestres mostró que la propagación vegetativa (76% de los árboles cultivados) estabiliza la selección artificial de frutos redondos, grandes y gruesos. Esta morfología es acorde a los usos cotidianos y ceremoniales de los recipientes. La propagación clonal mantiene la composición morfológica y haplotípica (detectada con 6 microsatélites de ADN de cloroplasto o cpADN) diferencial de los huertos en relación con las poblaciones silvestres y disminuye su diversidad genética. Sin embargo, la diversidad de los huertos es aumentada por la incorporación de haplotipos silvestres en baja frecuencia (i.e., flujo génico vía semilla) gracias a la tolerancia de árboles espontáneos (24% de los árboles de huertos).

Por otro lado, el estudio filogeográfico nacional realizado con ambas especies detectó 32 haplotipos de cpADN. En los 30 sitios analizados de huerto de *C. cujete* se observaron cinco haplotipos (uno dominante en 67% de la muestra) genéticamente distantes de las 17 poblaciones silvestres mexicanas, lo que sugiere un cuello de botella por la introducción del germoplasma cultivado en México y a su dispersión a larga distancia, mediada por propagación tanto sexual como clonal. Esta dispersión incluye su introducción al Istmo de Tehuantepec donde hibrida con *C. alata*. En cambio, en *C. alata* se observó que los huertos (10 sitios) comparten haplotipos con poblaciones silvestres simpátricas, lo que señala el aprovechamiento de germoplasma local. Al considerar sólo los sitios silvestres, ambas especies mostraron una elevada diversidad genética y la diferenciación de grupos acordes a las provincias fisiográficas del país con un patrón de aislamiento por distancia. Esta diferenciación puede asociarse a su baja capacidad de dispersión vía semilla y a una probable distribución más amplia en el último periodo glacial.

Los resultados muestran que la dinámica entre procesos evolutivos naturales y humanos en la estructura filogeográfica de las especies perennes en domesticación es contrastante según la región y la especie. La selección artificial y el flujo génico actúan en distinto grado según las prácticas de manejo locales, manteniendo la diferenciación de pozas génicas (*C. cujete* en Yucatán) o causando procesos de introgresión que enriquecen las pozas génicas cultivadas (como entre ambas especies en el Istmo de Tehuantepec). Las prácticas actuales e históricas de selección, propagación y dispersión realizadas por las comunidades indígenas y mestizas en los huertos familiares representan estrategias de manejo activo de recursos genéticos. Estas prácticas influyen de manera significativa en la composición morfológica, genética y filogeográfica de las especies perennes.

Abstract

This project uses *Crescentia* L. trees (whose fruits are used as containers) as a case study for analyzing evolutionary processes in perennial species under domestication. The main goal is to identify cause-effect relationships between domestication strategies applied to *C. cujete* and *C. alata* and their phylogeographic structure. In particular, I analyze artificial selection, clonal/sexual propagation, human dispersal of propagules and gene flow among populations from homegardens and with wild populations. The effects of these forces in the morphological and genetic diversity of the species are studied, including the occurrence of bottlenecks and intra/interspecific introgression events. In addition to human factors that modify the phylogeographic structure, I analyze natural factors as dispersal capabilities, demographic changes and historical distribution of wild populations.

A first study was developed at a local scale with *C. cujete* from homegardens found in seven Maya communities from Yucatan, which are sympatric with two wild populations. Results show that vegetative propagation (76% of cultivated trees) stabilizes artificial selection of rounder, larger and thicker fruits. Such fruit morphology is in accordance to daily and ceremonial uses of the containers. Clonal propagation keeps the differential composition of homegarden populations compared to wild populations at the morphological and haplotypic level (according to 6 chloroplast DNA microsatellites), homogenizes the genetic composition of homegardens and reduces their diversity. However, the diversity of homegarden populations is increased by the tolerance of spontaneous trees (24% of homegarden trees) which harbor wild haplotypes (i.e., seed mediated gene flow).

A second study focused in phylogeographic patterns was developed at a national scale with both species, where 32 cpDNA haplotypes were detected. In *C. cujete* 5 haplotypes were observed in 30 homegarden sites, with a dominant haplotype found in 67% of the sample. Homegarden haplotypes were genetically distant from 17 Mexican wild sites, suggesting a bottleneck caused by the introduction to Mexico of cultivated germplasm and to its long-distance dispersal based on sexual and clonal propagation. Human dispersal of *C. cujete* was also observed in the Tehuantepec Isthmus, where the species hybridizes with local *C. alata*. In contrast, haplotypes found in 10 homegarden sites of *C. alata* were shared with sympatric wild sites of this species (25 sites sampled), attesting the use of local germplasm. When considering only wild populations, both species showed high genetic diversity, differentiation of populations according to physiographic provinces and isolation by distance. This differentiation pattern can be associated to their low capacity of seed dispersal and probably to a larger distribution in the last glacial age.

Results show that the relationship between natural and human evolutionary factors is heterogeneous according to species and region. Artificial selection and gene flow occur in different degrees according to local management practices, keeping gene pool differentiation (as in *C. cujete* from Yucatán) or leading to introgression events that enrich cultivated pools (between both species in Tehuantepec, for example). Current and historical practices of selection, propagation and dispersal developed by indigenous and peasant communities represent strategies of active management of genetic resources. These practices act in a significant way on the morphological, genetic and phylogeographic composition of perennial species.

Introducción general

Evolución bajo domesticación

Desde la publicación de *El Origen de las Especies* (1859), obra en la que Charles Darwin reconoce en la domesticación un proceso análogo a la evolución natural, las especies domesticadas han representado modelos para el estudio de los procesos evolutivos (Gregory 2009; Brown 2010). Se estima que en el mundo existen cerca de 7 000 especies domesticadas y numerosas especies semi-domesticadas, pertenecientes a unas 200 familias botánicas (Dirzo y Raven 2003; Khoshbakht y Hammer 2008). Adicionalmente, la domesticación ha generado dentro de estas especies una gran diversidad de variedades (por ejemplo, tan sólo en arroz, *Oryza sativa* L., existen entre 40 000 y 50 000 variedades; Heywood 2013). Con base en la perspectiva de la biología comparada, esta diversidad filogenética, ecológica, morfológica y fisiológica de las especies domesticadas ha permitido analizar la interrelación que existe entre las características de los organismos y la evolución de sus poblaciones.

Las especies domesticadas han aportado elementos para comprender, por ejemplo, el efecto de los cambios del sistema reproductivo (grado de autocompatibilidad y reproducción sexual/asexual) en la dinámica genética y morfológica de las poblaciones (McKey et al. 2010; Miller y Gross 2011; Meyer et al. 2012), el papel del flujo génico en el enriquecimiento de las pozas génicas (Cornille et al. 2012; Hufford et al. 2012) o en su erosión (Di Vecchi-Staraz et al. 2009), así como detectar la acción de la selección, tanto diversificadora como balanceadora (Doebley et al. 2006; Parra et al. 2010; Aguirre-Dugua et al. 2013). También han permitido evaluar el papel relativo de las distintas fuerzas evolutivas (selección, flujo génico, deriva) en la rapidez y la dirección de la diferenciación entre poblaciones con base en caracteres morfológicos, bioquímicos y genéticos (Ladizinski 1998; Montes-Hernández y Eguiarte 2002; Martínez-Castillo et al. 2007; Cruse-Sanders et al. 2013).

Las especies domesticadas constituyen asimismo sistemas de estudio para evaluar la importancia de la poliploidización y la hibridación en el surgimiento de nuevos linajes (Udall y Wendel 2006; Hughes et al. 2007) y para comprender la evolución fisiológica y bioquímica de los organismos, como es el caso de la pérdida de metabolitos secundarios, cambios en los patrones de germinación, establecimiento y respuesta al fotoperiodo (Paz y Vázquez-Yanes 1998; Guillén et al.

2011; Guillén et al. 2013). La diversidad intraespecífica de numerosas especies domesticadas ofrece la oportunidad de estudiar las relaciones entre evolución fenotípica y evolución genotípica, incluyendo la identificación de los mecanismos genéticos responsables de los patrones de desarrollo y las características morfológicas de los organismos (Doebly et al. 2006; Emshwiller 2006; Paran y van der Knaap 2007; Burger et al. 2008; Meyer et al. 2012). Los procesos de domesticación también representan estudios de caso para analizar el surgimiento de las adaptaciones (Ross-Ibarra et al. 2007) y las convergencias (como en el caso del llamado *síndrome de domesticación*; Purugganan y Fuller 2009).

Una población domesticada puede ser definida como aquella en la que el ser humano ha favorecido, por medio de la selección artificial, a aquellos individuos que cuentan con características hereditarias morfológicas, fisiológicas, bioquímicas o fenológicas que satisfacen sus necesidades (Casas et al. 2007; Pickersgill 2007). Estas necesidades suelen ser principalmente alimentarias (en el caso de granos, frutos, hojas o tubérculos), pero también pueden estar relacionadas con atributos medicinales y compuestos aromáticos (numerosas especies de plantas usadas como especias), otras vertientes utilitarias (en el caso de fibras, recipientes o calidad de las maderas) y aun estéticas (en plantas de ornato).

Desde el punto de vista genético, la domesticación implica la selección y fijación de los alelos relacionados con la expresión de los fenotipos valorados en un conjunto de loci. Estos alelos pueden estar presentes en el germoplasma silvestre o surgir posteriormente durante el proceso de domesticación, ya sea por mutaciones espontáneas o debido al flujo génico con otras poblaciones (Doebly 1992; Jaenicke-Després et al. 2003). La velocidad a la que los alelos se fijen dependerá, además de la intensidad de la selección artificial, de otros factores como el flujo génico entre individuos domesticados y silvestres (de acuerdo con los mecanismos particulares de polinización y dispersión de semillas), el nivel de endogamia (asociado al tipo de sistema reproductivo), el tamaño efectivo de la población (determinado por el número de individuos propagados y por el método de propagación, ya que la propagación asexual disminuye drásticamente el tamaño efectivo aumentando la deriva génica), la duración del ciclo de vida (para un intervalo de tiempo determinado, el número de generaciones de las plantas anuales es mayor que el de las plantas perennes) y la influencia de la selección natural sobre los individuos.

Al verse influidos por estos factores, los efectos de la domesticación en la diversidad genética de las poblaciones pueden ser contrastantes. Tradicionalmente se asume que la domesticación genera

un cuello de botella, pues se selecciona un subconjunto de la variación silvestre disponible (Doebly et al. 2006). Los eventos posteriores de difusión a nuevas áreas también generan cuellos de botella (Sonnate et al. 1994; Emshwiller 2006). Adicionalmente, la creación de barreras reproductivas, la propagación vegetativa y el favorecimiento de la autocompatibilidad frecuentemente asociados a la domesticación (Hawkes 1983) disminuyen la diversidad genética de las poblaciones. Sin embargo, esta pérdida puede ser balanceada por otros factores como la introgresión con parientes silvestres (Brubaker y Wendel 1994; Burke et al. 2005; Martínez-Castillo et al. 2007) y prácticas tradicionales de manejo que favorecen la diversidad. Entre estas últimas se encuentran la introducción de individuos provenientes de otras regiones, la selección y coexistencia de distintas variedades, el cultivo independiente en varios puntos a lo largo del área de distribución de las poblaciones silvestres y la reunión de taxa cercanos que crea oportunidades para la hibridación (Casas et al. 2005; Zárata et al. 2005; Hughes et al. 2007; Parra et al. 2008).

El efecto más notorio del cuello de botella asociado a la domesticación es la generación de un patrón genético de efecto fundador en las poblaciones domesticadas, así como un patrón genealógico en el que los linajes domesticados se diferencian del linaje silvestre ancestral (Zohary 1999; Matsuoka et al. 2002). Se trata de un proceso en el cual actúan los componentes temporal y espacial de la diferenciación de las poblaciones, comúnmente en presencia de flujo génico (Montes-Hernández y Eguiarte 2002; Ross-Ibarra et al. 2009). Estos patrones, detectables con base en el estudio de loci neutrales, constituyen la base de numerosos análisis evolutivos sobre los procesos de domesticación, incluyendo aquellos que buscan identificar el número de veces que una especie ha sido domesticada (una o varias veces, según se observe un patrón mono o polifilético; Zohary 1999), cuál es su progenitor silvestre (el más cercano filogenéticamente), su centro de origen (donde se encuentra dicho progenitor silvestre) y sus rutas de difusión geográfica.

Ubicada en el cruce entre la genética de poblaciones, que aborda las fuerzas microevolutivas a nivel de población e individuos, y la filogenética, que aborda la diferenciación de nuevos linajes, el proceso de la domesticación puede ser estudiado a partir del marco conceptual y las herramientas de la filogeografía. La filogeografía es la disciplina que se enfoca en el análisis del arreglo espacial de los linajes dentro y entre especies cercanamente emparentadas (Avice 2000). Esta disciplina utiliza principalmente árboles de genes neutrales dentro de un contexto geográfico para identificar los procesos históricos y contemporáneos que son responsables de la arquitectura genealógica actual de las especies, particularmente aquellos ligados a fenómenos

demográficos como cuellos de botella, expansiones y migraciones (Templeton 2001; Avise 2000). Los análisis filogeográficos son útiles en el estudio de los procesos de domesticación porque las especies domesticadas incluyen comúnmente más de un linaje evolutivo con distintos grados de divergencia, generados a partir de procesos de diferenciación poblacional en una ventana de tiempo geológicamente reciente.

La reconstrucción filogeográfica inicia con la identificación de las relaciones genealógicas entre los individuos y poblaciones muestreados, a partir de ADN de herencia uniparental (cloroplasto, cpADN, y mitocondria, mtADN) o ADN nuclear (nADN). Estas relaciones pueden reconocerse por medio de métodos no jerárquicos como los análisis multivariados (análisis de componente principales, análisis factorial de correspondencias), los métodos de asignación (e.g. *Structure*; Pritchard et al. 2000), así como métodos jerárquicos ligados a la filogenética como la construcción de árboles basada en distancia (UPGMA, Neighbor-Joining) o en métodos probabilísticos particulares (parsimonia, máxima verosimilitud, estadística bayesiana). También son comunes las redes de haplotipos en el caso de cpADN y mtADN.

Una vez reconstruida la genealogía, la evaluación de las relaciones entre individuos/poblaciones y la asociación con su distribución geográfica puede realizarse de manera “descriptiva”, es decir, los patrones genéticos son descritos tal como se observan en la muestra (diversidad, frecuencia y estructuración) y se sobrepone directamente la genealogía obtenida en el escenario geográfico para reconstruir la historia de las poblaciones (Hickerson et al. 2010). Otros métodos filogeográficos, como el Nested Clade Phylogeographic Analysis (Templeton et al. 1995) y sus desarrollos posteriores (Templeton 1998, 2004a, 2004b, 2010), ponen a prueba la asociación entre la distribución geográfica de los haplotipos y sus relaciones genealógicas con base en permutaciones de los datos y en la generación de una distribución nula de los estadísticos que evalúan dicha asociación. También existen diversos métodos agrupados en la “filogeografía estadística” que evalúan la probabilidad de los datos observados dado uno o varios modelos definidos a priori (hipótesis filogeográficas). Estos métodos generan múltiples árboles filogenéticos posibles bajo cada modelo, por lo que consideran la estocasticidad del proceso genealógico causada por la deriva génica y la mutación. Por lo tanto, ningún modelo es “verdadero” sino que la genealogía observada es sólo una variable que liga a los datos observados con cada hipótesis posible (Knowles 2004, 2009; Nielsen y Beaumont 2009). En cualquier caso, los distintos métodos estadísticos asociados al estudio de los procesos filogeográficos intraespecíficos se encuentran

basados en la teoría de la coalescencia (Schaal 1998; Avise 2000).

A pesar de contar con esta diversidad de herramientas analíticas, los estudios filogeográficos se enfrentan a diversas dificultades, de origen tanto biológico como metodológico, para identificar los procesos responsables de la arquitectura genealógica de las especies domesticadas. Entre las limitaciones de origen biológico se encuentra la corta ventana temporal de la domesticación (un máximo de 10 a 12 mil años en los casos más antiguos y mucho más corta en la mayoría de las especies domesticadas) que favorece la retención de polimorfismos ancestrales (Maddison y Knowles 2006), la cual puede ser confundida con flujo génico (Harrison y Harrison 2011). También es difícil reconstruir la historia geográfica y genealógica de las poblaciones domesticadas cuando éstas y/o las poblaciones silvestres carecen de estructuración genética (Aradhya et al. 2010) o han experimentado elevados niveles de flujo génico, por lo que las poblaciones domesticadas se parecen más entre sí que con sus respectivas poblaciones progenitoras (Chacón-Sánchez et al. 2005; Emswiller 2006). Otro problema es el análisis de poblaciones exclusivamente actuales, pues si otras poblaciones o linajes ya extintos contribuyeron a la poza génica domesticada actual, éstos no podrán ser detectados y la especie domesticada aparecerá asociada a un solo pariente silvestre, aquel que sea más cercano de los pocos linajes que sobrevivieron (Gross y Olsen 2010).

Entre las limitaciones de origen metodológico, se ha señalado que la interpretación de las topologías de los árboles filogenéticos para identificar el progenitor silvestre y conocer el número de veces que ha sido domesticada una especie no es confiable en los casos en que la domesticación ha sucedido a lo largo de una ventana temporal mayor, con presiones selectivas más leves, en un área geográfica más amplia y si ha habido flujo génico recurrente entre poblaciones a lo largo del proceso selectivo (Allaby et al. 2008). Denominado ‘modelo extendido de domesticación’ (por contraposición al modelo clásico de domesticación rápida en un área geográfica pequeña en que la selección artificial es suficientemente fuerte para generar un claro patrón de cuello de botella), esta propuesta abre el debate sobre el tipo de herramientas analíticas utilizadas y su interpretación, así como los distintos patrones genéticos que se deben esperar bajo diversos modelos de diferenciación poblacional (Ross-Ibarra y Gaut 2008; Fuller et al. 2012; Heun et al. 2012). Asimismo, las herramientas de reconstrucción de árboles filogenéticos pueden ser poco apropiadas para el análisis de las relaciones históricas por debajo del nivel de especie, donde en vez de relaciones jerárquicas la recombinación y la reproducción sexual generan relaciones reticuladas entre individuos y

poblaciones. Los árboles filogenéticos asumen una estructura jerárquica basada en bifurcaciones, por lo que generan la estructura bifurcada que mejor explica los patrones observados en los datos (incluso en presencia de relaciones reticuladas entre individuos). En este caso, la presencia de un grupo monofilético no podría considerarse como evidencia de que el taxón forma un linaje evolutivo distinto (Huson y Bryant 2006; Reeves y Richards 2007). Como alternativa, se ha señalado que los métodos basados en redes son más aptos para analizar datos de genealogías intraespecíficas, pues permiten la presencia de ciclos o *loops* que representan las relaciones no dicotómicas entre individuos (Posada y Crandall 2001; Morrison 2005; McBreen y Lockhart 2006).

[Véase el Anexo I para una descripción más extensa de las herramientas de la filogeografía y sus aplicaciones en el estudio de los procesos evolutivos bajo domesticación.]

Prácticas actuales de manejo y selección artificial

Además del análisis de genealogías de loci neutrales, los procesos demográficos y ecológicos que experimentan las poblaciones bajo domesticación pueden ser estudiados por medio de las prácticas de manejo y selección artificial que suceden en la actualidad. Si bien la domesticación de plantas inició en distintas partes del mundo hace unos 12 000 años, este proceso evolutivo se encuentra aún vigente tanto en las especies agrícolas altamente diferenciadas de sus parientes silvestres como en otras especies aprovechadas, manejadas y seleccionadas por los grupos humanos.

Se ha propuesto que las primeras acciones de domesticación de recursos vegetales a finales del Pleistoceno fueron motivadas por la reducción de recursos silvestres a causa de cambios climáticos, así como por presiones demográficas, la regionalización de los grupos humanos y la existencia de preadaptación tecnocultural (Harlan 1975; Flannery 1986; Ladizinski 1998; Fuller et al. 2011). Las evidencias arqueológicas señalan que las sociedades humanas cambiaron gradualmente de un modo de vida nómada basado en la caza y la recolección hacia un estilo de vida más sedentario y socialmente estructurado; de sólo recolectar plantas silvestres empezaron a cultivarlas modificando el paisaje por medio del fuego y sistemas de riego, y posteriormente establecieron sistemas de cultivo en que iniciaron las presiones de selección artificial (consciente e inconsciente; Zohary 2004) que condujeron a su domesticación (MacNeish 1967; Harris 1989).

En la actualidad, las acciones de selección artificial que fomentan en distinto grado la sobrevivencia y reproducción diferencial de individuos han sido documentadas en relación con las prácticas de manejo de poblaciones de plantas. Por un lado, el grado más bajo de selección se presenta en el manejo de poblaciones silvestres, cuando los campesinos dejan en pie y/o dispersan propágulos de individuos favorables, o bien cuando trasladan propágulos o individuos seleccionados de la población silvestre a un sitio antropogénico (Casas et al. 1996; Blancas et al. 2010, 2013). La remoción de ciertas especies y el favorecimiento de otras pueden llevar también a la creación de ecosistemas aparentemente naturales, pero cuya estructura y composición satisfacen las necesidades humanas (Barrera et al. 1977; Wiersum 2004). En estos casos, es posible que las poblaciones manejadas no estén fijadas para algún carácter pero sí que difieran de las silvestres en las frecuencias de los fenotipos favorecidos y en las frecuencias alélicas detectadas con marcadores neutrales, lo cual constituye un signo de domesticación incipiente (Casas et al. 1999; Parra et al. 2008). Por otro lado, el mayor grado de selección se presenta en los contextos agrícolas, donde se propaga y provee de todas sus necesidades a las plantas domesticadas en un ambiente específicamente creado para su crecimiento y cosecha (la parcela). En algunos contextos campesinos actuales existe lo que Brush (2004) denomina “fitomejoramiento participativo”, quizás la forma más rápida de domesticación en los contextos campesinos tradicionales. En estos procesos se practican procesos selectivos intensos y sistemáticos, así como el manejo de cruces (Dawson et al. 2012).

El análisis de estas formas de manejo ligadas a los procesos de selección artificial permite, por un lado, valorar los procesos actuales de domesticación llevados a cabo en espacios productivos tradicionales que representan importantes reservorios de diversidad biológica (Moreno-Calles et al. 2010; Arellanes et al. 2013) y, por otro, profundizar en los móviles y los mecanismos que conducen a la domesticación de plantas, en una especie de “ventana al pasado” (Blancas et al. 2010, 2013). Así como es posible recurrir a la ecología, la genética de poblaciones y la filogeografía para analizar la variación de las poblaciones aprovechadas y sus orígenes (la dimensión biológica del proceso de domesticación), también es necesario recurrir a la etnobotánica y la ecología humana para comprender las formas de uso, manejo y selección de esta variación (esto es, la dimensión humana del proceso).

La etnobotánica se enfoca en analizar cómo los grupos humanos conocen, usan y manejan las plantas (Martin 2004). En el marco de los procesos de domesticación la etnobotánica permite documentar la selección artificial en dos niveles: en la percepción y valoración de la variabilidad

intraespecífica, como sucede con la clasificación local de variedades (Casas et al. 1999; Aguirre-Dugua et al. 2012), y en la toma de decisiones que definen la sobrevivencia y la reproducción de los individuos seleccionados (Casas et al. 1996; Martínez-Castillo et al. 2004). En una escala más amplia del tiempo y del espacio, la información etnobotánica en torno a la selección y transporte de individuos, sus frutos, semillas o propágulos asexuales, así como las prácticas que favorecen el flujo génico entre poblaciones por vía de polen o semillas, puede proveer de un marco de referencia muy útil para la interpretación de datos filogeográficos, así como para el diseño de esquemas de muestreo y la elaboración de nuevas hipótesis de trabajo. Por ejemplo, la documentación del transporte de propágulos mediado por las prácticas de comercio regional o local permite dimensionar montos y direcciones de flujo génico entre poblaciones (Johannessen 1966), y las prácticas de manejo de las poblaciones pueden aportar elementos para analizar los mecanismos que son responsables de la formación e incorporación de individuos híbridos a las pozas domesticadas (Jarvis y Hodgkin 1999; Achtaq et al. 2010). Las prácticas de manejo asociadas a distintos escenarios productivos pueden también ser utilizadas para cuantificar y modelar los efectos de la selección artificial en los tamaños efectivos y en los niveles de endogamia de las poblaciones (Clement 1988), así como para poner a prueba los patrones genéticos esperados bajo distintos modelos de domesticación (rápida vs. extendida; véase una discusión más amplia en el Anexo I).

Domesticación de plantas perennes

Debido a su protagonismo en la invención de la agricultura, así como su relevancia económica y agrícola, las plantas anuales y sobre todo los cereales han sido el objeto predilecto del estudio de la domesticación (Vavilov 1926; Harlan 1975b; Hillman y Davies 1990). Tan sólo las familias Poaceae y Fabaceae reúnen un tercio de las especies domesticadas en el mundo (Zeven y de Wet 1982) y han contribuido a la mayor parte de lo que sabemos sobre domesticación y el origen de la agricultura (Doebley et al. 2006; Purugganan y Fuller 2009). Sus ciclos de vida cortos, relativamente bajos niveles de flujo génico (las especies que fundaron la agricultura en el Creciente Fértil, trigo *Triticum aestivum* L., cebada *Hordeum vulgare* L., chícharo *Pisum sativum* L., lenteja *Lens culinaris* Medik., garbanzo *Cicer arietinum* L. y sus progenitores silvestres son anuales que se autopolinizan) y altos niveles de estructuración entre poblaciones (Hamrick y Godt 1996; Nybom 2004) han permitido aislar a las poblaciones domesticadas de sus parientes silvestres y mantener la identidad varietal.

En contraste con el estado del conocimiento sobre los procesos de domesticación de plantas anuales, numerosas especies perennes pertenecientes a diversas familias botánicas han sido domesticadas en todos los centros de domesticación del mundo (Miller y Gross 2011). La diversidad filogenética, ecológica y morfológica de las especies perennes domesticadas representa una rica fuente de estudios en torno a las dinámicas poblacionales, filogeográficas y filogenéticas que enmarcan el proceso evolutivo de la domesticación (véase Anexo I). El estudio de estas dinámicas ha de permitir también reevaluar y enriquecer nuestro conocimiento sobre el potencial evolutivo y adaptativo de este grupo de plantas, como se ha observado en la elevada capacidad que tienen de adaptarse a cambios rápidos como el calentamiento global (Hamrick 2004) o a los nuevos ambientes en los que se establecen (Petit et al. 2004).

Los árboles, como forma de vida perenne, poseen ciclos de vida extensos, una fase juvenil larga, sistemas reproductivos exógamos, elevados niveles de flujo génico intra e interespecífico y bajas tasas de especiación en comparación con herbáceas y arbustos (Dodd et al. 1999; Verdú 2002; Petit y Hampe 2006). Los árboles muestran también bajos niveles de estructuración entre sus poblaciones, altos niveles de depresión por endogamia y una elevada diversidad genética (Petit y Hampe 2006). Debido a estas características, sus tasas de domesticación son menores a las de las plantas anuales y exhiben un menor número de rasgos de domesticación (Pickersgill 2007; Meyer et al. 2012).

Las especies perennes son consideradas difíciles de domesticar. En un modelo clásico de siembra, cosecha y selección la domesticación sería muy lenta y en cada generación la progenie podría segregarse los caracteres de interés. Por ello Zohary y Spiegel-Roy (1975) han propuesto que la domesticación de este tipo de plantas en el Mediterráneo y Medio Oriente tuvo como primer paso un cambio en su biología reproductiva, de reproducción sexual (en estado silvestre) a reproducción vegetativa (bajo cultivo). Estos autores consideran que la propagación vegetativa ha sido la estrategia para evitar la segregación genética y estabilizar la selección, reduciendo también el tiempo necesario para que el individuo empiece a producir frutos. Bajo la perspectiva de Zohary (2004) los cultivares de frutales propagados clonalmente no son linajes verdaderos, sino réplicas clonales de individuos excepcionales. Ante los sistemas de autoincompatibilidad presentes en estas especies, para asegurar la producción de frutos se han seleccionado adicionalmente mayores tasas de autocompatibilidad (durazno, ciruela, almendra), partenocarpia

(peras, higos) o variedades hermafroditas en especies originalmente dioicas (uva; Zohary y Hopf 1994).

La introducción de la propagación clonal y de cambios en el sistema reproductivo de las plantas perennes puede tener un impacto importante en la evolución de estas especies, ya que el sistema reproductivo es uno de los mejores predictores de la estructura genética, tanto en marcadores neutrales (Hamrick y Godt 1996) como en caracteres cuantitativos (Charlesworth y Charlesworth 1995). La propagación clonal puede propiciar la reducción de la diversidad genética de las poblaciones por efecto fundador y aumento de la deriva génica, así como aumentar la estructuración de la especie y disminuir los tamaños efectivos de población (Hedrick 2000). En relación con los progenitores silvestres, el flujo génico se vería interrumpido y no habría incorporación de genes silvestres a la población bajo domesticación.

Sin embargo, además de las especies propagadas clonalmente en la región mediterránea, existen especies perennes que han sido históricamente propagadas y domesticadas por medio de semillas, particularmente en Mesoamérica y la región amazónica. Para México pueden mencionarse el aguacate (*Persea americana* Mill.), guayaba (*Psidium guajava* L.), chicozapote (*Manilkara zapota* (L.) P. Royen), mamey (*Pouteria sapota* (Jacq.) H.E. Moore y Stearn), guajes (*Leucaena esculenta* (Moc. y Sessé ex DC.) Benth.), y diversas cactáceas columnares (géneros *Polaskia* Backeb. y *Escontria* Rose principalmente; Smith et al. 1992, Carmona y Casas 2005).

Se ha propuesto que la domesticación de los árboles puede lograrse por medio de la transformación gradual de la composición y estructura de los bosques, de bosques ligeramente modificados donde las especies valoradas son promovidas y las no valoradas son eliminadas, a ambientes controlados por el ser humano (como los huertos) donde se encuentran variedades arbóreas enteramente seleccionadas para propósitos particulares (Wiersum 1997). Entre estos dos extremos, los sistemas agroforestales son espacios donde los árboles se encuentran bajo procesos actuales de manejo y domesticación (Clement 1988; Wiersum 2004; Moreno-Calles et al. 2010), pues al mantener e incluso aumentar los genotipos maternos con características fenotípicas deseables, se incrementa la probabilidad de cruce entre dichos genotipos y la presencia de fenotipos favorables en la progenie (véase un ejemplo en *Leucaena esculenta* en Zárate et al. 2005). A nivel de huertos, se ha propuesto también que la domesticación de árboles propagados por semilla es producto de la eliminación de árboles indeseables, junto con el cultivo de

individuos de alta calidad y la diseminación de sus genotipos por medio del comercio de sus frutos en los mercados (Popenoe 1919).

El análisis de los patrones genéticos y filogeográficos de diez especies perennes domesticadas del Viejo y Nuevo Mundos muestran que los procesos históricos de domesticación de árboles son altamente complejos, ya que en ellos se expresan simultáneamente los efectos del tipo de propagación, de su biología reproductiva y de las prácticas de manejo a las que están sujetos (véase Anexo I). Como denominador común, los datos genéticos muestran que las especies perennes domesticadas tienen elevados niveles de diversidad genética (por lo que experimentaron cuellos de botella débiles durante su domesticación) y que han experimentado eventos de dispersión a larga distancia, elevados niveles de hibridación entre pozas domesticadas, así como eventos de introgresión con parientes silvestres en diversos puntos de sus áreas actuales de distribución.

En particular, las evidencias genéticas sugieren que los árboles considerados tradicionalmente clonales han presentado eventos de flujo génico e introgresión, lo cual significa que la reproducción sexual por medio de semillas ha jugado un rol central en su evolución. La dinámica evolutiva de estas especies estaría entonces moldeada por sistemas mixtos en los que interactúan la clonalidad con la reproducción sexual, lo cual permitiría disminuir los costos de la clonalidad (disminución de diversidad, acumulación de mutaciones deletéreas, sensibilidad a patógenos y depresión por endogamia) conservando ciertos beneficios (estabilización de la selección, facilidad de propagación) (McKey et al. 2010).

Por lo tanto, para comprender la variedad de expresiones que han adoptado los procesos de domesticación de especies perennes y para esclarecer las relaciones causales entre patrones genéticos e historia de domesticación se vuelve necesario identificar tanto los procesos de flujo génico como las prácticas de selección y manejo humano de sus poblaciones. Esto es posible en los espacios productivos tradicionales donde hoy en día las especies perennes se encuentran en proceso de domesticación y donde aún coexisten con sus parientes silvestres, como en Mesoamérica.

Mesoamérica, la región comprendida entre el centro de México y Costa Rica, ha sido reconocida como uno de los principales centros de origen de plantas cultivadas del mundo (De Candolle 1886, Vavilov 1926, Harlan 1975a). Tan sólo para México se calcula que existen entre 5 y 7 mil especies de plantas útiles, de las cuales 200 están plenamente domesticadas y cerca de 700 están siendo manejadas o cultivadas en baja intensidad por los campesinos (Caballero et al. 1998). Muchos de estos taxa han sido poco estudiados (Hernández-Bermejo y León 1992; Picó y Nuez 2000a,

2000b). De manera notoria, las especies perennes representan cerca de 65% de las plantas domesticadas en nuestro país (Hernández-Xolocotzi 1993). Entre ellas se cuentan *Crescentia alata* Kunth y *C. cujete* L., plantas nativas que, junto con el algodón, el henequén y el ixtle, son utilizadas con fines no alimenticios.

Los frutos esféricos indehiscentes y duros de los árboles de *Crescentia* han sido utilizados desde tiempos precolombinos para elaborar recipientes, utensilios domésticos y artesanías. Las evidencias históricas muestran que estas especies se han utilizado desde las fases iniciales del desarrollo agrícola de Mesoamérica y que cuentan con una elevada relevancia cultural para diversos pueblos de nuestro país. Por ejemplo, *Crescentia alata* figura entre las diez especies de mayor uso tradicional en las selvas bajas caducifolias de nuestro país (Boyás et al. 2001). Las especies de este género cuentan con una limitada capacidad de dispersión natural vía semilla y presentan una amplia distribución en las zonas tropicales de México, cuya fragmentación sugiere que han sido introducidas por el hombre en diversas áreas. A lo largo de esta distribución las poblaciones silvestres coexisten con poblaciones en huertos familiares (véase en el Capítulo 1 un panorama más completo sobre la historia natural y cultural de estas especies).

Debido a estas características naturales y culturales, los árboles de *Crescentia* representan un caso de estudio que ofrece la oportunidad de identificar en una escala regional los procesos de flujo génico (tanto natural como artificial), así como las acciones de manejo y selección artificial que determinan la diversidad genética y la diferenciación de poblaciones de especies perennes bajo domesticación. Comprender los efectos de estas acciones de manejo humano en la estructura filogeográfica de sus poblaciones silvestres y cultivadas contribuirá a precisar las áreas que son relevantes en la domesticación de plantas y aportar evidencias sobre los procesos de dispersión humana de germoplasma dentro de Mesoamérica.

Pregunta general y objetivos

Descripción del proyecto

Este proyecto tiene como marco los procesos evolutivos de domesticación de árboles, usando como estudio de caso las dos especies mesoamericanas del género *Crescentia*. Se integran dos niveles de análisis, el ecológico y el filogeográfico, con el propósito de establecer las relaciones causa-efecto entre las estrategias de domesticación a las que están sujetas estas especies y sus patrones genéticos filogeográficos. Se analizan en particular los efectos de la selección artificial, la propagación clonal/sexual, la dispersión humana de propágulos y el flujo génico con poblaciones silvestres en la diversidad y estructuración genética de las especies.

La primera parte del estudio cubre el nivel ecológico, en el que se analizan las acciones de manejo en huertos familiares (criterios e intensidad de la selección artificial, tipo de propagación y dispersión, los cuales están impulsados por móviles utilitarios y culturales) y su relación con el flujo génico entre poblaciones de huertos y silvestres. La segunda parte abarca el nivel filogeográfico, en el que se describen los patrones de diversidad y estructuración de linajes de ADN de cloroplasto en las poblaciones cultivadas y silvestres para conocer el impacto del manejo local a mayores escalas temporales y espaciales, incluyendo la ocurrencia de cuellos de botella y eventos de introgresión intra e interespecífica.

A lo largo del estudio se utilizan evidencias etnobotánicas, documentales e históricas sobre el aprovechamiento de estas especies para interpretar los patrones observados, así como conocer la historia de este importante género de plantas en nuestro país.

Por razones de tiempo y recursos, la primera parte se enfocó en *C. cujete*, mientras que la segunda abarca las dos especies mesoamericanas, *C. cujete* y *C. alata*.

Pregunta general del proyecto

¿Cuáles son las relaciones filogeográficas actuales entre poblaciones silvestres y cultivadas de *Crescentia cujete* y *C. alata*, y cómo se relacionan con los procesos culturales de selección artificial y los procesos ecológicos de flujo génico a escala local?

Objetivos y preguntas particulares

1) Documentar las prácticas de manejo y selección artificial de *C. kujete*.

¿Cómo es percibida la variabilidad intraespecífica por la gente que usa esta especie y qué caracteres son tomados en cuenta para la selección de los árboles cultivados?

¿En qué actividades de manejo practicadas sobre los árboles se manifiesta la selección artificial y con qué intensidad?

¿Qué estrategias de propagación son utilizadas (sexuales/asexuales)?

Hipótesis: Debido al uso de los frutos como recipientes se espera que los caracteres seleccionados estén asociados al tamaño y forma del fruto, así como al grosor del pericarpio. Se espera detectar una selección artificial intensa si la principal estrategia de manejo es el cultivo en huertos, particularmente si la propagación es asexual.

2) Evaluar la diversidad genética de las poblaciones silvestres y cultivadas, y su relación con las prácticas de manejo y el flujo génico entre ellas.

¿Cuál es el efecto del manejo sobre la diversidad genética de las poblaciones cultivadas de *Crescentia kujete*?

¿Existe flujo génico vía semillas o vía polen entre poblaciones silvestres y manejadas?

Hipótesis: Si la propagación vegetativa es la forma predominante de cultivo, se espera que las poblaciones cultivadas tengan menor diversidad genética que las silvestres circundantes y la estructuración entre poblaciones sea mayor. Debido al síndrome quiropterofílico de polinización se detectaría principalmente flujo génico vía polen, cuya magnitud sería mayor si existiese propagación de los árboles cultivados a través de semillas.

3) Reconstruir las relaciones filogeográficas entre poblaciones silvestres y cultivadas de *C. kujete* y *C. alata* en México y Centroamérica.

¿Existe una diferenciación geográfica y/o genealógica entre los linajes cultivados y silvestres?

¿Cuál es el origen u orígenes del germoplasma presente en los huertos?

¿Qué extensión tiene la dispersión artificial: es local o a larga distancia?

Hipótesis: Debido a la amplia distribución de las poblaciones silvestres se espera que las poblaciones cultivadas tengan varios orígenes a partir de poblaciones silvestres simpátricas, con dispersión local.

Estructura de la tesis

Capítulo 1. Sistema de estudio: las especies mesoamericanas del género *Crescentia*

Se revisan las características biológicas del género *Crescentia* incluyendo su distribución, características ecológicas y morfológicas. A la historia natural de este género se suman diversas evidencias en torno a la relevancia histórica y cultural de sus frutos y los recipientes elaborados con ellos, particularmente las ‘júcaras’, en México, Centro y Sudamérica. El fin de esta sección es mostrar los elementos biológicos y humanos que justifican la elección de este sistema de estudio para el presente proyecto.

Capítulo 2. Aguirre-Dugua X., Eguiarte L.E., González-Rodríguez A., Casas A. 2012. *Round and large: morphological and genetic consequences of artificial selection on the gourd tree *Crescentia cujete* by the Maya of the Yucatan Peninsula, Mexico.* *Annals of Botany* 109 (7): 1297-1306.

En este artículo se analiza la relación que existe entre la percepción de la variabilidad intraespecífica de *C. cujete*, las prácticas de manejo de los árboles en los huertos y la composición haplotípica de las poblaciones de huerto y silvestres en la región maya yucateca. Se muestra que la percepción de la variabilidad es expresada por los habitantes de dicha región en la clasificación local de las variedades de huerto y silvestre de *C. cujete* en relación con características morfológicas específicas de los frutos como su redondez y su tamaño. Se documentan asimismo las prácticas diferenciales de manejo de dichas variedades en los huertos, las cuales constituyen acciones de selección artificial, y sus consecuencias en la diferenciación de las poblaciones a nivel de ADN de cloroplasto.

Capítulo 3. Aguirre-Dugua X., Pérez-Negrón E., Casas A. 2013. *Phenotypic differentiation between wild and domesticated varieties of *Crescentia cujete* L. and culturally relevant uses of their fruits as bowls in the Yucatan Peninsula, Mexico.* *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine* 9:76.

Este artículo analiza la diferenciación morfológica de frutos y caracteres vegetativos de las variedades de *C. cujete* reconocidas en el área maya en relación con los usos históricos y actuales que se les dan a las júcaras. Se muestran las consecuencias fenotípicas de la selección artificial entre la variedad silvestre y tres variedades domesticadas llevada a cabo desde periodos históricos

por la estrecha asociación que existe entre determinadas características morfológicas del fruto (redondez y tamaño) y los usos culturalmente relevantes de estos recipientes para el pueblo maya.

Capítulo 4. *Patrones filogeográficos en *Crescentia cujete* y *C. alata*.*

Se muestran los resultados del análisis filogeográfico de ambas especies en el contexto de su domesticación, es decir, del manejo humano de los individuos en huertos y en contraposición con las poblaciones silvestres. Este análisis se basa en poblaciones colectadas en México y muestras puntuales provenientes de Centro y Sudamérica obtenidas principalmente de ejemplares de herbario, provenientes de contextos de huerto y de contextos silvestres. Se analizan las relaciones genealógicas entre 32 haplotipos obtenidos con seis microsatélites de cloroplasto (cpADN), así como su distribución geográfica y abundancia en las poblaciones (47 sitios para *C. cujete* y 35 sitios para *C. alata*). Se discute la distribución diferencial/no diferencial de haplotipos entre poblaciones de huerto y silvestres, la cual evidencia el impacto del manejo y la selección humanos en la modificación de la estructura filogeográfica de las especies. Se analizan principalmente la dispersión artificial a larga distancia de germoplasma entre huertos (en *C. cujete*), la utilización de árboles de origen local (en *C. alata*) y foráneo (en *C. cujete*) y la facilitación de procesos de flujo génico intra e interespecífico. Se discuten brevemente los patrones filogeográficos de las poblaciones silvestres en relación con los cambios climáticos de finales del Pleistoceno.

Conclusiones generales

Se establecen las conclusiones puntuales de la investigación en función de las preguntas planteadas en el proyecto, haciendo hincapié en los resultados que aportan elementos de interés teórico y metodológico en el estudio de los procesos evolutivos de domesticación en especies perennes.

Anexo I. *Aguirre-Dugua Xitlali y González-Rodríguez Antonio. Phylogeographical approaches to the study of plant domestication, with special emphasis on perennial plants. (en prep.). En: Lira R. y Casas A. (eds.). Mexican ethnobotany: interactions of people and plants in Mesoamerica. Springer Verlag.*

Este capítulo de libro desarrolla de manera más extensa los elementos teóricos y metodológicos que integran el estudio de los procesos evolutivos bajo domesticación y la disciplina de la filogeografía. En la primera parte se presenta una síntesis de la filogeografía, sus principales aproximaciones y herramientas, y se analiza cuáles son sus aplicaciones, alcances y limitaciones en los estudios orientados a conocer el origen y la evolución de las especies domesticadas. En la segunda parte se analizan estos temas en el caso particular de las plantas domesticadas perennes, particularmente árboles. Se revisa la información de diez especies perennes domesticadas del Viejo y Nuevo Mundo propagadas clonalmente y por semillas, con el propósito de analizar cómo los datos de ADN nuclear y de organelos han enriquecido nuestro conocimiento sobre su historia, incluyendo la intensidad de los cuellos de botella que han experimentado, sus orígenes geográficos y la identidad de sus parientes silvestres, así como la presencia de eventos de introgresión. Se discuten también los métodos analíticos utilizados en estos estudios. Finalmente, los patrones filogeográficos de estas especies son discutidos a la luz de la teoría sobre domesticación de plantas perennes, haciendo una reflexión final sobre el papel que pueden jugar los estudios etnobotánicos para complementar las investigaciones genéticas.

Anexo II. *Referencias históricas relativas a los árboles de Crescentia y sus frutos en la Nueva España y otras regiones conquistadas por los españoles.*

Se citan los textos de los naturalistas que entre los siglos XVI y XVIII mencionan en sus obras a los frutos de *Crescentia* en México, Centroamérica y Sudamérica. Se muestran los textos originales con el propósito de destacar el uso extendido de estas especies en las regiones tropicales de América. Además de los usos de los frutos para la elaboración de recipientes, se busca mostrar que desde entonces en numerosos sitios se distinguía entre *C. alata* y *C. cujete*.

Anexo III. *Protocolo de extracción de ADN de Crescentia.*

Se muestran los detalles del protocolo de extracción de ADN con fines de replicación de los métodos seguidos en el presente proyecto.

Anexo IV. *Datos adicionales asociados a los análisis filogeográficos.*

Se presenta información adicional detallada en torno a los datos y análisis filogeográficos del Capítulo 4 para fines de consulta.

Referencias

- Achtak, H. et al., 2010. Traditional agroecosystems as conservatories and incubators of cultivated plant varietal diversity: the case of fig (*Ficus carica* L.) in Morocco. *BMC Plant Biology*, 10, p.28.
- Aguirre-Dugua, X. et al., 2012. Round and large: morphological and genetic consequences of artificial selection on the gourd tree *Crescentia cujete* by the Maya of the Yucatan Peninsula, Mexico. *Annals of Botany*, 109(7), pp.1297–306.
- Aguirre-Dugua, X., Pérez-Negrón, E. y Casas, A., 2013. Phenotypic differentiation between wild and domesticated varieties of *Crescentia cujete* L. and culturally relevant uses of their fruits as bowls in the Yucatan Peninsula, Mexico. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 9, p.76.
- Allaby, R.G., Fuller, D.Q. y Brown, T.A., 2008. The genetic expectations of a protracted model for the origins of domesticated crops. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105(37), pp.13982–6.
- Aradhya, M.K. et al., 2010. Genetic structure and differentiation in cultivated fig (*Ficus carica* L.). *Genetica*, 138(6), pp.681–94.
- Arellanes, Y. et al., 2013. Influence of traditional markets on plant management in the Tehuacán Valley. *Journal of ethnobiology and ethnomedicine*, 9(1), p.38.
- Avise, J.C., 2000. *Phylogeography: the history and formation of species*, Cambridge: Harvard University Press.
- Barrera, A., Gómez-Pompa, A. y Vázquez-Yanes, C., 1977. El manejo de las selvas por los Mayas: sus implicaciones silvícolas y agrícolas. *Biotica*, 2(2), pp.47–61.
- Blancas, J. et al., 2013. Ecological and socio-cultural factors influencing plant management in Náhuatl communities of the Tehuacán Valley, Mexico. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 9, p.39.
- Blancas, J. et al., 2010. Plant Management in the Tehuacán-Cuicatlán Valley, Mexico. *Economic Botany*, 64(4), pp.287–302.
- Boyás, D.J.C. et al., 1988. *Diagnóstico Forestal del Estado de Morelos*. Publicación Especial no. 7, Segunda edición. Zacatepec: Secretaría de Ganadería, Recursos Forestales y Pesca, y Centro de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias.
- Brown, A.H.D., 2010. Variation under domestication in plants: 1859 and today. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London, Series B*, 365(1552), pp.2523–2530.
- Brubaker, C.L. y Wendel, J.F., 1994. Reevaluating the origin of domesticated cotton (*Gossypium hirsutum*; Malvaceae) using nuclear Restriction Fragment Length Polymorphisms (RFLPs). *American Journal of Botany*, 81(10), pp.1309–1326.
- Burger, J.C., Chapman, M. a y Burke, J.M., 2008. Molecular insights into the evolution of crop plants. *American Journal of Botany*, 95(2), pp.113–22.
- Burke, J.M., Knapp, S.J. y Rieseberg, L.H., 2005. Genetic consequences of selection during the evolution of cultivated sunflower. *Genetics*, 171(4), pp.1933–40.
- Caballero, J. et al., 1998. Patrones en el conocimiento, uso y manejo de plantas en pueblos indígenas de México. *Revista de Estudios Atacameños*, 16, pp.181–196.

- De Candolle, A., 1886. *Origins of Cultivated Plants*, Ithaca: Cornell University Library.
- Carmona, A. y Casas, A., 2005. Management, phenotypic patterns and domestication of *Polaskia chichipe* (Cactaceae) in the Tehuacán Valley, Central Mexico. *Journal of Arid Environments*, 60(1), pp.115–132.
- Casas, A. et al., 2007. In situ management and domestication of plants in Mesoamerica. *Annals of Botany*, 100(5), pp.1101–15.
- Casas, A. et al., 2005. Maintenance of phenotypic and genotypic diversity in managed populations of *Stenocereus stellatus* (Cactaceae) by indigenous peoples in Central Mexico. *Biodiversity and Conservation*, 15(3), pp.879–898.
- Casas, A., Caballero, J., Valiente-Banuet, A., et al., 1999. Morphological variation and the process of domestication of *Stenocereus stellatus* (Cactaceae) in Central Mexico. *American Journal of Botany*, 86(4), pp.522–533.
- Casas, A. et al., 1996. Plant management among the Nahua and the Mixtec in the Balsas River Basin, Mexico: An ethnobotanical approach to the study of plant domestication. *Human Ecology*, 24(4), pp.455–478.
- Casas, A., Caballero, J. y Valiente-Banuet, A., 1999. Use, management and domestication of columnar cacti in South Central Mexico: a historical perspective. *Journal of Ethnobiology*, 19(1), pp.71–95.
- Chacón-Sánchez, M.I., Pickersgill, B. y Debouck, D.G., 2005. Domestication patterns in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) and the origin of the Mesoamerican and Andean cultivated races. *Theoretical and Applied Genetics*, 110(3), pp.432–44.
- Charlesworth, D. y Charlesworth, B., 1995. Quantitative genetics in plants: the effect of the breeding system on genetic variability. *Evolution*, 49(5), pp.911–920.
- Clement, C.R., 1988. Domestication of the pejibaye palm (*Bactris gasipaes*): past and present. *Advances in Economic Botany*, 6, pp.155–174.
- Cornille, A. et al., 2012. New insight into the history of domesticated apple: secondary contribution of the European wild apple to the genome of cultivated varieties. *PLoS genetics*, 8(5), p.e1002703.
- Cruse-Sanders, J.M. et al., 2013. Managing diversity: Domestication and gene flow in *Stenocereus stellatus* Riccob. (Cactaceae) in Mexico. *Ecology and Evolution*, 3(5), pp.1340–55.
- Dawson, I., Harwood, C., Jamnadass, R., Beniést, J., eds. 2012. *Agroforestry tree domestication: a primer*. Nairobi: The World Agroforestry Centre.
- Dirzo, R. y Raven, P.H., 2003. Global State of Biodiversity and Loss. *Annual Review of Environment and Resources*, 28(1), pp.137–167.
- Dodd, M.E., Silvertown, J. y Chase, M.W., 1999. Phylogenetic analysis of trait evolution and species diversity variation among angiosperm families. *Evolution*, 53, pp.732–744.
- Doebley, J.F., 1992. Molecular systematics and crop evolution. In P. S. Soltis, D. E. Soltis, y J. J. Doyle, eds. *Molecular Systematics of Plants*. New York: Chapman and Hall, pp. 202–222.
- Doebley, J.F., Gaut, B.S. y Smith, B.D., 2006. The molecular genetics of crop domestication. *Cell*, 127, pp.1309–1321.

- Emshwiller, E., 2006. Genetic data and plant domestication. In M. A. Zeder et al., eds. *Documenting domestication: new genetic and archaeological paradigms*. Berkeley: University of California Press, pp. 99–122.
- Eyre-Walker, A. et al., 1998. Investigation of the bottleneck leading to the domestication of maize. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 95(8), pp.4441–6.
- Flannery, K., 1986. The research problem. In K. Flannery, ed. *Guilá Naquitz. Archaic Foraging and Early Agriculture in Oaxaca, Mexico*. London: Academic Press, pp. 3–18.
- Fuller, D.Q., Willcox, G. y Allaby, R.G., 2011. Cultivation and domestication had multiple origins: arguments against the core area hypothesis for the origins of agriculture in the Near East. *World Archaeology*, 43(4), pp.628–652.
- Fuller, D.Q., Willcox, G. y Allaby, R.G., 2012. Early agricultural pathways: moving outside the “core area” hypothesis in Southwest Asia. *Journal of experimental botany*, 63(2), pp.617–33.
- Gregory, T.R., 2009. Artificial selection and domestication: modern lessons from Darwin’s enduring analogy. *Evolution: Education and Outreach*, 2(1), pp.5–27.
- Gross, B.L. y Olsen, K.M., 2010. Genetic perspectives on crop domestication. *Trends in Plant Science*, 15(9), pp.529–37.
- Guillén, S. et al., 2011. Germination differentiation patterns of wild and domesticated columnar cacti in a gradient of artificial selection intensity. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 58(3), pp.409–423.
- Guillén, S. et al., 2013. Differential survival and growth of wild and cultivated seedlings of columnar cacti: consequences of domestication. *American Journal of Botany*, 100, pp.2364–2379.
- Hamrick, J.L., 2004. Response of forest trees to global environmental changes. *Forest Ecology and Management*, 197(1–3), pp.323–335.
- Hamrick, J.L. y Godt, J.W., 1996. Effects of life history traits on genetic diversity in plant species. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London, Series B*, 351, pp.1291–1298.
- Harlan, J.R., 1975a. *Crops and Man*, Madison: American Society of Agronomy. Crop Science Society of America.
- Harlan, J.R., 1975b. The origins of Agriculture. In *Crops and Man*. Madison: American Society of Agronomy. Crop Science Society of America, pp. 33–60.
- Harris, D.R., 1989. An evolutionary continuum of people-plant interaction. In D. R. Harris y G. Hillman, eds. *Foraging and Farming. The evolution of Plant Exploitation*. London: Unwin Hyman, pp. 11–26.
- Harrison, N. y Harrison, R.J., 2011. On the evolutionary history of the domesticated apple. *Nature Genetics*, 43(11), pp.1043–1044.
- Hawkes, J.G., 1983. *The diversity of crop plants*, Cambridge: Harvard University Press.
- Hedrick, P.W., 2000. *Genetics of Populations* 2nd ed., Sudbury: Jones and Bartlett Publishers.

- Hernández-Xolocotzi, E., 1993. Aspects of plant domestication in Mexico: a personal view. In T. P. Ramamoorthy et al., eds. *Biological diversity of Mexico: origins and distribution*. New York: Oxford University Press, pp. 733–753.
- Hernández-Bermejo, J.E. y León, J. eds., 1992. *Cultivos marginados: otra perspectiva de 1492*, Roma: Food and Agriculture Organization.
- Heun, M. et al., 2012. A critical review of the protracted domestication model for Near-Eastern founder crops: linear regression, long-distance gene flow, archaeological, and archaeobotanical evidence. *Journal of Experimental Botany*, 63(12), pp.4333–4341.
- Heywood, V.H., 2013. Overview of agricultural biodiversity and its contribution to nutrition and health. In J. Fanzo et al., eds. *Diversifying food and diets: Using agricultural biodiversity for improving nutrition and health*. New York: Bioversity International, pp. 35–67.
- Hillman, G.C. y Davies, M.S., 1990. Measured domestication rates in wild wheats and barley under primitive cultivation, and their archaeological implications. *Journal of World Prehistory*, 4(2), pp.157–222.
- Hufford, M.B. et al., 2012. Comparative population genomics of maize domestication and improvement. *Nature genetics*, 44(7), pp.808–11.
- Hughes, C.E. et al., 2007. Serendipitous backyard hybridization and the origin of crops. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104(36), pp.14389–94.
- Huson, D.H. y Bryant, D., 2006. Application of phylogenetic networks in evolutionary studies. *Molecular Biology and Evolution*, 23(2), pp.254–67.
- Jaenicke-Després, V. et al., 2003. Early allelic selection in maize as revealed by ancient DNA. *Science*, 302(5648), pp.1206–8.
- Jarvis, D.I. y Hodgkin, T., 1999. Wild relatives and crop cultivars: detecting natural introgression and farmer selection of new genetic combinations in agroecosystems. *Molecular Ecology*, 8, pp.S159–S174.
- Johannessen, C.L., 1966. The domestication process in trees reproduced by seed: the pejibaye palm in Costa Rica. *Geographical Review*, 56(3), pp.363–376.
- Khoshbakht, K. y Hammer, K., 2008. Species richness in relation to the presence of crop plants in families of higher plants. *Journal of Agriculture and Rural Development in the Tropics and Subtropics*, 109(2), pp.181–190.
- Knowles, L.L., 2009. Statistical Phylogeography. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 40(1), pp.593–612.
- Knowles, L.L., 2004. The burgeoning field of statistical phylogeography. *Journal of Evolutionary Biology*, 17(1), pp.1–10.
- Kuhner, M.K., 2009. Coalescent genealogy samplers: windows into population history. *Trends in Ecology y Evolution*, 24(2), pp.86–93.
- Ladizinski, G., 1998. *Plant evolution under domestication*, Dordrecht: Kluwer Academic Publishers.
- MacNeish, R.S., 1967. A summary of the subsistence. In D. S. Byers, ed. *The Prehistory of the Tehuacan Valley. Volume I: Environment and Subsistence*. Austin: University of Texas Press, pp. 290–309.

- Maddison, W.P. y Knowles, L.L., 2006. Inferring phylogeny despite incomplete lineage sorting. *Systematic Biology*, 55(1), pp.21–30.
- Martin, G.J., 2004. *Ethnobotany: A Methods Manual*, Earthscan.
- Martínez-Castillo, J. et al., 2007. Gene flow and genetic structure in the wild-weedy-domesticated complex of *Phaseolus lunatus* L. in its Mesoamerican center of domestication and diversity. *Crop Science*, 47(1), p.58.
- Martínez-Castillo, J. et al., 2004. Intraspecific diversity and morpho-phenological variation in *Phaseolus lunatus* L. from the Yucatan Peninsula, Mexico. *Economic Botany*, 58(3), pp.354–380.
- Matsuoka, Y., et al., 2002. A single domestication for maize shown by multilocus microsatellite genotyping. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 99, pp. 6080-6084.
- McBreen, K. y Lockhart, P.J., 2006. Reconstructing reticulate evolutionary histories of plants. *Trends in Plant Science*, 11(8), pp.398–404.
- McKey, D. et al., 2010. The evolutionary ecology of clonally propagated domesticated plants. *The New Phytologist*, 186(2), pp.318–32.
- Meyer, R.S., DuVal, A.E. y Jensen, H.R., 2012. Patterns and processes in crop domestication: an historical review and quantitative analysis of 203 global food crops. *The New Phytologist*, 196(1), pp.29–48.
- Miller, A.J. y Gross, B.L., 2011. From forest to field: perennial fruit crop domestication. *American Journal of Botany*, 98(9), pp.1389–414.
- Montes-Hernández, S. y Eguiarte, L.E., 2002. Genetic structure and indirect estimates of gene flow in three taxa of *Cucurbita* (Cucurbitaceae) in Western Mexico. *American Journal of Botany*, 89(7), pp.1156–1163.
- Moreno-Calles, A. et al., 2010. Agroforestry systems and biodiversity conservation in arid zones: the case of the Tehuacán Valley, Central México. *Agroforestry Systems*, 80(3), pp.315–331.
- Morrison, D.A., 2005. Networks in phylogenetic analysis: new tools for population biology. *International journal for parasitology*, 35(5), pp.567–582.
- Nielsen, R. y Beaumont, M.A., 2009. Statistical inferences in phylogeography. *Molecular Ecology*, 18(6), pp.1034–47.
- Nybohm, H., 2004. Comparison of different nuclear DNA markers for estimating intraspecific genetic diversity in plants. *Molecular ecology*, 13(5), pp.1143–55.
- Paran, I. y van der Knaap, E., 2007. Genetic and molecular regulation of fruit and plant domestication traits in tomato and pepper. *Journal of experimental botany*, 58(14), pp.3841–52.
- Parra, F. et al., 2010. Evolution under domestication: ongoing artificial selection and divergence of wild and managed *Stenocereus pruinosus* (Cactaceae) populations in the Tehuacan Valley, Mexico. *Annals of Botany*, 106(3), pp.483–96.
- Parra, F. et al., 2008. Population genetics and process of domestication of *Stenocereus pruinosus* (Cactaceae) in the Tehuacán Valley, México. *Journal of Arid Environments*, 72(11), pp.1997–2010.

- Paz, L. y Vázquez-Yanes, C., 1998. Comparative seed ecophysiology of wild and cultivated *Carica papaya* trees from a tropical rain forest region in Mexico. *Tree Physiology*, 18(4), pp.277–280.
- Petit, R.J. et al., 2004. Ecology and genetics of tree invasions: from recent introductions to Quaternary migrations. *Forest Ecology and Management*, 197(1-3), pp.117–137.
- Petit, R.J. y Hampe, A., 2006. Some evolutionary consequences of being a tree. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 37(1), pp.187–214.
- Pickersgill, B., 2007. Domestication of plants in the Americas: insights from Mendelian and molecular genetics. *Annals of Botany*, 100(5), pp.925–40.
- Picó, B. y Nuez, F., 2000a. Minor crops of Mesoamerica in early sources (I). Leafy vegetables. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 47(5), pp.527–540.
- Picó, B. y Nuez, F., 2000b. Minor crops of Mesoamerica in early sources (II). Herbs used as condiments. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 47(5), pp.541–552.
- Popenoe, W., 1919. The avocado in Guatemala. *USDA Bulletin*, 743.
- Posada, D. y Crandall, K.A., 2001. Intraspecific gene genealogies: trees grafting into networks. *Trends in Ecology & Evolution*, 16(1), pp.37–45.
- Pritchard, J.K., Stephens, M. y Donnelly, P., 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 155(2), pp.945–59.
- Purugganan, M.D. y Fuller, D.Q., 2009. The nature of selection during plant domestication. *Nature*, 457(7231), pp.843–8.
- Reeves, P.A. y Richards, C.M., 2007. Distinguishing terminal monophyletic groups from reticulate taxa: performance of phenetic, tree-based, and network procedures. *Systematic Biology*, 56(2), pp.302–20.
- Ross-Ibarra, J. y Gaut, B.S., 2008. Multiple domestications do not appear monophyletic. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105(49), p.E105.
- Ross-Ibarra, J., Morrell, P.L. y Gaut, B.S., 2007. Plant domestication, a unique opportunity to identify the genetic basis of adaptation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104 Suppl , pp.8641–8.
- Ross-Ibarra, J., Tenaillon, M. y Gaut, B.S., 2009. Historical divergence and gene flow in the genus *Zea*. *Genetics*, 181, pp. 1399–1413.
- Schaal, B.A., 1998. Phylogeographic studies in plants: problems and prospects. *Molecular Ecology*, 7, pp.465–474.
- Smith, N.J.H. et al., 1992. *Tropical forests and their crops*, Ithaca: Comstock Publishing Associates.
- Sonnante, G. et al., 1994. Evolution of genetic diversity during domestication of the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, 89, pp.629–635.
- Templeton, A.R., 1998. Nested clade analyses of phylogeographic data: testing hypotheses about gene flow and population history. *Molecular Ecology*, 7(4), pp.381–97.
- Templeton, A.R., 2001. Using phylogeographic analyses of gene trees to test species status and processes. *Molecular Ecology*, 10(3), pp.779–91.

- Templeton, A.R., 2004a. A maximum likelihood framework for cross validation of phylogeographic hypotheses. In S. P. Wasser, ed. *Evolutionary Theory and Processes: Modern Horizons*. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, pp. 209–230.
- Templeton, A.R., 2004b. Statistical phylogeography: methods of evaluating and minimizing inference errors. *Molecular Ecology*, 13(4), pp.789–809.
- Templeton, A.R., 2010. Coalescent-based, maximum likelihood inference in phylogeography. *Molecular Ecology*, 19(3), pp.431–5.
- Templeton, A.R., Routman, E. y Phillips, C.A., 1995. Separating population structure from population history: a cladistic analysis of the geographical distribution of mitochondrial DNA haplotypes in the tiger salamander, *Ambystoma tigrinum*. *Genetics*, 140(2), pp.767–782.
- Udall, J.A. y Wendel, J.F., 2006. Polyploidy and crop improvement. *Crop Science*, 46(Supp. 1), p.S–3.
- Vavilov, N.I., 1926. Centers of origin of cultivated plants. In V. F. Dorofeyev, ed. *Origin and Geography of Cultivated Plants*. Cambridge University Press, pp. 22–135.
- Di Vecchi-Staraz, M. et al., 2009. Low level of pollen-mediated gene flow from cultivated to wild grapevine: consequences for the evolution of the endangered subspecies *Vitis vinifera* L. subsp. *silvestris*. *Journal of Heredity*, 100(1), pp.66–75.
- Verdú, M., 2002. Age at maturity and diversification in woody angiosperms. *Evolution*, 56(7), pp.1352–1361.
- Wiersum, K.F., 2004. Forest gardens as an “intermediate” land-use system in the nature–culture continuum: characteristics and future potential. *Agroforestry Systems*, 61-62(1-3), pp.123–134.
- Wiersum, K.F., 1997. From natural forest to tree crops, co-domestication of forests and tree species, an overview. *Netherlands Journal of Agricultural Science*, 45, pp.425–438.
- Zárate, S., Pérez-Nasser, N. y Casas, A., 2005. Genetics of wild and managed populations of *Leucaena esculenta* subsp. *esculenta* (Fabaceae; Mimosoideae) in La Montaña of Guerrero, Mexico. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 52(7), pp.941–957.
- Zeven, A.C. y de Wet, J.M.J., 1982. *Dictionary of cultivated plants and their regions of origin*, Wageningen: Pudoc.
- Zohary, D., 1999. Monophyletic vs . polyphyletic origin of the crops on which agriculture was founded in the Near East. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 46, pp.133–142.
- Zohary, D., 2004. Unconscious selection and the evolution of domesticated plants. *Economic Botany*, 58(1), pp.5–10.
- Zohary, D. y Hopf, M., 1994. *Domestication of plants in the Old World* 2nd ed., Oxford: Clarendon Press.
- Zohary, D. y Spiegel-Roy, P., 1975. Beginnings of fruit growing in the Old World. *Science*, 187(4174), pp.319–27.

Capítulo 1. Sistema de estudio: las especies mesoamericanas del género *Crescentia*

La estructura filogeográfica de las especies bajo domesticación depende de la interacción de los factores ecológicos naturales y los factores humanos que actúan en las poblaciones silvestres y en las poblaciones bajo manejo y selección artificial. Conocer la historia natural y cultural de las especies bajo domesticación es necesario para plantear hipótesis significativas sobre su evolución, seleccionar los métodos analíticos pertinentes e interpretar adecuadamente sus patrones filogeográficos. En este sentido, el presente capítulo revisa la distribución, características ecológicas y morfológicas del género *Crescentia*, así como su relevancia histórica y cultural en México, Centro y Sudamérica para dar contexto al presente proyecto de investigación.

Distribución y características ecológicas de *Crescentia*

Este género de la familia pantropical Bignoniaceae cuenta con seis especies reconocidas por Gentry (1980): *Crescentia alata*, *C. cujete*, *C. linearifolia*, *C. mirabilis*, *C. portoricensis* y *C. amazonica*, de las cuales sólo las dos primeras se encuentran en México y Centroamérica (Fig. 1). Estas especies se definen principalmente con base en caracteres vegetativos y diferencias en el tamaño de los frutos, pero Gentry (1980) considera que la distinción taxonómica de taxa dominantes con apariencias distintas y ecológicamente diferenciados es adecuada a pesar de la naturaleza tenue de sus barreras reproductivas y caracteres distintivos. Tres de ellas son endémicas de las Antillas: *C. linearifolia* se distribuye en las zonas costeras de las islas de La Española y Puerto Rico hasta el norte de las Antillas Menores; *C. mirabilis* es endémica de las marismas costeras del noreste de Cuba; y *C. portoricensis*, que presenta porte de liana, es endémica del suroeste de Puerto Rico. Gentry (1980) señala que la distinción entre *C. linearifolia* y *C. mirabilis* por diferencias en el tamaño foliar es tentativa, y sugiere que ambas podrían ser variantes de *C. cujete*. Por su parte, *C. amazonica* se distribuye en zonas inundables de la parte media y alta de los ríos Orinoco y Amazonas y sus tributarios principales.

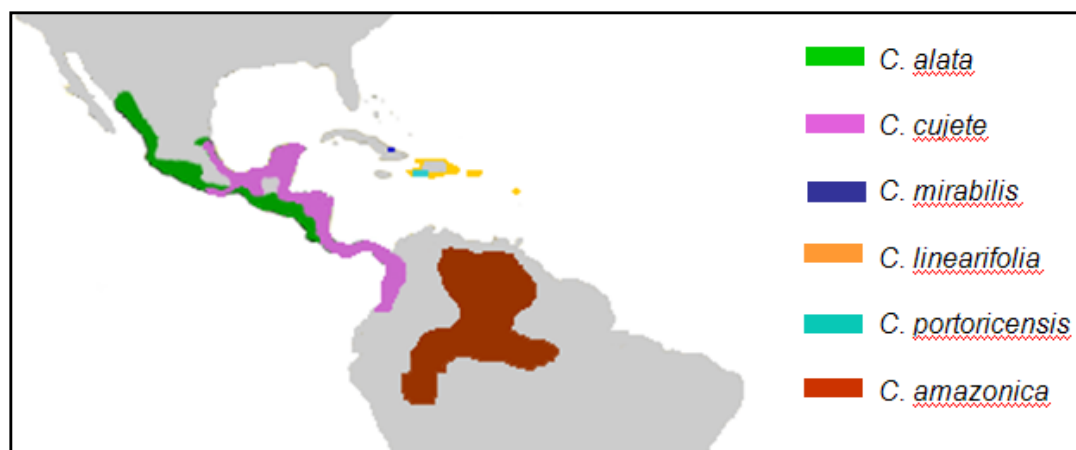


Fig. 1. Distribución general de las especies del género *Crescentia* según Gentry (1980).

Como se señaló, en México existen dos especies del género: *C. kujete* y *C. alata* (Tabla 1 y Fig. 2). Sus frutos esféricos indehiscentes y duros son comúnmente conocidos como “tecomates” (del náhuatl *te-comatl*, *tetl*, piedra o cosa dura, *cómatl*, vasija; Montemayor, 2007) o bien como “júcaras” cuando se les corta por la mitad (del náhuatl *xicalli*; Montemayor, 2007). Los recipientes elaborados a partir del exocarpo de estos frutos han sido utilizados desde tiempos precolombinos para el transporte y el almacenamiento (Mirambell 1994) y en la elaboración de utensilios domésticos y artesanías (véase más adelante).

Tabla 1. Características morfológicas principales de las especies de *Crescentia* presentes en México (Standley 1926; Gentry 1980; Gentry 1982; Rzedowski y Calderón de Rzedowski 1993; Pennington y Sarukhán 1998).

| | <i>Crescentia alata</i> | <i>Crescentia kujete</i> |
|---------------|--|---|
| Hojas | Trifolioladas con pecíolo alado y hojas sencillas mucho más pequeñas, con punta obtusa. El pecíolo y los folíolos de hasta 11.5 y 4.5 cm de largo respectivamente, y 1.5 de ancho. | Simples sin pecíolo, obovadas con punta obtusa a aguda. De hasta 26 cm de largo a 7.6 de ancho. (Nota: Pueden encontrarse ocasionalmente híbridos que se caracterizan por tener hojas simples con presencia de hojas trifoliadas incompletas en baja proporción y presentan los frutos pequeños característicos de <i>C. alata</i> [Gentry, 1980]). |
| Fruto | Más o menos esférico, puede ser ligeramente aplanado, de 7 a 10 cm de diámetro, con exocarpo duro. | Esférico a ovoide-elíptico, de hasta 20 cm de diámetro y 30 cm de largo, exocarpo duro. En Colombia se ha reportado una amplia gama de tamaños y formas de frutos (p. ej. esféricos, oblongos, cuneados, aplanados, arriñonados, con forma de pera; Arango-Ulloa et al. 2009). |
| Flores | Caulifloras, tubulares campanuladas verdoso-amarillentas con líneas café, de hasta 6.5 cm de largo, con lóbulos triangulares fusionados. | Caulifloras, tubulares campanuladas amarillentas con venas púrpura en exterior del tubo y los lóbulos triangulares fusionados, de hasta 7.4 cm de largo. |

Estas especies se distribuyen en las áreas de climas cálidos semihúmedos, con lluvias en verano, y época seca corta o larga (Am y Aw respectivamente en la clasificación de Köppen) de la siguiente manera (véase Fig. 3; Gentry, 1980, 1982; Miranda y Hernández-Xolocotzi, 1963; Rzedowski 1978; Miranda 1978; Pennington y Sarukhán, 1998; Rzedowski y Calderón de Rzedowski, 1993; Standley, 1926):

Crescentia alata – En sabanas abiertas (pastizales), declives bajos y lechos de arroyos temporales de selvas bajas caducifolias y subperennifolias de la vertiente del Pacífico, de Sonora a Chiapas y Cuenca del Balsas, con una distribución disyunta en la Huasteca Potosina y norte de Veracruz; hacia el sur, su distribución continúa por la vertiente del océano Pacífico hasta Costa Rica. En ocasiones forma agrupaciones densas, al igual que *C. kujete*. Se considera una especie secundaria aunque de crecimiento lento.

Crescentia kujete – En sabanas inundables y selvas bajas subperennifolias de la vertiente del Atlántico, del norte de Veracruz a la península de Yucatán. En las sabanas de la vertiente al Golfo coexiste con especies arbóreas como *Byrsonima crassifolia* (L.) Kunth (Malpighiaceae) y *Curatella americana* L. (Dilleniaceae), y limita con áreas más bajas permanentemente inundadas dominadas por *Haematoxylum campechianum* L. [Fabaceae]; Miranda 1978). Cultivada en el Istmo de Tehuantepec donde es simpátrica con *C. alata*. Se distribuye también en Centro y Sudamérica hasta Perú y Bolivia.

Tanto *C. kujete* como *C. alata* son consideradas miembros típicos de las sabanas mesoamericanas (Miranda y Hernández-Xolocotzi 1963; Rzedowski 1978; Pérez-García et al. 2012), las cuales son comunidades dominadas por gramíneas cuya presencia depende del clima (cálido subhúmedo con estación seca de tres a seis meses del año), el tipo de suelo (profundo con drenaje deficiente, comúnmente oligotrófico o pobre en nutrientes) y la presencia de incendios recurrentes, por lo que están asociadas a la perturbación por actividades humanas (Miranda y Hernández-Xolocotzi 1963; Rzedowski 1978; Pérez-García et al. 2012). Ambas especies son comunes en los pastizales inducidos para ganadería en las áreas tropicales de México y Centroamérica (Bass 2004; Cajas-Giron y Sinclair 2001) debido al aprovechamiento histórico de las sabanas para la cría de ganado, así como gracias a su comportamiento heliófito, su resistencia a los incendios (obs. pers.) y tendencia a comportarse como elemento propio de vegetación secundaria.



Fig. 2. Ejemplares de herbario de *C. alata* (fila superior) y *C. cujete* (fila inferior). Nótese en *C. alata* las hojas trifolioladas y frutos pequeños ovalados, en *C. cujete* las hojas sencillas y el fruto grande esférico o bien elíptico (escala: 6 cm). Ejemplares representados, de izq. a der.: *C. alata*: San Luis Potosí, Mpio. Antiguo Morelos: a 2 km de Antiguo Morelos, Aguirre-Dugua 9 (MEXU). Chiapas, Mpio. La Trinitaria: Rancho Santa Inés, Aguirre-Dugua 57 (MEXU). Oaxaca, Mpio. Magdalena Tequisistlán: Magdalena Tequisistlán, Aguirre-Dugua 2 (MEXU). *C. cujete*: Chiapas, Mpio. Tonalá: Ranchería Palo Blanco, Aguirre-Dugua 49 (MEXU). Chiapas, Mpio. Copainalá: Miguel Hidalgo, Aguirre-Dugua 42 (MEXU). Chiapas, Mpio. Las Margaritas: Nuevo San Juan Chamula, Aguirre-Dugua 46 (MEXU).

Su presencia en zonas antropogénicas y la dispersión actual de las semillas por caballos y vacas (Bass 2004) hace que la distribución natural de ambas especies sea difícil de definir, así como la determinación del estatus “silvestre” de las poblaciones. El principal estudioso de la familia Bignoniaceae en América, A.H. Gentry (1980) consideró que *C. cujete* es “extensamente cultivada en la América tropical, su rango nativo es poco claro. Sin duda es nativa del norte de América Central y México”. Asimismo, Lathrap (1973, citado por Weinstein 2007) señala que “pocos huertos desde el sur de Mesoamérica hasta el límite sur de la cuenca del Amazonas no cuentan con este árbol, y sería muy difícil conocer cuál era su distribución original previa a la

presencia humana”. En efecto, la distribución fragmentada de *C. cujete* sugiere que fue introducida en varias regiones en tiempos prehispánicos (Fig. 3), de manera que parte importante de la distribución actual de este género en México podría tener su origen en una dispersión artificial asociada al humano, particularmente debido a la limitada dispersión natural del fruto indehisciente.

Dentro de la familia Bignoniaceae, la tribu Crescentieae se caracteriza por tener frutos carnosos indehiscientes, lo que la distingue de otras tribus como Tecomeae y Bignonieae que presentan en su mayoría frutos dehiscentes y semillas dispersadas por viento. Gentry (1974) sugiere que el fruto indehisciente de Crescentieae derivó del dehiscente de las Tecomeae (las más cercanas a Crescentieae; Spangler y Olmstead 1999) a partir de una interacción con mamíferos frugívoros; sin embargo no excluye que el surgimiento de un exocarpo duro también haya permitido una adaptación paralela a la dispersión por agua (hidrocoria). Para Gentry (1974) esta morfología permite un balance entre la dispersión del fruto a mayores distancias por medio del agua y la dispersión local de semillas por medio de frugívoros. La dispersión por agua explicaría la distribución de las especies en zonas inundables y en lechos de arroyos. La vía de dispersión por mamíferos ha sido apoyada por Janzen y Martin (1982) quienes señalan al género *Crescentia* (en particular *C. alata*) como uno de los taxones con el denominado *síndrome de dispersión por megafauna*.

Estos autores proponen que el exocarpo duro e indehisciente y las numerosas semillas embebidas en la pulpa dulce son adaptaciones del fruto a ser consumido y dispersado por los mamíferos herbívoros presentes en el continente americano por cerca de 10 millones de años, hasta que se extinguieron hace unos 10 mil años. Esta fauna estaba compuesta por representantes de diversas familias como Equidae (caballo americano *Equus fraternus* Leidy), Gomphoteriidae (gonfoterios *Haplomastodon* sp. y *Cuvieronius* sp.) y Notoungulata (*Toxodon* sp.; Janzen y Martin, 1982).

Según Janzen (1982) el consumo de los frutos de *C. alata* por caballos introducidos de Europa (*Equus caballus* L.) y la alta tasa de germinación de las semillas (97%) presentes en las heces de estos animales apuntan en favor de su propuesta. Sin embargo, fue criticado por Howe (1985) quien señala la falta de consistencia en los criterios morfológicos de los frutos y semillas que definen el síndrome de dispersión por megafauna, así como en el papel que los mamíferos actuales (ratones, pecarís y tejones principalmente, según Janzen y Martin, 1982) juegan en la depredación y dispersión de semillas. Este autor, retomando la propuesta de Gentry (1974), considera que el exocarpo indehisciente de *Crescentia* es mejor explicado por la hidrocoria.

A favor de la hipótesis de la megafauna, los frutos de *C. alata* y *C. kujete* son similares (por su tamaño, indehiscencia, número y tamaño de semillas) a los de las especies neotropicales *Genipa americana* L., *Solanum lycocarpum* A. St.-Hil. y *Annona cacans* Warm., señaladas por Guimarães et al. (2008) como frutos equivalentes a los de especies paleotropicales consumidas por mamíferos africanos (como elefantes, *Loxodonta africana* Blumenbach). Asimismo, en un hábitat natural de selva baja caducifolia (Chamela, Jal.) su periodo de fructificación no se traslapa de manera importante con los de otras especies propuestas como megafaunales, lo cual se debería a procesos de exclusión competitiva (especies como *Spondias purpurea* L., *Hippomane mancinella* L., *Acacia farnesiana* (L.) Willd., *Caesalpinia coriaria* (Jacq.) Willd., *Enterolobium cyclocarpum* (Jacq.) Griseb., *Brosimum alicastrum* Sw., *Chlorophora tinctoria* (L.) Gaudich. ex Benth., *Ficus mexicana* Miq.), lo cual coincide con la hipótesis de Janzen y Martin (1982) (S. Guillén y X. Aguirre-Dugua, sin publicar). Finalmente, los consumidores de pulpa y potenciales dispersores de frutos de *C. alata* son mamíferos como tlacuaches, tejones y pecarís (S. Guillén y X. Aguirre-Dugua, sin publicar). Sin embargo, cabe señalar que las especies neotropicales mencionadas por Guimarães et al. (2008) presentan exocarpo suave, por lo que el exocarpo duro de *Crescentia* podría efectivamente estar asociado a la hidrocoria. Además, Guimarães et al. (2008) reconocen también que la hidrocoria es un síndrome secundario importante para otras especies neotropicales distribuidas en el Pantanal brasileño dispersadas actualmente por inundaciones temporales y consumo esporádico de mamíferos.

En cuanto a su biología reproductiva, las flores son hermafroditas y presentan quiropterofilia, característica de la tribu Crescentieae dentro de las bignoniáceas americanas (Gentry 1974b). Las flores presentan antesis nocturna, olor fuerte y desagradable, textura fuerte y pliegues transversales en el tubo de las flores (Gentry 1990). Los murciélagos *Glossophaga soricina* Pallas y *Leptonycteris* spp. (Phyllostomidae) han sido reportados como polinizadores de *C. alata* en la selva baja caducifolia de Jalisco, México (Maldonado-López 2008), mientras que se ha encontrado polen de *Crescentia* en *G. soricina* en Colombia (Lemke 1985), así como en *Phyllostomus discolor* Wagner y *G. soricina* en Costa Rica (Heithaus et al., 1975). Es por lo tanto posible que la conectividad entre poblaciones vía polen sea elevada, en contraste con el flujo restringido de frutos y semillas por mamíferos y agua.

En cuanto a la fenología, Gentry (1974b) clasifica a *Crescentia* dentro del patrón *steady-state* o de estado fijo, caracterizado por la apertura de una o dos flores diarias, que duran sólo una noche, por un largo periodo de tiempo. También asocia esta fenología con polinizadores de vida larga que siguen rutas constantes de forrajeo. Sin embargo, Gentry (1976) señala que este patrón fenológico implica un

ambiente relativamente constante, siendo que las selvas bajas caducifolias presentan una marcada estacionalidad, y las poblaciones de *C. alata* en este tipo de vegetación se quedan completamente sin hojas en la temporada seca y tienen una floración estacional a inicios de lluvias (Maldonado-López 2008) o después de éstas (Briones-Salas et al. 2006; Bullock y Solis-Magallanes 1990). Otras fuentes bibliográficas señalan distintos periodos de floración, lo que probablemente se relacione con el rango latitudinal de la distribución y la estacionalidad de las lluvias en cada región.

El polen de la tribu Crescentiae es tricolpado a tricolporoidado, y reticulado a microrreticulado (Martínez-Torres 1991). Tanto *C. kujete* como *C. alata* cuentan con un número cromosómico N=40, compartido con la mayoría de los miembros de la familia (Gentry 1980).

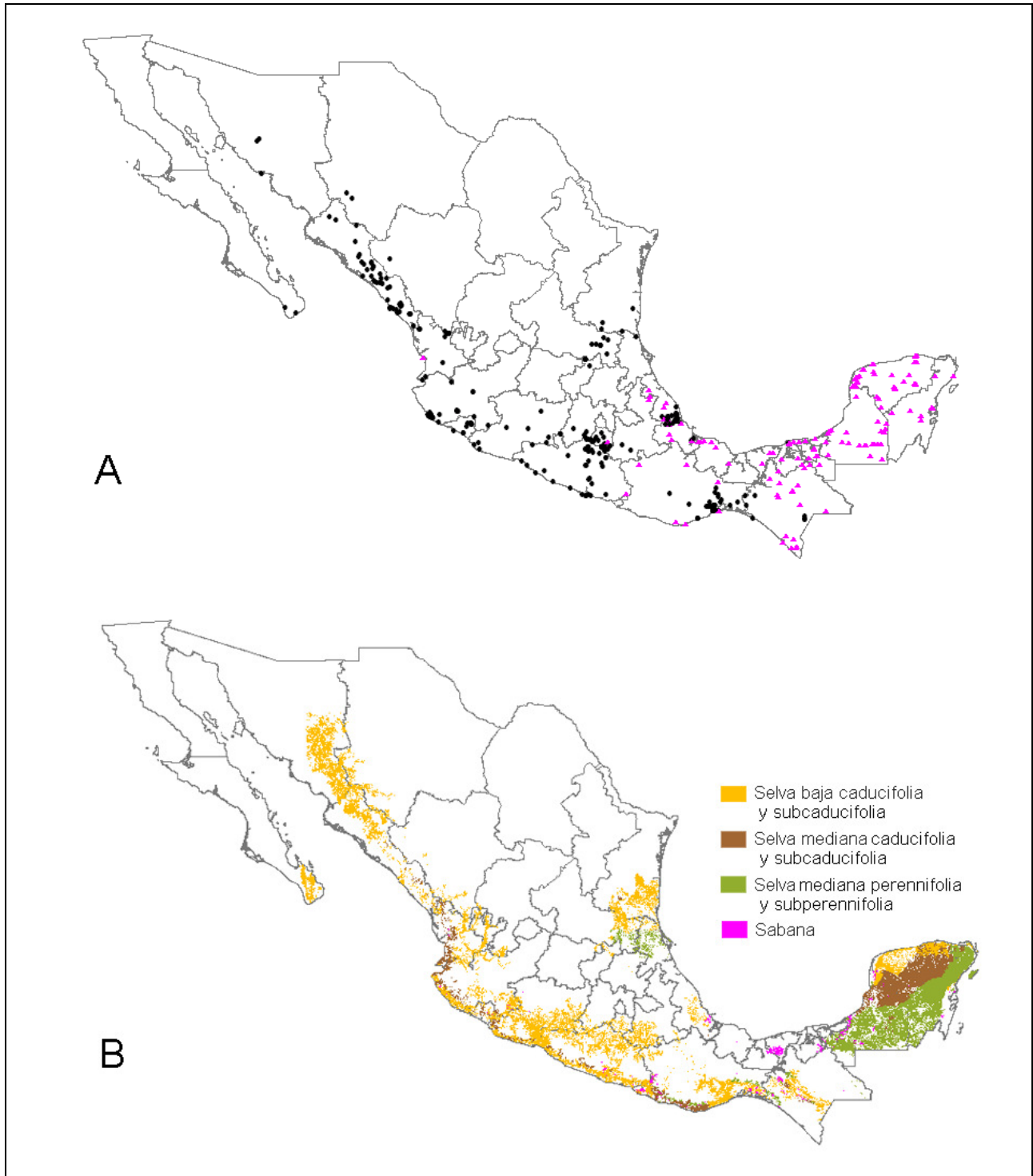


Fig. 3. A) Distribución de *Crescentia alata* (●) y *C. kujete* (▲) en México con base en registros de herbario (N=249 y 290 registros, respectivamente). Fuentes: Sistema Nacional de Información sobre Biodiversidad (SNIB), Herbario Nacional MEXU, Gentry (1980), Martínez-Torres (1991), Rzedowski y Calderón de Rzedowski (1993), base de datos del Missouri Botanical Garden (<www.tropicos.org> consultada en febrero de 2009), base de datos del C.V. Starr Virtual Herbarium del New York Botanical Garden (<http://sciweb.nybg.org/science2/hcol/allvasc/index.asp.html>, consultada en febrero de 2009). B) Principales tipos de vegetación en los que se distribuyen *C. alata* y *C. kujete* (basado en Conabio 1999).

Relevancia histórica y cultural de los frutos de *Crescentia* en México

Existen diversas evidencias históricas y documentales que señalan la relevancia de estas especies para los pueblos que han habitado el territorio mexicano. Los registros más antiguos de sus frutos en contextos arqueológicos cuentan con una antigüedad aproximada de 3500 años antes del presente (AP) (Fig. 4). Posteriormente, existen evidencias de su uso en regiones como Veracruz, la península de Yucatán, Puebla, el centro del país y la Cuenca del Balsas (Tabla 2). Cabe mencionar que los frutos de *Crescentia* pueden ser distinguidos en contextos arqueobotánicos de aquellos de *Lagenaria siceraria* L. (Cucurbitaceae), que también son usados a modo de recipientes, por el tamaño y la forma de los frutos, el tamaño y la forma de las semillas, el grosor del exocarpo, la apariencia de la cutícula, así como por su estructura microscópica (Cutler y Whitaker 1961; Price 1982; Medina-González 1996).

Actualmente los frutos son también utilizados en México y Centroamérica para elaborar artesanías con técnicas antiguas de decoración como maque, incisiones y relieves que reflejan los valores estéticos asociados al uso ritual de estos recipientes (Fig. 5; Lechuga et al. 1997), así como con técnicas y diseños innovadores para la elaboración de objetos decorativos y artesanías.

La importancia cultural de las especies de *Crescentia* y la vigencia de sus usos se aprecia hoy en día en los nombres indígenas y mestizos que se les otorgan en las regiones donde se distribuyen y los toponímicos de numerosas localidades (Tablas 3 y 4, Figs. 6 y 7). Se han registrado vocablos para “jícara”, “árbol de jícara” y nombres directamente asociados a *C. alata* y *C. kujete* en por lo menos 24 lenguas indígenas pertenecientes a 8 familias lingüísticas (Tabla 3). En México se han registrado también alrededor de diez nombres comunes con sus variantes asignados a *C. alata* en distintas áreas de su distribución y cerca de trece para *C. kujete* (Tabla 4).

A la elaboración de recipientes con estos frutos se agregan las aplicaciones medicinales, ya que la pulpa es utilizada para curar afecciones respiratorias y gastrointestinales; también cuenta con propiedades astringentes, antiinflamatorias, purgativas y febrífugas; hojas y raíz también se utilizan en remedios (Morton 1968; Gentry 1976; Rojas et al. 2001; Villatoro-Vera 2001). La madera se utiliza en la elaboración de sillas de montar e implementos agrícolas (Santander-Cancino 1994). Recientemente se ha enfatizado su uso potencial en sistemas silvopastoriles para alimentar el ganado con los frutos y para restauración de zonas semiáridas (Cajas-Giron y Sinclair 2001; Tomar et al. 2003; Foroughbakhch et al. 2006).

Tabla 2. Evidencias arqueobotánicas y documentales sobre el uso de los frutos de *Crescentia* en México. Véanse las citas de las obras de los naturalistas del siglo XVI y posteriores en el Anexo II.

| Periodo | Hallazgo o referencia documental | Fuente |
|-----------------------|--|---|
| 1550 aC | Contenedor laqueado y semillas provenientes de las cuevas del Gallo y La Chagüera, Morelos, en contextos de enterramientos. Por la ubicación geográfica, posiblemente <i>C. alata</i> . | Sánchez-Martínez et al. 1998 |
| 1700-900 aC | Fragmento de exocarpo encontrado en el Cerro Sagrado del Manatí, Veracruz. Cultura Olmeca. Por la ubicación geográfica, posiblemente <i>C. kujete</i> . | Medina-González 1996 |
| 950-250 aC | Restos de exocarpo. Cuevas de Coxcatlán, Purrón, San Marcos y El Riego. Tehuacán, Puebla. | Cutler y Whitaker 1961; A. Montúfar com. pers. |
| 750-1145 dC | Jícaras policromas halladas en el Cenote Sagrado de Chichén Itzá, cultura maya. Por la ubicación geográfica, posiblemente <i>C. kujete</i> . | Medina-González 1996 |
| 1000-1500 dC | Frutos decorados. Cultura Azteca. Excavaciones en el Centro Histórico y líneas del Metro de la Ciudad de México. De acuerdo con la Matrícula de Tributos los frutos serían provenientes de Morelos y Guerrero, posiblemente sean de <i>C. alata</i> . | Medina-González 1996; A. Montúfar com. pers. |
| 13 de octubre de 1492 | Diario de Cristóbal Colón. Menciona el uso de estos frutos por los nativos para afianzar sus canoas a manera de boyas. Por tratarse del Atlántico y ser frutos de gran tamaño, probablemente fueran de <i>C. kujete</i> . | Sauer 1969, citado por Gentry 1980 |
| ca. 1530 | Matrícula de Tributos, Imperio Azteca. Impuesto de entre 800 y 2 500 jícaras y tomatates, lisos y decorados, a entregar cada 80 días por parte de las provincias de Cuauhnáhuac, Huaxtepec, Tlachco, Tlappan y Tepeaquacuilco (hoy Cuernavaca y Oaxtepec, Mor.; Taxco, Tlapa y Tepecuacuilco, Gro.). Probablemente frutos de <i>C. alata</i> . | Medina-González 1996 |
| 1526, 1535 | Gonzalo Fernández de Oviedo y Valdés. <i>Natural Historia de las Indias</i> . | Fernández de Oviedo y Valdés, 1526, ed. 1950; 1535, ed. 1979. |
| 1542 | <i>El Libro de las Tasaciones de Pueblos de la Nueva España</i> . | s/a. ed. 1952. |
| 1566 | Fray Diego de Landa. <i>Relación de las Cosas de Yucatán</i> . | De Landa, 1566, ed. 1973 |
| 1571-1576 | Francisco Hernández. <i>Historia Natural de Nueva España</i> . | Hernández, 1571-1576, ed. 1959 |
| 1581-1589 | Antonio de Ciudad Real. <i>Tratado Curioso y Docto de las Grandezas de la Nueva España</i> . | De Ciudad Real, 1581-1589, ed. 1976. |
| 1615 | Fray Francisco Ximénez. <i>Cuatro libros de la Naturaleza y virtudes de las plantas y animales que están recibiendo en el uso de la medicina de la Nueva España</i> . | Medina-González 1996 |
| 1625 | Antonio Vázquez de Espinosa. <i>Compendio y Descripción de las Indias Occidentales</i> . | Vázquez de Espinosa, 1625, ed. 1948. |
| 1635 | Martín Alfonso Tovilla. <i>Relación Histórica Descriptiva de las Provincias de la Verapaz y de la del Manché</i> . | Tovilla, 1635, ed. 1960. |
| 1722 | Fray Francisco Ximénez. <i>Historia Natural del Reino de Guatemala</i> . | Ximénez, 1722, ed. 1967 |
| 1780 | Fray Francisco Javier Clavijero. <i>Historia Antigua de Méjico</i> . | Clavijero, 1780, ed. 1853. |
| 1791 | José Antonio Alzate y Ramírez. Gaceta de Literatura de México. 28 de junio de 1791. | Alzate y Ramírez, 1791. |

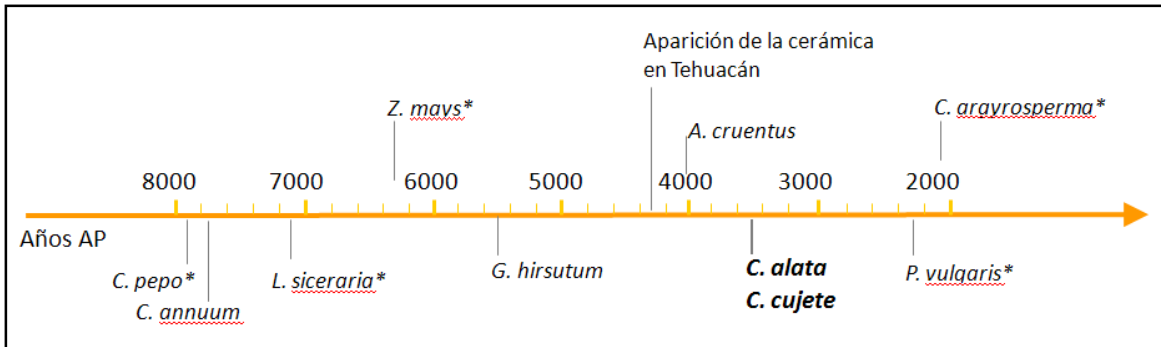


Fig. 4. Fechamientos de los restos arqueobotánicos más antiguos de *Crescentia* en relación con otras especies domesticadas en Mesoamérica. Datos de *Cucurbita pepo*, *Cucurbita argyrosperma* y *Lagenaria siceraria* Smith (2005); *Zea mays*, Piperno y Flannery (2001); *Capsicum annuum*, Kraft et al. (2014); *Gossypium hirsutum* y *Amaranthus cruentus*, Pickersgill y Heiser (1977); *Phaseolus vulgaris*, Kaplan y Lynch (1999); cerámica, MacNeish (1967). Los asteriscos señalan fechamientos con AMS (espectrometría de acelerador de masas), el resto corresponde a fechamientos indirectos con ^{14}C o estratigrafía.



Fig. 5. Tecomates decorados. De izquierda a derecha: tecomate proveniente de la cueva de La Garrafa Chiapas, siglo XIV (Pareyón-Moreno 1988); colador especial para pozol llamado 'pichancha' de Villahermosa, Tabasco, contemporánea (diámetro aprox. 18 cm); maraca mixteca de Pinotepa de Don Luis, Oaxaca, contemporánea (fotos 2 y 3: Xitlali Aguirre Dugua).

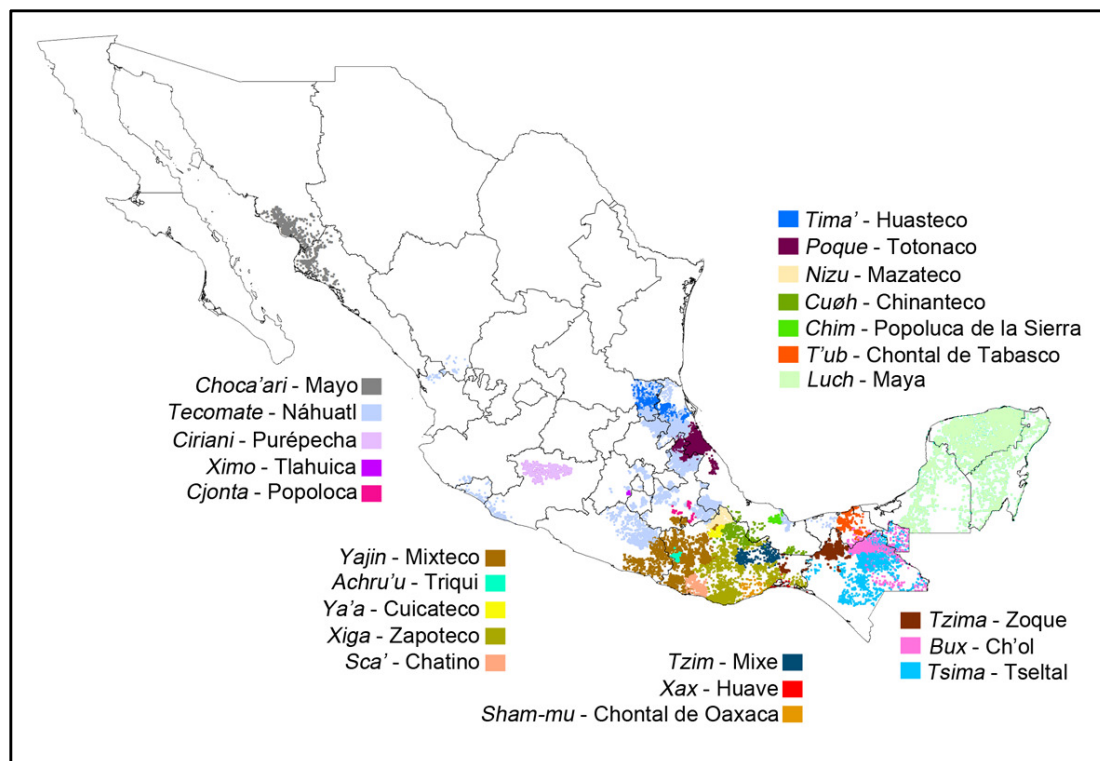


Fig. 6. Nombres asignados al vocablo “jicara” en lenguas indígenas de México (véanse Tablas 3 y 4; mapa elaborado por Claudia Aguilar Zúñiga con base en Ávila-Blomberg y Moreno-Díaz, 2008).

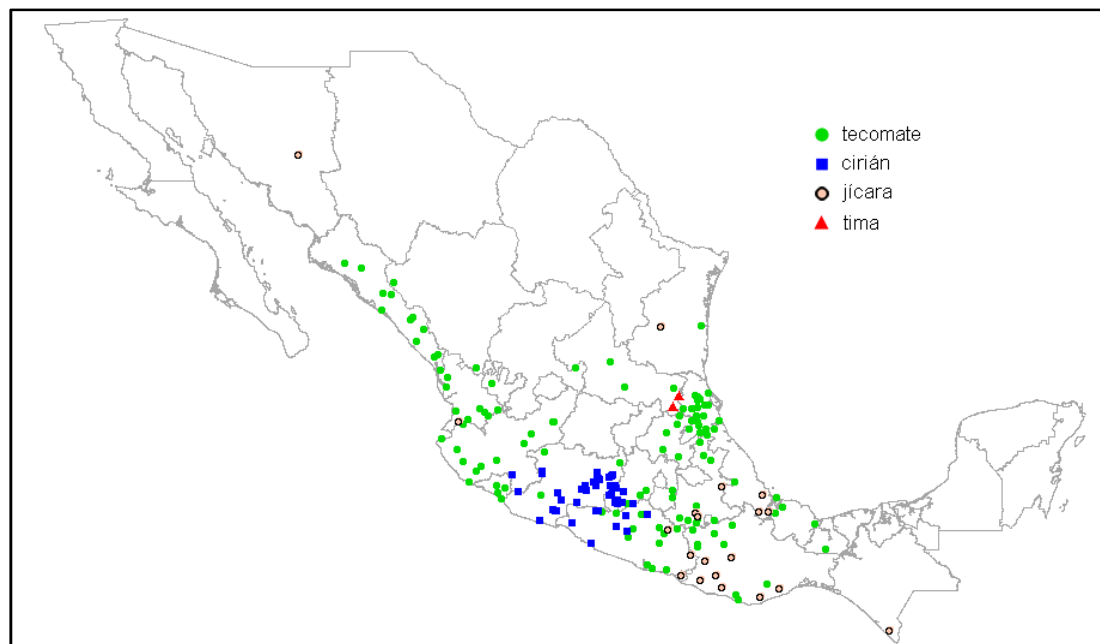


Fig. 7. Localidades cuyo nombre alude a los árboles de *Crescentia*. Basado en el listado de INEGI (2002). Por ejemplo: Tecomán, Col. (“Donde se extienden los tecomates”); Tecomatlán, Pue., y San Miguel Tecomatlán, Oax., Gro., EdoMex. (“En o junto a los tecomates”); Santa María Tecomavaca, Pue. (“Donde tienen tecomates”); San Sebastián Tecomaxtlahuaca, Oax. (“En el llano de los tecomates”) (Montemayor 2007); Los Ciriancitos, Mich.; Paso del Cirián, Gro.; El Jicaral, Oax.; Llano Jícara, Oax.; La Jícara, Pue.; Ejido La Tima, SLP.

Tabla 3. Nombres indígenas relacionados con *Crescentia* y sus frutos (véase Fig. 6).

| Familia ¹ Lengua | Variante lingüística ² | Vocablo: jícara ³ | Vocablo: árbol de jícara | <i>C. alata</i> ⁴ | <i>C. cujete</i> ⁴ | Fuente ⁵ |
|--------------------------------|-----------------------------------|---|--------------------------------|------------------------------|-------------------------------|---------------------|
| Yuto-nahua | | | | | | |
| Mayo | | | | choca'ari | | [23] |
| Náhuatl | - | tecomate xiical-li (vasija de madera, vaso de calabaza) | cuautecomate | | cuautecomatl | [24] [25] [7] |
| Tarasca | | | | | | |
| Purépecha | - | | | ciriani | | [6] |
| Totonaco-tepehua | | | | | | |
| Totonaco | totonaco de la costa | | | | poque pog | [6,7] [7, 26] |
| Oto-mangue | | | | | | |
| Chatino | chatino occidental bajo | sca' | | | | [1] |
| | chatino central | ska' cuchara (jícara ovalada) ska ska' ndaa (jícara de frijol [medida]) ska' nten (jícara coladera) | | | | [2] |
| Chinanteco | chinanteco del oeste central bajo | cuøh a cuah m cuah | hma cuøh a hma m cuah | | | [3,4] |
| | chinanteco central | m̄i cuah (jícara grande) be t̄i (jícara chica) | | | | [5] |
| | chinanteco del norte | | | gua | gua | [6,7] |
| Cuicateco | - | ya'a | | | | [8] |
| Mazateco | mazateco del sur | nisu | | | | [9] |

| | | | | | |
|--------------------------|---|--|----------|---|------------------------|
| Mixteco | mixteco de Yosondúa | yajin | | | [10] |
| | mixteco de Oaxaca de la costa noroeste | yatsin | tiyatsin | | [11] |
| | mixteco de Oaxaca de la costa oeste central | | | tuyachin | [6] |
| Popoloca | popoloca de oriente | cjonta | | | [12] |
| Tlahuica | - | ximo | | | [13] |
| Triqui | triqui de la alta | achru'u | | | [14] |
| Zapoteco | zapoteco de la planicie costera | xiga xiga guiiba' (jícara de hojalata) ndo'pa' (jícara grande) | | | [15] |
| | zapoteco serrano del sureste medio | xiguə' xiga' (jícara redonda) bego'ose (larga y angosta) | | | [16,17] |
| | zapoteco de Valles, del este medio | xijg xiguii (jícara floreada) | | | [18] |
| | - | | | guirototumo, guito-xiga, xa-gueta-guia, xica-gueta-nazaa | [7] |
| | - | | | guito-xiga, sam- mu | [6] |
| Mixe-zoque | | | | | |
| Mixe | mixe bajo | tzim | | japt | [6, 7, 19] |
| Popoloca de la Sierra | | chim | | | [20] |
| | - | jepe | | | [21] |
| Zoque | zoque del noroeste | tzima | tzimacuy | tzima | [22, obs. p.] [6,7] |
| | - | | | totumo, tzimá | |
| Chontal de Oaxaca | | | | | |

| | | | | | |
|-------------------------|---|---|----------------------|-----------------------|----------------------|
| Chontal | - | | sham-mu | leua | [6,7] |
| Maya | | | | | |
| Ch'ol | - | bux, tsima | | | [27] |
| Chontal de Tabasco | - | bux, t'ub jawān t'ub (jícara ancha) wolo' t'ub (jícara redonda) | te't'u te' t'ub | | [28,29] |
| Huasteco | - | thoot tima' (rattle jícara painted gourd) | toon tima' | tima, toot tima | [30] [6, 31] |
| Maya | - | | | luch huas h-was | [7,32] |
| | - | luch | | luch (*cultivado) | [33, 34] |
| | - | | | uas (*silvestre) | [34] |
| | - | lek (jícara grande, calabaza para agua) | | homa' | [33] |
| Tzeltal | - | tsima | | bac'il cima | [35], obs. p. [7] |
| Huave | | | | | |
| Huave | - | xax, ndop | | | [36] |
| ND | | | | | |
| Cuitlateco ⁶ | | | cadili latacadili | | [6] |

¹ Según el Catálogo de Lenguas Indígenas Nacionales (INALI 2008)

² Según el Catálogo de Lenguas Indígenas Nacionales (INALI 2008) de acuerdo con la localidad aludida en la fuente.

³ La grafía corresponde a la de la fuente.

⁴ Nombre asignado a la especie según la fuente.

⁵ [1] Pride y Pride 1970; [2] Pride y Pride 2004; [3] Merrifield y Anderson 1999; [4] Skinner y Skinner 2000; [5] Repp y de Repp 1996; [6] Martínez 1979; [7] Pennington y Sarukhán 1998; [8] Anderson y Roque 1983; [9] Jamieson-Capen 1996; [10] Beaty de Farris 2002; [11] Stark-Campbell y Johnson-Peterson 1986; [12] Austin-Krumholz et al. 1995; [13] Reynoso-González 1998; [14] Good 1978; [15] Pickett 1959; [16] Butler 1997; [17] Long y Cruz 1999; [18] Stubblefield y Miller de Stubblefield 1991; [19] Hoogshagen-Noorsdy y Halloran de Hoogshagen 1993; [20] Clark y Davis de Clark 1960; [21] Elson y Gutiérrez G 1999; [22] Engel y Allhiser de Engel 1987; [23] Yetman y Van Devender 2002; [24] Montemayor 2007; [25] de Wolf 2003; [26] Standley 1926; [27] Aulie y de Aulie 1978; [28] Pérez González y de la Cruz 1998; [29] Keller y Luciano G 1997; [30] Alcorn 1984; [31] Rzedowski y Calderón de Rzedowski 1993; [32] Gentry 1982; [33] Barrera-Vásquez 2007; [34] Aguirre-Dugua et al. 2012; [35] Slocum et al. 1999; [36] Stairs-Kreger y Scharfe de Stairs 1981.

⁶ La fuente señala erróneamente *cuicatleco*. La lengua cuitlateca se considera extinta.

Tabla 4. Nombres comunes asignados a *Crescentia alata* y *C. kujete* en México, Centro y Sudamérica (véanse Cuadros 1 y 2).

| Especie Término | Área geográfica [Fuente] |
|------------------------------|---|
| <i>C. alata</i> | |
| ayal, ayale | Sonora, Sinaloa [1,2] |
| jayacaste | Sinaloa [1], Tehuantepec Oax. [2] |
| cuuro | Sinaloa [1] |
| tecomate | Sinaloa [1] |
| cuautecomate, cuatecomate, | región de Costa Grande Guerrero [3] |
| | Michoacán [1] |
| | Guerrero [3] |
| cuastecomate | Costa de Jalisco (obs. pers.) |
| cocol cirial | Bajío y regiones adyacentes [4] |
| cirial, cirián, guaje cirián | Michoacán, Guerrero [1,2,3,5,] |
| guaje | Iguala, Gro. [3] |
| güiro, urani | Michoacán [2] |
| tima | Ciudad Valles, SLP (obs. pers.) |
| jícara, jicarita | Tehuantepec, Oaxaca. [2] |
| | Puente Nacional, Ver.; Magdalena Tequisistlán Oax. (obs. pers.) |
| morro | Costa Grande Gro. [3] |
| | Oaxaca [2] |
| | Istmo de Tehuantepec (obs. pers.) |
| | Chiapas y Guatemala [1] |
| morro del llano | Istmo de Tehuantepec (obs. pers.) |
| morrito | El Salvador [1] |
| cuchara | El Salvador [1] |
| cutuco | El Salvador [1] |
| raspa-guacal | Costa Rica [1] |
| hoja-cruz | Filipinas [1] |
| <i>C. kujete</i> | |
| jícara | Ver., Oax., Tab., Chis., Camp., Yuc. [5] |
| | Eastern and southern Mexico to Honduras [6] |
| | Honduras y Panamá [7] |
| | Tecomavaca, Pue. (obs. pers.) |
| jícara | Sinaloa a Guerrero [6] |
| | Tabasco, Oaxaca, Yucatán, El Salvador, Nicaragua [1] |
| | Ixil, Yuc; Tecmovaca Pue.; El Morrito Oax.; Acacoyagua Chis. (obs. pers.) |
| zacual | región del Tajín, Veracruz [2,5, Obs. Pers.] |
| cirián | Guerrero [1,2] |
| cirián mazo | Sinaloa a Guerrero [6] |
| tecomate, tecomatl | Guerrero [2] |
| | Oaxaca [1] |
| | Tecomavaca, Puebla (obs. pers.) |
| cuautecomate, cuastecomate | Oaxaca [2] |
| | México [1,7] |
| | Costa de Jalisco (obs. pers.) |
| boch | Chiapas [2,5] |
| árbol de las calabazas | Chiapas [1,5] |
| sicamorra | Copainalá, Chis. (obs. pers.) |
| morro | Eastern and Southern Mexico to Honduras [6] |
| | Chiapas [5] |

| | |
|--------------------------------------|---|
| | Chiapas y Guatemala [2] |
| | Guatemala [1,7] |
| | Agua Tinta, Nuevo San Juan Chamula, Acacoyagua Chis. (obs. pers.) |
| morro de jícara | Zanatepec, Oax. (obs. pers.) |
| morro guacalero | Guatemala [1] |
| palo de huacal | Escuintla, Chiapas [2,5] |
| huacal, guacal, jícara de guacal | El Salvador [1,7] |
| | Costa Rica [1] |
| | Nuevo San Juan Chamula, Acacoyagua Chis. (obs. pers.) |
| güiro | Yucatán [1, obs. pers.] |
| | Yucatán, Chiapas y Tabasco [2] |
| huas | Yucatán [1,2, obs. pers.] |
| luch | Yucatán [1,2, obs. pers.] |
| lol | Ixil Yuc. (obs. pers.) |
| guaje | ND [1] |
| güira | Cuba [1,7] |
| güira cimarrona | Cuba, El Salvador [1] |
| higüero | Puerto Rico [7] |
| cutuco | El Salvador [1] |
| jícara de cuchara | El Salvador [1] |
| | El Morrito, Oax. (obs. pers.) |
| cucharito | Acacoyagua, Chis. (obs. pers.) |
| calabacero | Costa Rica [7] |
| calabacero | Costa Rica [1] |
| totumo | Panamá y Costa Rica [6] |
| | Colombia y El Salvador [1,7] |
| totumo cimarrón | Costa Rica [6] |
| palo de tutumas | Panamá [1] |
| totuma | Cuba [1] |
| | Venezuela y Costa de Perú [6] |
| tutumo | Bolivia [8] |
| porobamba | Bolivia [6] |
| calabaza, calabazo, palo de calabaza | Panamá [1] |
| callebasse boite, callebasse | |
| coricon, callebasse longue | República Dominicana [6] |
| calebassier | Guyana Francesa [6] |
| mate | Colombia, Ecuador [1] |
| | Ecuador [6] |
| pilche, pilchimate | Ecuador [6] |
| camasa | Venezuela [7] |
| tapara | Venezuela [6] |
| buhango | Amazonia [6] |
| huingo | Amazonia [6] |
| pati | Amazonia [6] |
| sacha huingo | Amazonia [6] |
| tsapa | Amazonia [6] |
| cuaia, cueira | Brasil [6,7] |
| japacary | Argentina [7] |

[1] Standley 1926; [2] Martínez 1979; [3] Martínez-Torres 1991; [4] Rzedowski y Calderón de Rzedowski 1993; [5] Pennington y Sarukhán 1998; [6] Gentry 1982; [7] Morton 1968; [8] De Lucca-Dröckler 2004.

Cuadro 1.

Uso diferencial de nombres comunes según la especie o variedad.

El reconocimiento y la denominación diferencial local de variedades o especies según sus características morfológicas juegan un papel relevante en los procesos de domesticación porque son uno de los puntos de partida para las prácticas de manejo en las que se manifiesta la selección artificial (Aguirre-Dugua et al. 2012). Este fenómeno reviste particular importancia en las áreas de México donde las dos especies de *Crescentia* son simpátricas, así como en aquellas regiones donde la gente reconoce distintas variedades de la misma especie. Sirvan estos breves ejemplos para aclarar la similitud y las aparentes sinonimias en algunos nombres comunes que aparecen en la Tabla 4, así como mostrar la percepción de las personas respecto a la diversidad morfológica de estas especies presente en sus regiones.

Península de Yucatán – Las comunidades mayas distinguen principalmente dos variantes de *C. kujete*, con sus respectivos nombres en maya y en español. La silvestre se denomina *uas* o *güiro*, y la cultivada se denomina *luch* o *jícara*. El *güiro* crece en las sabanas y en ocasiones se desarrolla espontáneamente en los huertos familiares, donde es eliminado o tolerado como árbol de sombra, ya que sus frutos pequeños, delgados y ovalados no son valorados; la *jícara* es propagada vegetativamente y sus frutos grandes y redondos son muy apreciados (véase Aguirre-Dugua et al. 2012). Adicionalmente, se registró una variedad en Ixil, Yuc., de frutos muy pequeños redondos denominada *lol*.

Istmo de Tehuantepec – Ésta es la región donde la simpatria de las dos especies es más evidente. *C. alata* crece espontáneamente en las selvas bajas y áreas planas cercanas a la costa, mientras que *C. kujete* es cultivada en los huertos. Las personas denominan a *C. alata* *morro* o *morro del llano*, resaltando su estatus silvestre. En cambio, *C. kujete* es denominada *jícara* o *morro de jícara*. Adicionalmente, se reconoce la variante de fruto alargado de *C. kujete* denominada *jícara de cuchara*.

Chiapas – En la región de la Selva Lacandona se denomina *morro* a la variante de *C. kujete* con frutos alargados, mientras que la variante de frutos redondos grandes se llama *huacal*. De manera similar, en la costa se llama *huacal* o *morro de huacal* a la variedad de frutos grandes y redondos, mientras que se denomina *morro* a aquel de frutos redondos pero más pequeños, y *cucharito* al de frutos alargados.

Cuadro 2.
De la designación “totumo” y sus variantes.

En la Tabla 4 puede observarse que el nombre común “totumo” y sus variantes (“tutuma”, “totuma”) asignado a *C. cujete* está ampliamente distribuido: incluye las Antillas (Cuba), Centroamérica (El Salvador, Panamá y Costa Rica) y América del Sur (Venezuela, Perú y Bolivia). Menciona Fray Pedro Simón en 1627 en su obra sobre las voces indígenas usadas comúnmente en el Antiguo Reino de Granada (hoy Colombia) (citado por Arango L, 1995): “*Totumas* – Son unas calabazas sin cuello. Danse en unos árboles de poco agradable vista, por tener la hoja menuda y poca y las ramas mal compuestas. Cuando está la fruta de sazón cogida la cuecen en agua, y partidas por medio son de mucho servicio a toda suerte de gentes. Dáse sólo en tierras calientes.” También se le menciona en el *Compendio y Descripción de las Indias Occidentales* escrito en 1625 por Antonio Vázquez de Espinosa: “y al cabo del año de la penitencia le dan una tutuma grande de calabaza, en que cabrían dos azumbres, y se la dan llena de una bebida hecha de pimientos mui fuertes y espesa” (véase Anexo II).

Mejías (1980) clasifica este vocablo como voz del cumanagoto, lengua caribe. Señala el uso de este vocablo en 1546 y 1578 en las Relaciones Geográficas de Venezuela (véase Anexo II):

1546. “Estos indios son muy domésticos, y hallóse entre ellos armadura de oro, a manera de un coselete, y totuma toda de oro.” p. 9

1578. “Son los indios de esta provincia inhumanos y de tan poca piedad y caridad unos con otros, que al que cae enfermo el mayor regalo que le hacen es ponerle debajo de su hamaca un fuegucillo y una totuma, que es como media calabaza que sirve de escudilla, y en ella la comida o bebida ...”. p. 123

“En los casamientos tienen este orden: cuando un indio le ha parecido bien una india, se lo da a entender con palabras, y si le parece que le muestra buena cara, vase a su casa de ella y si ella le pone en que sentarse y le trae una totuma de agua para que se lave y le pone de comer, ya él entiende la voluntad de la moza y se van a dormir juntos sin que sus padres ni parientes les parezca mal, y así quedan casados.” p. 123-124.

“Crían estos indios otros árboles llamados totumos, que de su fruta hacen escudillas, taparas para agua, como botijas, cucharas y cobertura para su miembro genital. La fruta de este árbol es como calabazas; y de esto, hay árboles que echan pequeña y grande fruta.” p. 129-130.

Es entonces posible que el vocablo “totuma” se haya difundido con la expansión española y haya reemplazado los nombres locales en distintas áreas de Sudamérica, de manera similar a “maíz” y “maguey”, palabras que también son de origen caribe y hoy se encuentran ampliamente distribuidas en todo el continente para designar a estas plantas (Mejías 1980).

Referencias

- s/a. *El Libro de las Tasaciones de Pueblos de la Nueva España*. Siglo XVI, ed. 1952. México: Archivo General de la Nación.
- Aguirre-Dugua, X. et al., 2012. Round and large: morphological and genetic consequences of artificial selection on the gourd tree *Crescentia cujete* by the Maya of the Yucatan Peninsula, Mexico. *Annals of Botany*, 109(7), pp.1297–306.
- Alcorn, J.B., 1984. *Huastec mayan ethnobotany*, Austin: University of Texas Press.
- Alzate y Ramírez, J. A., 1791. Gacetas literarias de México. Gaceta del 28 de junio de 1791. Puebla: Manuel Buen Abad, 1831. Disponible en (febrero 2014): <http://books.google.com.mx/books?id=rP24AAAAIAAJypg=PA53ylpg=PA53ydg=gacetas+literarias+de+M%C3%A9xico+source=blyots=bqcRcDEVjuysig=eKolDuVqG-LZaWHlqlxdyDMwQhoyhl=enysa=Xyei=m1sfU96eF-6E2wXDzYGgCQyved=0CEUQ6AEwBA#v=onepageyq=gacetas%20literarias%20de%20M%C3%A9xico+f=false>
- Anderson, R. y Roque, H.C., 1983. *Diccionario cuicateco: español-cuicateco, cuicateco-español*, México: Serie de Vocabularios y Diccionarios Indígenas Mariano Silva y Aceves 26. Instituto Lingüístico de Verano A.C.
- Arango L, M.A., 1995. *Aporte léxico de las lenguas indígenas al español de América*, Barcelona: Povill.
- Aulie, H.W. y de Aulie, E.W., 1978. *Diccionario Ch'ol de Tumbalá, Chiapas, con variaciones dialectales de Tila y Sabanilla*, México: Serie de Vocabularios y Diccionarios Indígenas Mariano Silva y Aceves 21. Instituto Lingüístico de Verano A.C.
- Austin-Krumholz, J., Kalstrom Dolson, M. y Hernández Ayuso, M., 1995. *Diccionario popoloca de San Juan Atzingo, Puebla*, Tucson: Serie de Vocabularios y Diccionarios Indígenas Mariano Silva y Aceves 33. Instituto Lingüístico de Verano A.C.
- Ávila-Blomberg, A., Moreno-Díaz, N.G., 2008. Distribución de las lenguas indígenas de México. Jardín Etnobotánico de Oaxaca-Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México, D.F. Mapa generado a partir del Catálogo de Lenguas Indígenas Nacionales: variantes lingüísticas de México con sus autodenominaciones y referencias geoestadísticas, 2007, publicado por el Instituto Nacional de Lenguas Indígenas.
- Barrera-Vásquez, A., 2007. *Diccionario Maya*, Mexico: Porrúa.
- Bass, J., 2004. Incidental Agroforestry in Honduras: The jicaro tree (*Crescentia* spp.) and pasture land use. *Journal of Latin American Geography*, 3(1), pp.67–80.
- Beaty de Farris, K., 2002. *Diccionario básico del mixteco de Yosondúa, Oaxaca*, México: Serie de Vocabularios y Diccionarios Indígenas Mariano Silva y Aceves 46. Instituto Lingüístico de Verano A.C.
- Briones-Salas, M., Sánchez-Cordero, V. y Sánchez-Rojas, G., 2006. Multi-species fruit and seed removal in a tropical deciduous forest in Mexico. *Canadian Journal of Botany*, 84, pp.433–442.
- Bullock, S.H. y Solís-Magallanes, J.A., 1990. Phenology of canopy trees of a tropical deciduous forest in Mexico. *Biotropica*, 22(1), pp.22–35.

- Butler, I.M., 1997. *Diccionario zapoteco de Yatzachi: Yatzachi el Bajo, Yatzachi el Alto, Oaxaca*, México: Serie de Vocabularios y Diccionarios Indígenas Mariano Silva y Aceves 37. Instituto Lingüístico de Verano A.C.
- Cajas-Giron, Y.S. y Sinclair, F.L., 2001. Characterization of multistrata silvopastoral systems on seasonally dry pastures in the Caribbean Region of Colombia. *Agroforestry Systems*, 53, pp.215–225.
- De Ciudad Real, A., 1581-1589, ed. 1976. *Tratado curioso y docto de las grandezas de la Nueva España: Relación breve y verdadera de algunas cosas de las muchas que sucedieron al padre Fray Alonso Ponce de las provincias de la Nueva España siendo comisario general de aquellas partes*. Tomo I. México: Instituto de Investigaciones Históricas, Dirección General de Publicaciones, UNAM.
- Clark, L. y Davis de Clark, N., 1960. *Popoluca-castellano, castellano-popoluca: dialecto de Sayula, Veracruz*, México: Serie de Vocabularios y Diccionarios Indígenas Mariano Silva y Aceves 4. Instituto Lingüístico de Verano A.C.
- Clavijero, F. X., 1780, ed. 1853. *Historia Antigua de Méjico*. Méjico: Juan R. Navarro (ed.).
- Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO), 1999. Uso de suelo y vegetación modificado por CONABIO. Escala 1: 1000000. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. Ciudad de México, México.
- Cutler, H.C. y Whitaker, T.W., 1961. History and distribution of the cultivated cucurbits in the Americas. *American Antiquity*, 26(4), pp.469–485.
- Elson, B.F. y Gutiérrez G, D., 1999. *Diccionario popoluca de la Sierra, Veracruz*, México: Serie de Vocabularios y Diccionarios Indígenas Mariano Silva y Aceves 41. Instituto Lingüístico de Verano A.C.
- Engel, R. y Allhiser de Engel, M., 1987. *Diccionario zoque de Francisco León*, México: Serie de Vocabularios y Diccionarios Indígenas Mariano Silva y Aceves 30. Instituto Lingüístico de Verano A.C.
- Fernández de Oviedo y Valdés, G., 1526, ed. 1950. *Sumario de la Natural Historia de las Indias*. Edición, introducción y notas de José Miranda. México: Fondo de Cultura Económica.
- Fernández de Oviedo y Valdés, G., 1535, ed. 1979. *Historia General y Natural de las Indias*. Reimpresión de la edición facsimilar de México. México: Grupo Condumex S.A.
- Foroughbakhch, R. et al., 2006. Establishment, growth and biomass production of 10 tree woody species introduced for reforestation and ecological restoration in northeastern Mexico. *Forest Ecology and Management*, 235(1-3), pp.194–201.
- Gentry, A.H., 1974a. Coevolutionary patterns in Central American Bignoniaceae. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 61, pp.728–759.
- Gentry, A.H., 1974b. Flowering phenology and diversity in tropical Bignoniaceae. *Biotropica*, 6(1), pp.64–68.
- Gentry, A.H., 1976. Bignoniaceae of Southern Central America: distribution and ecological specificity. *Biotropica*, 8(2), pp.117–131.
- Gentry, A.H., 1980. Bignoniaceae. Part I. *Flora Neotropica Monograph*, 25, pp.82–96.
- Gentry, A.H., 1982. Bignoniaceae. *Flora de Veracruz*, 24, pp.1–222.

- Gentry, A.H., 1990. Evolutionary patterns in Neotropical Bignoniaceae. *Memoirs of the New York Botanical Garden*, 55, pp.118–129.
- Good, C., 1978. *Diccionario triqui de Chicahuaxtla: triqui-castellano, castellano-triqui*, México: Serie de Vocabularios y Diccionarios Indígenas Mariano Silva y Aceves 20. Instituto Lingüístico de Verano A.C.
- Guimarães, P.R., Galetti, M. y Jordano, P., 2008. Seed dispersal anachronisms: rethinking the fruits extinct megafauna ate. *PloS one*, 3(3), p.e1745.
- Heithaus, E.R., Fleming, T.H. y Opler, P.A., 1975. Foraging patterns and resource utilization in seven species of bats in a seasonal tropical forest. *Ecology*, 56(4), pp.841–854.
- Hernández, F., 1571-1576, ed. 1959. *Historia Natural de Nueva España*. Vol. 1. México: Universidad Nacional Autónoma de México.
- Hoogshagen-Noorsdy, S. y Halloran de Hoogshagen, H., 1993. *Diccionario mixe de Coatlán, Oaxaca*, México: Serie de Vocabularios y Diccionarios Indígenas Mariano Silva y Aceves 32. Instituto Lingüístico de Verano A.C.
- Howe, H.F., 1985. Gomphothere fruits: a critique. *American Naturalist*, 125, pp.853–865.
- Instituto Nacional de Lenguas Indígenas, 2008. Catálogo de las lenguas indígenas nacionales: variantes lingüísticas de México con sus autodenominaciones y referencias geoestadísticas. Diario Oficial de la Federación, 14 de enero de 2008. México.
- Jamieson-Capen, C., 1996. *Diccionario mazateco de Chiquihuitlán, Oaxaca*, México: Serie de Vocabularios y Diccionarios Indígenas Mariano Silva y Aceves 34. Instituto Lingüístico de Verano A.C.
- Janzen, D.H., 1982. How and why horses open *Crescentia alata* fruits. *Biotropica*, 14(2), pp.149–152.
- Janzen, D.H. y Martin, P.S., 1982. Neotropical anachronisms: the fruits the gomphotheres ate. *Science*, 215(1), pp.19–27.
- Kaplan, L. y Lynch, T.F., 1999. *Phaseolus* (Fabaceae) in archaeology: AMS radiocarbon dates and their significance for pre-columbian agriculture. *Economic Botany*, 53, pp.261–272.
- Keller, K.C. y Luciano G, P., 1997. *Diccionario chontal de Tabasco*, México: Serie de Vocabularios y Diccionarios Indígenas Mariano Silva y Aceves 36. Instituto Lingüístico de Verano A.C.
- Kraft, K.H. et al., 2014. Multiple lines of evidence for the origin of domesticated chili pepper, *Capsicum annuum*, in Mexico. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 111(17), pp.6165–70.
- De Landa, D., 1566, ed. 1973. *Relación de las Cosas de Yucatán*. 10ª edición. México: Editorial Porrúa.
- Lathrap, D.W., 1973. The antiquity and importance of long-distance trade relationships in the moist tropics of Pre-Columbian South America. *World Archaeology*, 5, pp.170–185.
- Lechuga, R. et al., 1997. *Lacas mexicanas*, México: Museo Franz Mayer. Artes de México.
- Lemke, T.O., 1985. Pollen carrying by the nectar-feeding bat *Glossophaga soricina* in a suburban environment. *Biotropica*, 17(2), pp.107–111.

- Long, R. y Cruz, S., 1999. *Diccionario zapoteco de San Bartolomé Zoogocho, Oaxaca*, México: Serie de Vocabularios y Diccionarios Indígenas Mariano Silva y Aceves 38. Instituto Lingüístico de Verano A.C.
- De Lucca-Dröckler, M.F., 2004. *Plantas medicinales del trópico boliviano*, La Paz: Programa de Apoyo a la Estrategia de Desarrollo Alternativo en el Chapare (PRAEDAC).
- MacNeish, R.S., 1967. A summary of the subsistence. In D. S. Byers, ed. *The Prehistory of the Tehuacan Valley. Volume 1: Environment and Subsistence*. Austin: University of Texas Press, pp. 290–309.
- Maldonado-López, S., 2008. *Efecto de la perturbación del bosque sobre la actividad de murciélagos polinizadores y la reproducción de Crescentia alata*. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Martínez, M., 1979. *Catálogo de nombres científicos y vulgares de plantas mexicanas*, México: Fondo de Cultura Económica.
- Martínez-Torres, Z., 1991. *Estudio taxonómico y palinológico de la familia Bignoniaceae en el Estado de Guerrero*. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Medina-González, E.I., 1996. *Jicaras y guajes prehispánicos procedentes de contextos arqueológicos húmedos*. Escuela Nacional de Conservación, Restauración y Museografía “Manuel del Castillo Negrete” INAH SEP.
- Mejías, H.A., 1980. *Préstamos de lenguas indígenas en el español del siglo XVII*, México: Instituto de Investigaciones Filológicas, Universidad Nacional Autónoma de México.
- Merrifield, W.R. y Anderson, A.E., 1999. *Diccionario chinanteco de la diáspora del pueblo antiguo de San Pedro Tlatepuzco, Oax.* 2nd ed., Serie de Vocabularios y Diccionarios Indígenas Mariano Silva y Aceves 39. Instituto Lingüístico de Verano A.C.
- Mirambell, L., 1994. Los primeros pobladores del actual territorio mexicano. In L. Manzanilla y L. López Luján, eds. *Historia Antigua de México Vol. I*. México: Instituto Nacional de Antropología e Historia. Universidad Nacional Autónoma de México. Editorial Porrúa, pp. 177–208.
- Miranda, F. y Hernández-Xolocotzi, E., 1963. Los tipos de vegetación de México y su clasificación. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, 28, pp.29–178.
- Montemayor, C., 2007. *Diccionario del náhuatl en el español de México*, México: Universidad Nacional Autónoma de México. Gobierno del Distrito Federal.
- Morton, J.F., 1968. The calabash (*Crescentia cujete*) in folk medicine. *Economic Botany*, 22(3), pp.273–280.
- Pareyón-Moreno, E., 1988. Objetos maqueados. In M. E. Landa Abrego, ed. *La Garrafa: Cuevas de La Garrafa, Chiapas: estudio y conservación de algunos objetos arqueológicos*. Gobierno del Estado de Puebla, pp. 183–201.
- Pennington, T.D. y Sarukhán, J., 1998. *Árboles tropicales de México* 2nd ed., México: Universidad Nacional Autónoma de México, Fondo de Cultura Económica.
- Pérez-García, E.A., Meave, J.A. y Cevallos-Ferriz, S.R.S., 2012. Flora and vegetation of the seasonally dry tropics in Mexico: origin and biogeographical implications. *Acta Botanica Mexicana*, 100, pp.149–193.

- Pérez-González, B. y de la Cruz, S., 1998. *Diccionario chontal*, Villahermosa: Instituto Nacional de Antropología e Historia. Fondo Estatal para la Cultura y las Artes de Tabasco.
- Pickersgill, B. y Heiser, C.B.J., 1977. Origins and distribution of plants domesticated in the New World tropics. In C. A. Reed, ed. *Origins of agriculture*. The Hague: Mouton Publishers, pp. 803–835.
- Pickett, V., 1959. *Castellano-zapoteco, zapoteco-castellano. Dialecto del zapoteco del Istmo*, México: Serie de Vocabularios y Diccionarios Indígenas Mariano Silva y Aceves 3. Instituto Lingüístico de Verano A.C.
- Piperno, D.R. y Flannery, K. V, 2001. The earliest archaeological maize (*Zea mays* L.) from highland Mexico: new accelerator mass spectrometry dates and their implications. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 98, pp.2101–2103.
- Price, S., 1982. When is a calabash not a calabash? *New West Indian Guide*, 56, pp.69–82.
- Pride, K. y Pride, L., 2004. *Diccionario chatino de la zona alta, Panixtlahuaca, Oaxaca, y otros pueblos*, México: Serie de Vocabularios y Diccionarios Indígenas Mariano Silva y Aceves 47. Instituto Lingüístico de Verano A.C.
- Pride, L. y Pride, K., 1970. *Vocabulario chatino de Tataltepec: castellano-chatino, chatino-castellano*, México: Serie de Vocabularios y Diccionarios Indígenas Mariano Silva y Aceves 15. Instituto Lingüístico de Verano A.C.
- Repp, J. y de Repp, N., 1996. *Diccionario chinanteco de San Juan Lealao, Oaxaca*, Serie de Vocabularios y Diccionarios Indígenas Mariano Silva y Aceves 35. Instituto Lingüístico de Verano A.C.
- Reynoso-González, E., 1998. *Vocabulario español-tlahuica*, Toluca: Gobierno del Estado de México, Instituto Mexiquense de Cultura.
- Rojas, G. et al., 2001. Antimicrobial evaluation of certain plants used in Mexican traditional medicine for the treatment of respiratory diseases. *Journal of Ethnopharmacology*, 74, pp.97–101.
- Rzedowski, J., 1978. *Vegetación de México*, Mexico: Limusa.
- Rzedowski, J. y Calderón de Rzedowski, G., 1993. Bignoniaceae. *Flora del Bajío y regiones adyacentes*, 22, pp.1–44.
- Sánchez-Martínez, F., Alvarado, J.L. y Morett Alatorre, L., 1998. Las cuevas del Gallo y de la Chagüera. Inventario arqueobotánico e inferencias. *Arqueología*, enero-juni, pp.81–89.
- Santander-Cancino, R.M., 1994. *Etnobotánica del cuatecomate (Crescentia spp.) en regiones tropicales de México*. Colegio de Postgraduados.
- Sauer, C.O., 1969. *The Early Spanish Main*. Berkeley: The University of California Press.
- Skinner, L.E. y Skinner, M.B., 2000. *Diccionario chinanteco de San Felipe Usila, Oaxaca.*, Serie de Vocabularios y Diccionarios Indígenas Mariano Silva y Aceves 43. Instituto Lingüístico de Verano A.C.
- Slocum, M.C., Gerdel, F.L. y Cruz Aguilar, M., 1999. *Diccionario tzeltal de Bachajón, Chiapas*, México: Serie de Vocabularios y Diccionarios Indígenas Mariano Silva y Aceves 40. Instituto Lingüístico de Verano A.C.

- Smith, B.D., 2005. Reassessing Coxcatlan Cave and the early history of domesticated plants in Mesoamerica. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102(27), pp.9438–45.
- Spangler, R.E. y Olmstead, R.G., 1999. Phylogenetic analysis of Bignoniaceae based on the cpDNA gene sequences rbcL and ndhF. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 86, pp.33–46.
- Stairs-Kreger, G.A. y Scharfe de Stairs, E.F., 1981. *Diccionario huave de San Mateo del Mar*, México: Serie de Vocabularios y Diccionarios Indígenas Mariano Silva y Aceves 24. Instituto Lingüístico de Verano A.C.
- Standley, P.C., 1926. Trees and shrubs of Mexico. Bignoniaceae. *Contributions to the US National Herbarium*, 23, pp.1313–1325.
- Stark-Campbell, S. y Johnson-Peterson, A., 1986. *Diccionario mixteco de San Juan Colorado*, México: Serie de Vocabularios y Diccionarios Indígenas Mariano Silva y Aceves 29. Instituto Lingüístico de Verano A.C.
- Stubblefield, M. y Miller de Stubblefield, C., 1991. *Diccionario zapoteco de Mitla*, México: Serie de Vocabularios y Diccionarios Indígenas Mariano Silva y Aceves 31. Instituto Lingüístico de Verano A.C.
- Tomar, O.S. et al., 2003. Performance of 31 tree species and soil conditions in a plantation established with saline irrigation. *Forest Ecology and Management*, 177, pp.333–346.
- Tovilla, M. A., 1635, ed. 1960. Relaciones histórico-descriptivas de la Verapaz, el Manché y Lacandón, en Guatemala. Paleografía de France V. Scholes y Eleanor B. Adams. Guatemala: Editorial Universitaria.
- Vásquez de Espinosa, A., 1625, ed. 1948. Compendio y Descripción de las Indias Occidentales. Transcrito por Charles Upson Clark. Washington: The Smithsonian Institute. Disponible (febrero 2014) en http://www.archive.org/stream/smithsonianmisce1081948smit/smithsonianmisce1081948smit_djvu.txt
- Villatoro-Vera, R.A., 2001. *Compuestos activos de Crescentia alata Kunth (Bignoniaceae)*. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Weinstein, E., 2007. Cosmic gourds: cucurbit and *Crescentia* Effigy Pottery of Coastal Ecuador. *Economic Botany*, 61(4), pp.315–327.
- Ximénez, F., 1722, ed. 1967. Historia Natural del Reino de Guatemala. Guatemala: Editorial José de Pineda Ibarra.
- de Wolf, P.P., 2003. *Diccionario español-náhuatl*, México: Universidad Nacional Autónoma de México, Universidad de Baja California Sur, Fideicomiso Teixidor.
- Yetman, D. y Van Devender, T.R., 2002. *Mayo Ethnobotany*, Berkeley: University of California Press.

Lista de proyectos que proveyeron información en la consulta al Sistema Nacional de Información sobre Biodiversidad (SNIB) en relación con los registros de herbario de *C. alata* y *C. kujete* en México.

- Aragón Axomulco Lamberto. 2001. Etapa final de la captura y catalogación del Herbario del Instituto de Ecología, AC, Centro Regional del Bajío. División de Vegetación y Flora, Instituto de Ecología AC. Bases de datos SNIB-CONABIO proyecto Q17. México, D.F.
- Barajas Morales Josefina. 2001. Base de datos para la xiloteca del Instituto de Biología de la UNAM. Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México. Bases de datos SNIB-CONABIO proyecto T4. México, D.F.
- Berlin Brent. 1999. La etnobiología de los recursos nutritivos en las comunidades Tzeltales en los Altos de Chiapas. División de Conservación de la Biodiversidad, El Colegio de la Frontera Sur. Bases de datos SNIB-CONABIO proyecto M1. México, D.F.
- Bonilla Barbosa Jaime Raúl. 2007. Flora acuática vascular y de zonas inundables del área de protección de flora y fauna Laguna de Términos, Campeche, México. Centro de Investigaciones Biológicas, Universidad Autónoma del Estado de Morelos. Bases de datos SNIB-CONABIO proyecto BK31. México, D.F.
- Bravo Marentes Carlos. 1999. Inventario nacional de especies vegetales y animales de uso artesanal. Asociación Mexicana de Arte y Cultura Popular AC. Bases de datos SNIB-CONABIO proyecto J2. México, D.F.
- Chávez Rendón César. 2006. Actualización e incremento del banco de datos de la colección de herbario del Jardín Etnobotánico de Oaxaca. Jardín Etnobotánico de Oaxaca, Centro Cultural Santo Domingo. Bases de datos SNIB-CONABIO proyecto BC3. México, D.F.
- Chiang Cabrera Fernando. 2007. Flora y datos básicos para la evaluación de las actividades apícola y forestal en tres áreas focales del corredor Sian Ka'an-Calakmul. Herbario Nacional MEXU Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México. Bases de datos SNIB-CONABIO proyecto BE21. México, D.F.
- Contreras Jiménez José Luis. 2001. Estudio florístico de la región de Cuetzalan, Puebla. Herbario, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Bases de datos SNIB-CONABIO proyecto L282. México, D.F.
- Cuevas Sánchez Jesús Axayacatl. 2002. Computarización de la base de datos del Banco Nacional de Germoplasma Vegetal - Fase 2. Departamento de Fitotecnia, Universidad Autónoma Chapingo. Bases de datos SNIB-CONABIO proyecto T31. México, D.F.
- Diego David Reygadas Prado. 1999. Sistema de apoyo a la toma de decisiones para la reforestación rural en México. Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Conservación y Mejoramiento de Ecosistemas Forestales, INIFAP. Bases de datos SNIB-CONABIO proyecto J63. México, D.F.
- Diego Pérez Nelly. 1997. Lista florística de la Costa Grande del estado de Guerrero. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. Bases de datos SNIB-CONABIO proyecto B123. México, D.F.
- Dorado Ramírez, Oscar Roberto. 1997. Inventario florístico de la Sierra de Huautla, Morelos. Centro de Educación Ambiental e Investigación Sierra de Huautla, Universidad Autónoma del Estado de Morelos. Bases de datos SNIB-CONABIO proyecto B54. México, D.F.

- Durán García Rafael. 1998. Base de datos del Herbario del Centro de Investigación Científica de Yucatán. Unidad de Recursos Naturales, Centro de Investigación Científica de Yucatán AC. Bases de datos SNIB-CONABIO proyecto P143 México, D.F.
- Flores Guido José Salvador. 1998. Incremento de los bancos florístico y etnobotánico de la Península de Yucatán. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de Yucatán. Bases de datos SNIB-CONABIO proyecto P112. México, D.F.
- Flores Guido José Salvador. 1999. Actualización del banco de datos florístico de la Península de Yucatán (BAFLOPY). Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de Yucatán Bases de datos SNIB-CONABIO proyecto H146. México, D.F.
- González Elizondo María del Socorro. 1998. Base de datos sobre la flora de Durango. Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional-Durango, Instituto Politécnico Nacional. Bases de datos SNIB-CONABIO proyecto P5. México, D.F.
- González Espinosa Mario. 1998. Árboles de Chiapas: registro georreferenciado de los ejemplares depositados en el herbario de la Academia de Ciencias de California (CAS). División de Conservación de la Biodiversidad, El Colegio de la Frontera Sur. Bases de datos SNIB-CONABIO proyecto F19. México, D.F.
- González Medrano Francisco. 1998. Lista florística preliminar de Tamaulipas. Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México. Bases de datos SNIB-CONABIO proyecto P92. México, D.F.
- Guadarrama Olivera María de los Angeles. 2000. Flora de la reserva de la biósfera de los Pantanos de Centla, en el estado de Tabasco, México. División Académica de Ciencias Biológicas, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. Bases de datos SNIB-CONABIO proyecto L138. México, D.F.
- Gutiérrez Báez Celso. 2001. La vegetación y flora de las Lagunas de Catazajá-Emiliano Zapata. Centro de Investigaciones Históricas y Sociales, Universidad Autónoma de Campeche. Bases de datos SNIB-CONABIO proyecto R38. México, D.F.
- Gutiérrez Garduño Marcela Verónica. 1999. Catálogos florísticos de México por entidad federativa e información etnobotánica de la Colección del Herbario Nacional Biól. Luciano Vela Gálvez (INIF). Herbario Nacional Forestal "Biól Luciano Vela Gálvez", Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Conservación y Mejoramiento de Ecosistemas Forestales, INIFAP. Bases de datos SNIB-CONABIO proyecto J10. México, D.F.
- Gutiérrez Garduño Marcela Verónica. 1999. Sistematización del Herbario Nacional Forestal Biól Luciano Vela Gálvez. Herbario Nacional Forestal "Biól Luciano Vela Gálvez", Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Conservación y Mejoramiento de Ecosistemas Forestales, INIFAP. Bases de datos SNIB-CONABIO proyecto P140. México, D.F.
- Jiménez Ramírez Jaime. 2008. Fusión y actualización de las bases de datos del Herbario de la Facultad de Ciencias, UNAM (FCME). Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. Bases de datos SNIB-CONABIO proyecto U8. México, D.F.
- Lebgue Keleng Toutcha. 2001. Flora de las Barrancas del Cobre. División de Posgrado e Investigación, Universidad Autónoma de Chihuahua. Bases de datos SNIB-CONABIO proyecto R102. México, D.F.
- León Cortés Jorge Leonel. 2005. Patrones de diversidad florística y faunística del área focal Ixcán, selva Lacandona, Chiapas. Departamento de Ecología y Sistemática Terrestres,

- Unidad San Cristóbal de las Casas, El Colegio de la Frontera Sur. Bases de datos SNIB-CONABIO proyecto Y36. México, D.F.
- Lorea Hernández Francisco. 2000. Actualización de las bases de datos del Herbario del Instituto de Ecología, AC (XAL). Herbario XAL, Instituto de Ecología AC. Bases de datos SNIB-CONABIO proyecto K4. México, D.F.
- Meave del Castillo Jorge Arturo. 2000. Estudio de la diversidad florística de la región de Nizanda en el Istmo de Tehuantepec, Oaxaca. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. Bases de datos SNIB-CONABIO proyecto L85. México, D.F.
- Muñiz Martínez Raúl. 2001. Vertebrados terrestres de San Juan de Camarones, Durango. Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo
- Novelo Retana Alejandro. 2000. Inventario de la vegetación acuática vascular de la reserva de la biosfera. Herbario Nacional MEXU, Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México. Bases de datos SNIB-CONABIO proyecto L222. México, D.F.
- Panero, José Luis. 2003. Catálogo electrónico de especímenes depositados en el Herbario de la Universidad de Texas en Austin, Fase IV. Herbarium, The University of Texas. Bases de datos SNIB-CONABIO proyecto AE13. México, D.F.
- Pozo de la Tijera María del Carmen. 2005. Uso y monitoreo de los recursos naturales en el Corredor Biológico Mesoamericano (áreas focales Xpujil-Zoh Laguna y Carrillo Puerto). Museo de Zoología Unidad Chetumal, El Colegio de la Frontera Sur. Bases de datos SNIB-CONABIO proyecto BJ2. México, D.F.
- Regional-Durango, Instituto Politécnico Nacional. Bases de datos SNIB-CONABIO proyecto R8. México, D.F.
- Rendón Aguilar Beatriz. 1999. Flora útil del Municipio de la Huerta, Jalisco. Instituto de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México. Bases de datos SNIB-CONABIO proyecto L255. México, D.F.
- Salas Morales Silvia H. 2007. Composición florística del Parque Nacional Huatulco. Sociedad para el Estudio de los Recursos Bióticos de Oaxaca AC. Bases de datos SNIB-CONABIO proyecto BK4. México, D.F.
- Santana Michel Francisco. 1998. Flora de la Reserva de la Biósfera Sierra de Manantlán, Jalisco-Colima, México. Instituto Manantlán de Ecología y Conservación de la Biodiversidad, Universidad de Guadalajara. Bases de datos SNIB-CONABIO proyecto A7. México, D.F.
- Sosa Ortega Victoria. 1998. Recuento de la diversidad florística de Veracruz. División de Vegetación y Flora, Instituto de Ecología AC. Bases de datos SNIB-CONABIO proyecto P11. México, D.F.
- Sousa Sánchez Mario. 2000. Colecta botánica: área maya región de la Reserva Calakmul, Campeche. Herbario Nacional MEXU, Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México. Bases de datos SNIB-CONABIO proyecto M4. México, D.F.
- Téllez Valdés Oswaldo. 2000. Base de datos de la flora de la Reserva de la Biosfera Chamela-Cuixmala, Jalisco, México. Herbario Nacional MEXU, Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México. Bases de datos SNIB-CONABIO proyecto L289. México, D.F.

- Vázquez Yanes Carlos. 1999. Árboles mexicanos potencialmente valiosos para la restauración ecológica y la reforestación. Instituto de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México. Bases de datos SNIB-CONABIO proyecto J84. México, D.F.
- Vega Aviña Rito. 2000. Catálogo y base de datos preliminar de la flora de Sinaloa. Facultad de Agronomía, Universidad Autónoma de Sinaloa. Bases de datos SNIB-CONABIO proyecto L57. México, D.F.
- Vega Aviña, Rito. 1997. Flora del municipio de Culiacán, Sinaloa. Facultad de Agronomía, Universidad Autónoma de Sinaloa. Bases de datos SNIB-CONABIO proyecto B22. México, D.F.
- Villaseñor Ríos José Luis. 2002. Actualización de las bases de datos de los proyectos M056, P089 y Q069 y la familia Asteraceae en México Fase II. Tribus Tageteae y Vernoniaeae. Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México. Bases de datos SNIB-CONABIO proyecto U4. México, D.F.
- Villaseñor Ríos José Luis. 2003. La familia Asteraceae en México, fase III. Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México. Bases de datos SNIB-CONABIO proyecto V40. México, D.F.
- Villaseñor Ríos José Luis. 2006. La familia Asteraceae en México, fase IV. Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México. Bases de datos SNIB-CONABIO proyecto BE7. México, D.F.

Capítulo 2.

*Aguirre-Dugua X., Eguiarte L.E., González-Rodríguez A., Casas A. 2012. Round and large: morphological and genetic consequences of artificial selection on the gourd tree *Crescentia cujete* by the Maya of the Yucatan Peninsula, Mexico. Annals of Botany 109 (7): 1297-1306.*

Round and large: morphological and genetic consequences of artificial selection on the gourd tree *Crescentia cujete* by the Maya of the Yucatan Peninsula, Mexico

Xitlali Aguirre-Dugua¹, Luis E. Eguiarte², Antonio González-Rodríguez¹ and Alejandro Casas^{1,*}

¹Centro de Investigaciones en Ecosistemas, Universidad Nacional Autónoma de México, campus Morelia, Apartado Postal 27-3 (Santa María de Guido), Morelia, Michoacán, 58190, México and ²Departamento de Biología Evolutiva, Instituto de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México, Circuito Exterior, Ciudad Universitaria, Delegación Coyoacán, México, D. F. 04510, México

* For correspondence. E-mail acasas@oikos.unam.mx

Received: 7 December 2011 Returned for revision: 24 January 2012 Accepted: 28 February 2012 Published electronically: 12 April 2012

- **Background and Aims** Artificial selection, the main driving force of domestication, depends on human perception of intraspecific variation and operates through management practices that drive morphological and genetic divergences with respect to wild populations. This study analysed the recognition of varieties of *Crescentia cujete* by Maya people in relation to preferred plant characters and documents ongoing processes of artificial selection influencing differential chloroplast DNA haplotype distribution in sympatric wild and home-garden populations.
- **Methods** Fifty-three home gardens in seven villages (93 trees) and two putative wild populations (43 trees) were sampled. Through semi-structured interviews we documented the nomenclature of varieties, their distinctive characters, provenance, frequency and management. Phenotypic divergence of fruits was assessed with morphometric analyses. Genetic analyses were performed through five cpDNA microsatellites.
- **Key Results** The Maya recognize two generic (wild/domesticated) and two specific domesticated (white/green) varieties of *Crescentia cujete*. In home gardens, most trees (68 %) were from domesticated varieties while some wild individuals (32 %) were tolerated. Cultivation involves mainly vegetative propagation (76 %). Domesticated fruits were significantly rounder, larger and with thicker pericarp than wild fruits. Haplotype A was dominant in home gardens (76 %) but absent in wild populations. Haplotypes B–F were found common in the wild but at low frequency (24 %) in home gardens.
- **Conclusions** The gourd tree is managed through clonal and sexual propagules, fruit form and size being the main targets of artificial selection. Domesticated varieties belong to a lineage preserved by vegetative propagation but propagation by seeds and tolerance of spontaneous trees favour gene flow from wild populations. Five mutational steps between haplotypes A and D suggest that domesticated germplasm has been introduced to the region. The close relationship between Maya nomenclature and artificial selection has maintained the morphological and haplotypic identity (probably for centuries) of domesticated *Crescentia* despite gene flow from wild populations.

Key words: Artificial selection, Bignoniaceae, *Crescentia cujete*, domestication, Maya, Mesoamerica, microsatellites, traditional plant management.

INTRODUCTION

Ongoing processes of plant domestication represent interesting case studies to analyse how artificial selection operates and how organisms managed by humans evolve (Elias *et al.*, 2007; Hughes *et al.*, 2007; Parra *et al.*, 2010). Artificial selection criteria are based on the human perception of desirable and undesirable traits and are expressed on management practices that drive morphological and genetic divergences between wild and managed populations (Bost, 2009; Ruenes-Morales *et al.*, 2010), although such divergences are commonly influenced by the degree of gene flow between them (Harris, 1989; Martínez-Castillo *et al.*, 2007). Therefore, analysing the biological variation of plant populations, the human perception and management of such variation, and the interplay between artificial selection and gene flow are crucial research topics for understanding the variety of plant

domestication strategies and constructing a comprehensive theory of plant evolution under domestication (Harlan, 1975; Casas *et al.*, 2007).

The variety of plant domestication strategies is related to the use of different plant parts (seeds, fruits, flowers, leaves, stems and roots; Smartt and Simmonds, 1995), the high diversity of plant species managed by people (nearly 700 species in Mesoamerica; Casas and Parra, 2007) and their equally diverse life history attributes. For instance, domestication of long-lived woody perennial plants does not fit into the classic model based on cycles of sowing, harvesting and selecting as it is common in seed-propagated annual crops (Zohary and Hopf, 1993) because of their long life cycles and out-crossing reproductive systems that favour high rates of intra- and inter-specific gene flow and inbreeding depression (Hamrick and Godt, 1996; Dodd *et al.*, 1999; Verdú, 2002; Petit and Hampe, 2006).

The gourd tree *Crescentia cujete* (Bignoniaceae) is a perennial species widely distributed in tropical lowlands of Mesoamerica, commonly growing in savannahs and semi-evergreen tropical forests. It is also found in home gardens since its fruits are used for preparing containers and bowls commonly known as 'jicaras' (Gentry, 1980; Pennington and Sarukhán, 1998). Use of these bowls dates back to pre-Columbian times, the oldest record being a fruit fragment found in an Olmec offering from approx. 3700–2900 years before present (BP) (sample morphology not described; Medina-González, 1996; Ortiz et al., 1997). However, *Crescentia* fruits could have been used by more ancient hunter-gatherers for transporting water and provisions, and cooking with hot stones (Mirambell, 1994). By using and promoting this species, humans probably took up its dissemination once the natural coadapted dispersers (Pleistocenic mammals) became extinct about 10 000 years BP (Janzen and Martin, 1982; Nabhan, 1989). Later on, from the 16th to 18th Centuries, several naturalists recorded the use of these containers among native people (Medina-González, 1996). These uses are currently practiced throughout the tropical Americas together with medicinal remedies based on the fruit pulp (Standley, 1926; Morton, 1968; Gentry, 1992). *Crescentia* trees are also present in dry tropical pasture systems (Cajas-Giron and Sinclair, 2001; Bass, 2004). In today's still classic and most comprehensive monograph on Bignoniaceae, Gentry (1980) pointed out that '[*C. cujete*] is widely cultivated throughout the tropical Americas, but its native range is unclear. Certainly native to Mexico and Central America'.

The indehiscent fruit of *Crescentia* and its sister genera *Parmentiera* is thought to be derived from the dehiscent fruit (with wind-dispersed seeds) characteristic of the Bignoniaceae family through coevolution with frugivorous mammals and/or for water-mediated dispersal (Gentry, 1974; Spangler and Olmstead, 1999; Grose and Olmstead, 2007). Pollination by bats is as well an almost unique characteristic within the family (Gentry, 1990).

Our research analysed the interaction between biological variation in home-garden and putative wild populations of *Crescentia cujete* and people of traditional Maya villages where the gourd tree is currently used and managed. We studied how perception of *C. cujete* variation is related to artificial selection favouring specific varieties and the management and propagation strategies involved. In addition, we explored whether the culturally recognized varieties are morphologically and genetically (according to cpDNA haplotypes) different and whether human management has influenced the distribution of this variation in *C. cujete* populations. Since fruits are mainly used as bowls, we hypothesized that distinction of varieties would be based on fruit morphology, particularly fruit size and pericarp thickness. We also expected that home-garden populations would include a higher proportion of the preferred varieties, and that distribution of haplotypes would be different between home-garden and wild populations if there is positive selection towards particular varieties in home gardens.

MATERIALS AND METHODS

Study area

The study was conducted in seven Mayan villages located in the states of Campeche and Yucatan, Mexico, and two putative

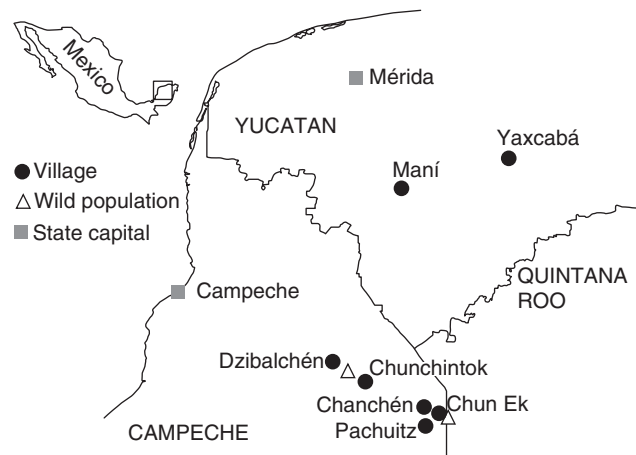


FIG. 1. Maya villages where populations of *C. cujete* were studied.

wild sympatric populations growing in seasonally flooded savannahs associated with semi-evergreen tropical forest. These savannahs are defined as open areas dominated by grasses and members of the Cyperaceae with deep, clay soils that retain water; they are commonly dominated by low-standing trees such as *Crescentia cujete*, *Birsonyma crassifolia* and *Curatella americana* and are next to lower, permanently inundated areas dominated by *Haematoxylon campechanum* (Miranda, 1978). Sites were selected based on geographic records of specimens deposited at the herbaria MEXU, as well as MO and NY available at www.tropicos.org (consulted in February 2009) and preliminary field trips (Fig. 1 and Table 1). Evidence of the historical use of *C. cujete* fruits in this region includes the presence of ornamented bowls in Maya sites such as Chichén Itzá (1200–800 BP, sample morphology not described; Medina-González, 1996) and their description in the *Relación de las Cosas de Yucatán* written by Fray Diego de Landa in AD 1566, who expressed that 'There is a tree from whose fruit, which is like a round gourd, Indians make their vessels, and they make them well painted and cute. Of this same breed there is another, bearing a smaller and very strong fruit and they make from them small vessels for ointments and other services'.

Ethnobotanical assessment

We visited 53 home gardens where the species studied was found and conducted 40 semi-structured interviews (Table 1; Maya, 2001) with the owners of the home gardens (24 women and 16 men, age range 28–83 years), documenting information on nomenclature and distinctive traits of the varieties recognized, paying particular reference to those varieties occurring in their home gardens, forms of propagation and management as well as the source of origin of their germplasm. To assess the salience of each variety, we calculated the relative frequency of citation (RFC) (Tardío and Pardo-de-Santayana, 2008), obtained by dividing the number of informants who mentioned the variety by the number of informants participating in the survey.

TABLE 1. Home gardens and gourd trees sampled in the sites included in the study

| Village | Inhabitants* | Maya speakers (%) [†] | No. of home gardens (interviews) | No. of trees | Co-ordinates | |
|-------------------|--------------|--------------------------------|----------------------------------|--------------|--------------|-------------|
| | | | | | N | W |
| Chun Ek | 99 | 80 | 7 (6) | 12 | 19°11'13'' | -89°11'29'' |
| Pachuitz | 172 | 80 | 5 (4) | 11 | 19°08'52'' | -89°14'56'' |
| Chanchén | 222 | 80 | 7 (6) | 9 | 19°12'32'' | -89°15'41'' |
| Chunchintok | 972 | 80 | 1 (1) | 2 | 19°21'35'' | -89°34'60'' |
| Dzibalchén | 2273 | 80 | 14 (8) | 21 | 19°27'36'' | -89°43'42'' |
| Maní | 3744 | 99 | 11 (9) | 24 | 20°23'11'' | -89°23'25'' |
| Yaxcabá | 2558 | 99 | 8 (6) | 14 | 20°32'53'' | -88°49'38'' |
| Home garden total | | | 53 (40) | 93 | | |
| Chun Ek wild | – | – | – | 21 | | |
| Dzibalchén wild | – | – | – | 22 | | |
| Wild total | | | | 43 | | |

* INEGI (2002); [†] CONABIO (2010).

Morphological variation of fruits

A total of 43 fruits from trees of wild populations and 43 fruits from trees of home gardens were collected from variable samples per tree (according to their availability). Fruits from wild populations were collected from the ground, as they fell from the trees at maturity. Fruits from home gardens were cut from the trees following owners' instructions as to which of them were mature (i.e. with a completely lignified pericarp; immature fruits are not suitable for bowl preparation as they get deformed when drying). Trees and their fruits were classified into varieties according to the information provided by local people. Using 50-cm calipers with 1-mm precision, we measured the height of the fruit from the peduncle scar to the base (h), the major equatorial diameter (D) and the minor equatorial diameter (d). We measured the thickness of the pericarp (pt) always on an equivalent point to the larger equatorial diameter using a 20-cm caliper with 0.02-mm precision. To estimate the shape of the fruit we defined a roundness index $rd = (h/D) - 1$, with values close to 0 in fruits with round shape (i.e. height equal to major equatorial diameter), positive values in fruits with elongated shape (i.e. prolate spheroid; height larger than equatorial diameter) and negative values in fruits with flattened shape (i.e. oblate spheroid; equatorial diameter larger than height). We also estimated fruit volume (in litres, L) with the formula of ellipsoid bodies volume (V), $V = 4/3 \pi (h/2)(D/2)(d/2)/1000$.

Non-parametric Wilcoxon's rank tests were used for testing significant differences in volume and shape between fruits from the two main traditional generic varieties (i.e. *luch* and *uas*). Differences in thickness were assessed using a two-sided Student's t -test. All statistical analyses were performed in the R software version 2.11.1 (available online from the R Foundation for Statistical Computing).

Genetic analyses

Three young leaves were collected and dehydrated in silica gel from 93 gourd trees found in home gardens and from 21 randomly chosen trees from wild populations. Total genomic DNA was extracted following the cetyltrimethyl ammonium

TABLE 2. Detected variability in cpDNA microsatellites of *C. cujete* in the Yucatan Peninsula (primers from Weising and Gardner, 1999)

| Microsatellite | Repetition in <i>N. tabacum</i> | Position | Fragment sizes |
|----------------|-------------------------------------|--|----------------|
| ccmp1 | (T) ₁₀ | <i>trnK</i> intron | 128, 129 |
| ccmp2 | (A) ₁₁ | 5' <i>trnS</i> | 181, 182, 183 |
| ccmp4 | (T) ₁₃ | <i>atpF</i> intron | 141, 142 |
| ccmp5 | (C) ₇ (T) ₁₀ | 3' <i>rps2</i> | 106, 107 |
| ccmp6 | (T) ₅ C(T) ₁₇ | Intergenic region ORF77–ORF82 | 71, 72 |
| ccmp10 | (T) ₁₄ | Intergenic region <i>rpl2–rps19</i> | 108, 111 |

bromide protocol outlined in Doyle and Doyle (1987) modified with the addition of sodium chloride–Tris–EDTA buffer.

We used chloroplast microsatellites as genetic markers. The haploid, maternally inherited chloroplast genome contains non-coding regions useful for genetic diversity and domestication studies (Mauro *et al.*, 2009; Li *et al.*, 2010). Chloroplast DNA (cpDNA) microsatellites were amplified using the ten universal primer pairs published by Weising and Gardner (1999) labelled with fluorescent dyes and analysed in an AbiPrism 3100-Avant Genetic Analyser. The size of each microsatellite was surveyed with the fragment analysis software Peak Scanner v. 1.0 (Applied Biosystems) using GeneScan 500 LIZ as a size standard. Polymorphism was assessed in a preliminary sample of three trees from each population and five of the loci showed intraspecific variation with two to three size variants per microsatellite (Table 2).

Microsatellites were simultaneously amplified in each sample with the Multiplex PCR kit from Qiagen (cat. no. 206143) with the following programme: 95 °C for 15 min; 35 cycles, each of 94 °C for 30 s, 55.5 °C for 1.30 min and 72 °C for 1 min; and a final step of 60 °C for 30 min. PCR products were analysed as previously described. Two individuals per population were amplified twice and a positive control was included in each run to confirm the observed patterns of microsatellite amplification and PCR repeatability. Haplotypes were then defined as each particular combination of microsatellite



FIG. 2. (A) *Uas* tree from the putative wild population of Dzibalchén. (B) *Yaax luch* tree growing in a home garden in Chunchintok; other perennial species found in the home gardens studied include *Sabal yapa* (in the image), *Citrus* sp., and *Annona* sp. (for more details on Maya home-gardens composition and structure, see Barrera, 1980; Rico Gray *et al.*, 1990; Jiménez-Osornio *et al.*, 1999). (C) *Sac luch* (left), *yaax luch* (middle) and *uas* fruits (right); the brown colour of *uas* fruits is associated with their advanced stage of maturity.

TABLE 3. Nomenclature and characteristics of *C. kujete* varieties recognized by Maya people from the study area (see Fig. 2C)

| Category | Variety Maya*/ Spanish | Habitat | Propagation and management | Characteristics |
|----------|--------------------------------|------------------|--|--|
| Generic | <i>Uas</i> /Güiro | Flooded savannah | Develops spontaneously. Tolerated in some home gardens. | Wild variety. Smaller fruits, elongated shape, thin pericarp. |
| | <i>Luch</i> /Jícara | Home garden | Cultivated through cuttings, occasionally through seeds. | Round fruit, larger and thicker than wild variety. |
| Specific | <i>Sac luch</i> /Jícara blanca | Home garden | Cultivated through cuttings. | Round fruit, light green when fresh, whitish aspect after being prepared, thinner pericarp. |
| | <i>Yaax luch</i> /Jícara verde | Home garden | Cultivated through cuttings. Occasionally through seeds. | 'Not so round' fruit, dark green colour when fresh, brownish aspect after preparation, thicker pericarp. |

* Maya spelling follows Barrera-Vásquez (2007).

size variants ('alleles') and their relationships visualized through a median-joining network (Bandelt *et al.*, 1999).

RESULTS

Maya nomenclature and classification of *C. kujete* varieties

Both Maya and Spanish names were recorded for *Crescentia kujete* in the study area corresponding to two generic and two specific categories, distinguished according to their habitat (wild/home garden), fruit form (elongated/round), fruit size (small/large), fruit colour (dark green/light green) and pericarp thickness (thin/thick; Fig. 2 and Table 3). The first level of distinction corresponds to the generic wild (named *uas* in Maya, *güiro* in Spanish) and domesticated (named *luch* in Maya, *jícara* in Spanish) varieties (mentioned by 72.5 % of interviewees), the former being elongated, smaller and with thinner pericarp (42.4 % of mentions) and the latter rounder, larger and with thicker pericarp (17.5 % Table 3). For expressing the differences between these generic categories, people said for instance that '*uas* is elongated, and that is its defect', '*uas* is askew' or that 'those *uas* grow in the forest, but we do not use them because they are elongated, they are not round' (Fig. 2C).

Nearly 63 % of the people interviewed said they know one or both of the specific domesticated varieties, the white *jícara* (*sac luch* or *jícara blanca* in Maya and Spanish, respectively) and the green *jícara* (*yaax luch* or *jícara verde* in Maya and

Spanish, respectively; Fig. 2C), and the two of them were reported with almost the same frequency (*sac luch* RFC = 0.525, *yaax luch* RFC = 0.550). The wild generic variety *uas* had a RFC = 0.650 while the generic *luch* had an RFC = 0.375.

The white *jícara* is distinguished by its round shape, thinner pericarp, light green colour and a final whitish aspect of the bowl made from it (according to 38 % of people interviewed) while the green *jícara* has a 'not so round' shape and a thicker pericarp, it is greener and keeps a brownish aspect when made into a bowl (52 % Fig. 2). The green *jícara* was reported to be larger than white *jícara* (15 % of interviewees) but the opposite was also reported (11 %).

In the villages studied we did not register any named superior category unifying the generic terms *uas* (wild variety) and *luch* (domesticated variety); in other words, there is no local Maya term naming the species *C. kujete*. However, the Maya people recognize these varieties as part of the same group because of their common use for making bowls and because of their overall similarity; however, some people (15 % of interviewees) said that leaves of the *luch* variety were broader than those of the *uas* variety.

The general features of Maya nomenclature referred to and the attributes of each variety were consistent in all localities studied, even in those cases where only the domesticated varieties were known (25 % of interviewees). Although varieties were not distributed evenly between localities (Fig. 3), we did not find any correlation between the varieties recognized and locality, age or sex.

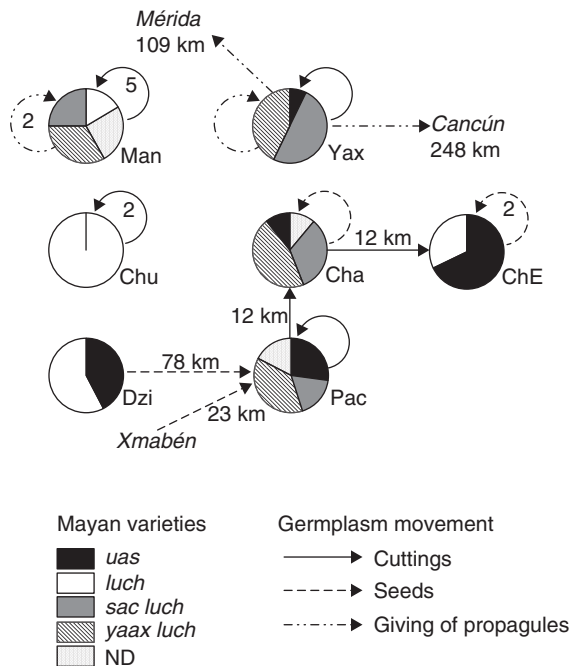


FIG. 3. Diversity of *C. kujete* varieties recognized by the Maya people of the study area and human-mediated germplasm dispersion in the home gardens studied. Localities in italics were mentioned by the interviewees but not included in this study. Numbers represent the number of trees; arrows without a number correspond to one tree. Different sample sizes were analysed at each location (Table 2). Abbreviations: Man, Maní, Yax, Yaxcabá, Chu, Chunchintok, Cha, Chanchén, ChE, Chun Ek, Dzi, Dzibalchén, Pac, Pachuitz. ND, variety not determined.

Management and propagation practices

According to the ethnobotanical categorization, the domesticated varieties *luch*, *sac luch* and *yaax luch* represented 66 % of the trees occurring in home gardens, the remaining were of the *uas* wild variety (24 %) or non-identified trees (10 %). Among domesticated varieties (i.e. *luch*, *sac luch* and *yaax luch*) the green jícara was found to be more common (35 %) than the white jícara (29 %), and they were found growing together in 13 % of the home gardens visited. These specific varieties were reported to be known in four out of the seven villages studied (Fig. 3).

Most of the home gardens visited had only one tree (53 %), but some of them had two (28 %) or three (13 %) or, exceptionally, four or five trees (6 %) of *C. kujete*. Nearly half (48 %) of the home gardens with two or more trees had a mixture of varieties and from these one half had only domesticated varieties while the other half had a mixture of wild and domesticated varieties.

We found that 33 % of trees from the *luch* domesticated varieties were planted by the people interviewed, 76 % of them through branch cuttings and 24 % from seeds (we found no correlation between mode of propagation and variety). The remaining 66 % of trees corresponded to trees already growing in the plots when the owner occupied the house, spontaneous tolerated trees and trees of unknown origin (see below). The planted germplasm was primarily obtained from other home gardens of the same village (57 %) or from other villages (nearly 24 %). People obtained propagules mainly

from members of their family (52 %), from friends or neighbours (19 %) and occasionally by purchasing them (9 %). In addition, five of the 40 interviewees (12.5 %) reported to have given cuttings or mature fruits to other people who desired to plant a gourd tree (Fig. 3).

When asked about the possibility of growing the gourd tree from seeds, 20 % of all the interviewees (distributed in five out of the seven villages included in the study) said that this is not a good idea, since a plant emerging from seed would be wild; they considered, for example, that it 'gets crossed with *uas*' or 'is born *uas*'. In a similar sense, 10 % of the 40 people interviewed used adjectives meaning 'authentic' or 'genuine' (*hach* in Maya) to refer to their trees, for example, to state that 'this tree is *hach luch*, it is an authentic jícara' or 'this tree is *luch*, but it is not genuine, it is a cross because I planted it from seeds, it produces small fruits'.

Nearly 43 % of the *luch* trees in home gardens were already growing in the plot and the interviewees decided to keep them. Another 5 % of *luch* trees emerged spontaneously from seeds of unknown origin. All people interviewed said that the main reason to keep these trees is the use of the fruits for making bowls, but some people (40 %) also mentioned its medicinal properties and a few others (3 %) mentioned affective motivations (i.e. emotional reasons).

In contrast, 68 % of the *uas* trees (i.e. trees belonging to the wild variety) recorded in the home gardens were tolerated when they were already present in the plot or grew spontaneously (the remaining 32 % is of unknown origin). These tolerated trees were kept for making bowls, shade or aesthetics (according to 53 % of people interviewed), or as a living fence and for medicinal properties (13 % of interviewees).

Fruit morphology

Fruits from the *uas* variety (all fruits from wild populations and three fruits from home gardens) were characterized by an average volume of $V = 0.619 \pm 0.187$ L (mean \pm s.d.); their shape spanned a wide range as most of them were elongated, some were rounded and exceptionally flattened ($rd = 0.165 \pm 0.163$; mean \pm s.d.). In contrast, fruits from domesticated varieties *luch*, *sac luch* and *yaax luch* collected in the home gardens visited showed an average volume of $V = 2.117 \pm 0.888$ L ranging from <1 L to >4 L and a rounder shape with less variability ($rd = 0.030 \pm 0.101$; Fig. 4). According to Wilcoxon's sign rank test, fruits from wild and domesticated varieties are significantly different in their volume ($W = 1759$, $P < 0.001$) and form ($W = 450$, $P < 0.001$). We found that wild fruits had a lesser range of variation within each individual tree, as their volumes varied from 8 % up to 29 % around the fruit mean volume of each individual tree, while volumes of fruits from domesticated varieties varied from 2 % up to 67 % around the fruit mean volume of each tree.

The pericarp from fruits belonging to the *uas* variety was also thinner ($pt = 1.58 \pm 0.369$ mm; mean \pm s.d.) than those from *luch*, *sac luch* and *yaax luch* varieties ($pt = 2.19 \pm 0.327$ mm) according to Student's *t*-test ($t = 7.06$, d.f. = 60, $P < 0.001$).

Genetic analyses

Six chloroplast haplotypes were identified (Fig. 5A); we found one to three haplotypes per home-garden population and two to four haplotypes per wild population. In home gardens the most abundant haplotype was A (76%), followed by haplotypes C (17%), E (6%) and F (1%). In wild populations haplotype C showed the highest frequency (74%), followed by haplotypes F, D, E and B (12%, 7%, 5% and 1%, respectively).

A median-joining haplotype network shows haplotype A as genetically distant from the local wild haplotypes; five mutational steps distributed in three microsatellites (one in *ccmp1*, one in *ccmp2*, three in *ccmp10*) separate domesticated haplotype A from wild haplotype D; wild haplotypes D, B and F are separated from central haplotype C by one mutational step in *ccmp5*, *ccmp6* and *ccmp2*, respectively; E is also one mutation away from D in *ccmp4* (Fig. 5A).

We therefore detected a clear pattern of differential distribution of cpDNA haplotypes between wild and home-garden trees (Fig. 5B), with some wild haplotypes occurring in

home gardens in the localities of Chun Ek (75% of trees sampled), Pachuitz (45%) and Dzibalchén (29%) where sympatric wild populations are found nearby, as well as in Yaxcabá (10%), where no wild population was identified during the study. Haplotype A was not detected in the wild populations studied. The specific variants *sac luch* and *yaax luch* were not distinguished from each other with the markers used.

Moreover, we identified that those trees growing in home gardens harbouring haplotype A were identified by owners as belonging to *luch*, *sac luch* or *yaax luch* varieties, while trees with haplotypes C, D and E were identified as from the *uas* variety (Fig. 5B). However, 18% of those trees growing in home gardens and identified by owners as from the *uas* variety harboured haplotype A, while 1.7% of those identified as *luch* presented haplotype C (Fig. 5B).

DISCUSSION

The Maya nomenclature for the botanical species *Crescentia kujete* includes two generic categories: *uas* and *luch* that distinguish wild and domesticated varieties, respectively, and two specific categories for the domesticated variety: *sac luch* and *yaax luch*, the white and green varieties. According to Martin (1995), a generic name refers to a morphologically distinct unit, while specific names refer to divisions of generic names. At the upper level, generics are commonly grouped in distinctive classes of life forms (as trees, vines and grasses) (Berlin, 1973). In contrast to the scientific recognition of one botanical species, the classification documented in the study area shows a cultural over-differentiation or splitting of this plant species, which reflects a high cultural significance of this tree for the Maya people. Fruit form and size are the most important morphological characters differentiating the generic categories *uas* and *luch*, and as these categories belong to the same classification level (generic names) they are mutually exclusive (*sensu* Berlin, 1973).

Names for *Crescentia* have also been reported for other Mayan languages: *tima* in huastec; *tsima* in chol and tzeltal; *t'ub* in chontal (Aulie and Aulie, 1978; Alcorn, 1984; Keller and Luciano, 1997; Slocum *et al.*, 1999), but it is not specified

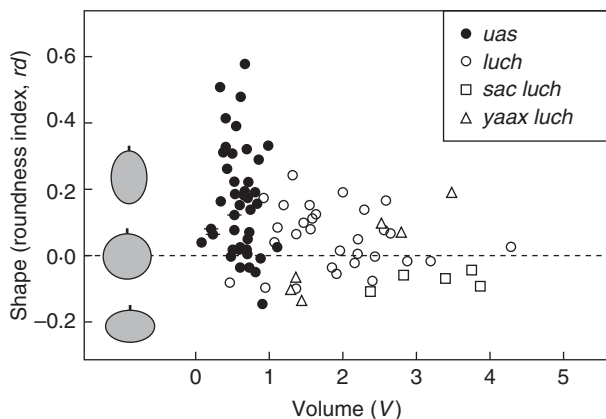


FIG. 4. Shapes and volumes of *C. kujete* fruits from different varieties recognized by Maya classification (see Table 3 for their description). Most *uas* fruits were savannah in origin, except those marked with bars which were collected in home gardens; all *luch* fruits were collected in home gardens.

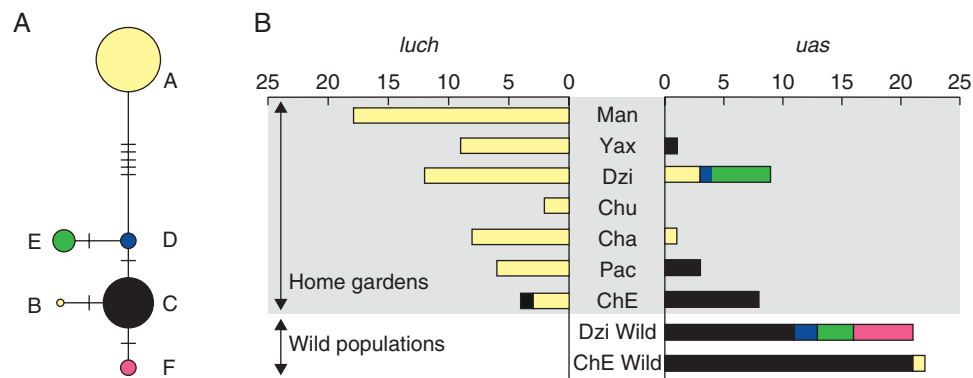


FIG. 5. (A) Median-joining network of cpDNA haplotypes identified in the sites studied with five microsatellite loci. The circle size represents the number of individuals harbouring each haplotype. Bars represent mutational steps. (B) The number of trees belonging to each exclusive generic category of *C. kujete* according to Maya classification as recognized by the interviewees and their cpDNA haplotypes. Abbreviations: Man, Maní, Yax, Yaxcabá, Dzi, Dzibalchén, Chu, Chunchintok, Cha, Chanchén, Pac, Pachuitz, ChE, Chun Ek.

whether these names make reference to cultivated or wild materials.

Different principles for naming wild plants as compared with cultivated plants have been described for the Mariña and the Ka'apor people from the Amazon. According to Balée (1989) and Sánchez *et al.* (2007), many wild plants are named by analogy to cultivated plants, using an attributive that refers to an animal ecologically associated with the wild plant or a word meaning 'false' or 'divine'. For instance, the Ka'apor name for annatto (*Bixa orellana*) growing in doorway gardens is *uruku*, but non cultivated individuals of the same species are called *uruku-ran* or 'false annatto'. As shown by Brown (1985) and Nabhan and Rea (1987), the identification of nomenclatural patterns associated with plant management in perennial and annual species can reveal interesting clues to the cultural process of perception of intraspecific variation as the first step towards domestication.

Intraspecific variation and, perhaps more importantly, the perception about it by people in terms of differences and similarities between individuals is an important condition for artificial selection. But variation is a product of artificial selection as well. As we found, differential management strategies acting on each variety maintain their identity: *luch* trees are actively cultivated (positively selected) mainly through cuttings, while *uas* trees are occasionally tolerated when they grow spontaneously in the home gardens or are eliminated (negatively selected) as reported by two people (5 % of interviewees). The differentiation thus caused by the management practices and artificial selection guided by cultural preferences is the distinctive sign of domestication (Ucko and Dumbleby, 2007). Our hypothesis that home-garden populations would include a higher proportion of the preferred varieties (*luch*, *sac luch* and *yaax luch*) was therefore accepted, although the home gardens from Chun Ek were an exception, because most of their trees (66 %) belonged to the wild *uas* variety (Fig. 3). This result is probably related to the fact that people from Chun Ek reported to have brought wild fruits from the savannah for making bowls when the village was settled in the 1960s and they didn't have any home garden, throwing the pulp and seeds on nearby garbage piles. On the other hand, this village is the nearest of all villages studied to a wild population and is surrounded by a well-conserved forest which is part of the Calakmul Biosphere Reserve; this suggests a higher gene flow from wild stands to home gardens, as indicated by the cpDNA haplotypes (Fig. 5B), apparently mediated by small mammals such as coatis (*Nasua* spp.) and raccoons (*Procyon lotor*), whose footprints in the savannah and wild fruits with teeth and nail marks were observed by the authors.

The analyses of fruit morphology identified the main trends of artificial selection suggested by the local folk classification and criteria made explicit by the interviewees. We found that domesticated varieties have fruits with significantly rounder shapes and higher volumes. Domesticated fruits show volumes from <1 L to >4 L, while the wild variety fruits have more elongated shapes and smaller volumes, always under 1 L. It is important to notice that the variation pattern is opposite in these categories: domesticated *luch* fruits have a wider span of volumes, but maintain a close-to-round shape, while wild *uas* fruits show small variation in volume

but a wider range of forms (Fig. 4). This pattern shows that artificial selection in domesticated *luch* varieties is mainly directed to maintain the round shape of fruits, whereas in natural conditions wild fruits may show a diversity of shapes but are constrained in their volumes. Considering that domesticated fruits can attain seven times the volume ($V_{\max} = 4.27$ L) reached by the mean wild fruits ($V = 0.609$ L), it is easy to understand why Maya people perceive them as two different botanical units.

The genetic and environmental determinants of fruit morphology in *Crescentia* have not been studied. Arango-Ulloa *et al.* (2009) reported a wide variety of *Crescentia kujete* fruit shapes and sizes in different regions of Colombia; they found no significant correlation between fruit morphology and geographical area, and one single area (Orinoco) presented up to six fruit shapes. On the other hand, the fruit shape described by those authors as 'flattened' (which corresponds to the morphology observed in Yucatan) has the widest range of fruit sizes (Arango-Ulloa *et al.*, 2009). This information suggests that fruit shape is not strongly influenced by environmental conditions, although fruit size is apparently phenotypically plastic, as suggested by the fruit-volume variation we found on single individual trees.

On the other hand, our documentation of the *uas* wild and *luch* domesticated varieties as well as their Spanish equivalent terms *güiro* and *jícara*, respectively, confirms previous ethnobotanical reports on the common names of *C. kujete* (Gentry, 1980; Pennington and Sarukhán, 1998; Arellano-Rodríguez *et al.*, 2003). But our study revealed that these names correspond to different taxa according to Maya botanical classification, i.e. the wild one with small elongated fruit and the domesticated one with a round and large fruit. This is the first report on Maya distinction between *sac luch* and *yaax luch* varieties.

The differentiation between the specific categories *sac luch* and *yaax luch* is based on a group of characteristics: external colour of the fresh fruit, final colour when prepared into a bowl, overall fruit form and pericarp thickness (Table 3). Besides some variation on the distinctive characters of each specific category, especially size, the nomenclature was shared between localities, and reflects that these characters can also be relevant for artificial selection processes. It was observed that the whiteness of the bowl is a culturally important character that depends not only on the variety but also on the successful preparation of the bowl, which would favour *sac luch* or the white *jícara* variety; its rounder shape is also most appreciated. However, the thinner pericarp of this variety makes it less resistant. On the other hand, *yaax luch* represents the overall trend of selection for thicker and more resistant fruits, and even if its fruits are not very round, it is valued and kept in the home gardens. With their contrasting and complementary characteristics, these two specific categories satisfy the cultural needs and preferences of the Maya people, as suggested by their very similar RFC indices.

As a whole, our results on the attributes of *C. kujete* varieties are in agreement with our hypothesis that they would be distinguished based on fruit morphology, as the usage of the fruit for making bowls initially suggested. However, as we found that fruit form was as important as fruit size, followed by pericarp thickness, and that both white and green

varieties are used and propagated, we may indeed conclude that cultural preferences are as relevant as utility as criteria driving the artificial selection process in this species.

Artificial selection for a thicker pericarp in domesticated varieties was an expected selection target because of the use of fruits as receptacles. However, a thicker pericarp reduces the natural capacity for seed dispersal, as thick fruits are almost impossible to open without a tool and can easily dry out with the seeds inside, as experienced in this study. This would mean that the domesticated varieties depend on humans for propagation, whether dispersing the seeds by opening and cleaning the fruit or through vegetative propagation. In contrast, the thinner pericarp of wild fruits may be subjected to natural selection forces associated with their dispersal by wild mammals like peccari (*Tayassu pecari* and *Pecari tajacu*; Pérez-Cortés and Reyna-Hurtado, 2008) and deer (*Odocoileus virginianus*), animals that were reported by 15 % of the interviewees to eat *uas* wild fruits, as well as small mammals like coatis and raccoons, as previously mentioned.

As suggested by the characters that differentiate the two main generic categories and the measures taken on the fruits (Table 3 and Fig. 4), the Maya people value most importantly the roundness and larger size of *luch* fruits and actively maintain these characteristics (counteracting gene flow from the wild variety) mainly through vegetative propagation. The presence of a dominant haplotype (haplotype A) corresponding to domesticated *luch*, *sac luch* and *yaax luch* varieties (Fig. 5) is consistent with this propagation strategy and with occasional propagation through seeds, as 86 % of those *luch* trees reported to be planted from seeds or that were grown spontaneously harboured haplotype A. This pattern was observed in the villages where domesticated varieties were dominant such as Maní, Yaxcabá, Chunchintok, Chanchén and Pachuitz (Figs 3 and 5). This genetic print confirms the diffusion of *C. kujete* propagules within and between villages as mainly based on domesticated germplasm (Fig. 3) which causes a bottleneck effect on cpDNA genetic diversity in the home-garden populations, and corroborates our hypothesis about strong artificial selection causing a differential distribution of haplotypes between wild and home garden populations (Fig. 5B).

However, as already recognized by the interviewees, propagation through seeds obtained from a domesticated variety may produce a tree of wild type as detected in those cases when *uas* trees growing in home gardens harboured haplotype A (such as in Dzibalchén and Chanchén; Fig. 5B); which suggests pollen introgression from wild surrounding populations into the trees growing in the home gardens. Trees identified by people as *uas* harbouring wild cpDNA haplotypes indicate as well gene flow mediated by seeds from the wild surrounding populations into the villages (mediated by human as well as animal dispersers). Indeed, wild haplotypes detected in the villages are in agreement with the diversity found in their neighbouring wild populations, as we detected that *uas* trees from Chun Ek and Pachuitz harbour the abundant haplotype C, and those from Dzibalchén bear haplotypes E and D. In contrast, seed flow from home gardens to savannahs seems to be very low, given the absence of the haplotype A in samples from wild populations.

As expected from their geographical proximity, the two wild populations had low genetic differentiation. Their haplotype

diversity was that expected in a natural population, as we found one abundant, ancestral haplotype, shared by both populations, and several less abundant, derived haplotypes that most probably appeared locally by mutation processes from the ancestral haplotype. However, this pattern does not give us any more clues to the natural processes affecting wild populations of *Crescentia*; more than two populations would be necessary to analyse phylogeographical and/or population processes affecting their cpDNA diversity and distribution.

Evolutionary ecology of domesticated populations of *C. kujete* in the Yucatan Peninsula appears to be shaped by a mixed system with a high proportion of artificial vegetative propagation (76 % of trees planted in home gardens), but also sexual propagation (24 %). The use of seeds as propagules and the practice of tolerating spontaneous individuals together with the coexistence of trees from different varieties and different origins (Fig. 3) is the key for broadening the genetic diversity of home-garden populations. However, knowing the impacts of this management system on the genetic diversity of the populations and assessing the degree of gene flow between them will require additional analyses with nuclear genetic markers.

Local Maya nomenclature, together with the unknown age of most home garden trees sampled (at least older than the age of interviewees, mean = 52 years), suggests that the artificial selection and management practices of *C. kujete* by local people are ancient. The marked morphological differences between fruits of domesticated and wild varieties (Fig. 4) and the genetic distance found between the domesticated and wild haplotypes (Fig. 5A) also suggest that the domesticated germplasm is not native. Home gardens from Yucatán harbour a rich flora that includes species domesticated in the region (e.g. henequen *Agave fourcroydes* and cotton *Gossypium hirsutum*; Colunga-García Marín and May-Pat, 1997; Brubaker and Wendel, 1994), many perennial species associated with the local forests (*Dyospiros digina*, *Brosimum alicastrum*, *Manilkara sapota*, among others; Barrera et al., 1977; Barrera, 1980) as well as neotropical species that do not have wild representatives in the local vegetation [around 13 % of the flora present in Mayan home gardens according to Barrera (1980); e.g. *Ananas comosus* (Smith et al., 1992)]. It can be hypothesized that neotropical species without local wild representatives have been introduced to the region in ancient or more recent times, but, as in the present study, it can also be the case that the germplasm found in home gardens from species with a wild local equivalent has been introduced as well. More detailed studies on Mayan nomenclature distinguishing domesticated and wild variants (e.g. *Cnidiosculus aconitifolius*; Ross-Ibarra and Molina-Cruz, 2002), followed by genetic and phylogeographic analyses may help to identify which plant species belong to this category.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors thank Israel Noh and Lisandro Cocom for their help during the interviews and data collecting. The Escuela de Agricultura Ecológica U Yits Ka'an in Maní, Marcela Morales and Héctor León kindly provided facilities for fieldwork; Mirna Canul and Alejandro Aragón introduced the first author

to the region of La Montaña (Campeche). We also thank Edgar Pérez Negrón for his valuable help during collection trips and Victor Rocha for his assistance on laboratory work. X.A.-D received a PhD scholarship from Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (Conacyt, no. 268674) at Posgrado de Ciencias Biomédicas (UNAM). This work was supported by Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT, research project no. CB-2008-01-103551) and Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT UNAM, grant no. IN205111-3).

LITERATURE CITED

- Alcorn JB. 1984.** *Huastec mayan ethnobotany*. Austin, TX: University of Texas Press.
- Arango-Ulloa J, Bohorquez A, Duque MC, Maass BL. 2009.** Diversity of the calabash tree (*Crescentia cujete* L.) in Colombia. *Agroforestry Systems* **76**: 543–553.
- Arellano-Rodríguez JA, Flores Guido S, Tun Garrido J, Cruz Bojórquez MM. 2003.** Nomenclatura, forma de vida, uso, manejo y distribución de las especies vegetales de la Península de Yucatan. *Etnoflora Yucatanense* **20**: 1–815.
- Aulie HW, Aulie EW. 1978.** *Diccionario Ch'ol de Tumbalá, Chiapas, con variaciones dialectales de Tila y Sabanilla*. Serie de Vocabularios y Diccionarios Indígenas Mariano Silva y Aceves 21. Mexico: Secretaría de Educación Pública.
- Balée W. 1989.** Nomenclatural patterns in Ka'apor ethnobotany. *Journal of Ethnobiology* **9**: 1–24.
- Bandelt HJ, Forster P, Rohl A. 1999.** Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Molecular Biology and Evolution* **16**: 37–48.
- Barrera A, Gómez-Pompa A, Vázquez-Yanes C. 1977.** El manejo de las selvas por los Mayas: sus implicaciones silvícolas y agrícolas. *Biótica* **2**: 47–61.
- Barrera-Vásquez A. ed. 2007.** *Diccionario Maya*, 5th edn. México: Porrúa.
- Barrera A. 1980.** Sobre la unidad habitación tradicional campesina y el manejo de los recursos bióticos en el área maya yucatanense. *Biótica* **5**: 115–129.
- Bass J. 2004.** Incidental agroforestry in Honduras: the jícara tree (*Crescentia* spp.) and pasture land use. *Journal of Latin American Geography* **3**: 67–80.
- Berlin B. 1973.** Folk systematics in relation to biological classification and nomenclature. *Annual Review of Ecology and Systematics* **4**: 259–271.
- Bost BJ. 2009.** *Edible plants of the Chinantla, Oaxaca, Mexico, with an emphasis on the participatory domestication prospects of Persea schiedana*. MSc Thesis, University of Florida, USA.
- Brown CH. 1985.** Mode of subsistence and folk biological taxonomy. *Current Anthropology* **26**: 43–64.
- Brubaker CL, Wendel JF. 1994.** Reevaluating the origin of domesticated cotton (*Gossypium hirsutum*; Malvaceae) using nuclear restriction fragment length polymorphisms (RFLPs). *American Journal of Botany* **81**: 1309–1326.
- Cajas-Giron YS, Sinclair FL. 2001.** Characterization of multistrata silvopastoral systems on seasonally dry pastures in the Caribbean Region of Colombia. *Agroforestry Systems* **53**: 215–225.
- Casas A, Parra F. 2007.** Agrobiodiversidad, parientes silvestres y cultura. *LEISA Revista de Agroecología* **23**.
- Casas A, Otero-Arnaiz A, Pérez-Negrón E, Valiente-Banuet A. 2007.** *In situ* management and domestication of plants in Mesoamerica. *Annals of Botany* **100**: 1101–1115.
- Colunga-García Marín P, May-Pat F. 1997.** Morphological variation of henquen (*Agave fourcroydes*, Agavaceae) germplasm and its wild ancestor (*A. angustifolia*) under uniform growth conditions: diversity and domestication. *American Journal of Botany* **84**: 1449–1465.
- CONABIO (Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad). 2010.** 'Población indígena a nivel municipal de la República Mexicana, 2000'. Datos estadísticos de 2000 del Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática. Escala 1:250000. México, D.F.
- Dodd ME, Silvertown J, Chase MW. 1999.** Phylogenetic analysis of trait evolution and species diversity variation among angiosperm families. *Evolution* **53**: 732–744.
- Doyle JJ, Doyle JL. 1987.** A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin* **19**: 11–15.
- Elias M, Lenoir H, McKey. 2007.** Propagule quantity and quality in traditional Makushi farming of cassava (*Manihot esculenta*): a case study for understanding domestication and evolution of vegetatively propagated crops. *Genetic Resources and Crop Evolution* **54**: 99–115.
- Gentry AH. 1974.** Coevolutionary patterns in Central American Bignoniaceae. *Annals of the Missouri Botanical Garden* **61**: 728–759.
- Gentry AH. 1980.** Bignoniaceae Part I. *Flora Neotropica Monograph* **25**: 82–96.
- Gentry AH. 1990.** Evolutionary patterns in neotropical Bignoniaceae. *Memoirs of the New York Botanical Garden* **55**: 118–129.
- Gentry AH. 1992.** A synopsis of Bignoniaceae ethnobotany and economic botany. *Annals of the Missouri Botanical Garden* **79**: 53–64.
- Grose SO, Olmstead RG. 2007.** Evolution of a charismatic Neotropical clade: molecular phylogeny of *Tabebuia* s. l., Crescentieae, and allied genera (Bignoniaceae). *Systematic Botany* **32**: 650–659.
- Hamrick JL, Godt MJW. 1996.** Effects of life history traits on genetic diversity in plant species. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B* **351**: 1291–1298.
- Harlan JR. 1975.** *Crops and man*. Madison, WI: American Society of Agronomy and Crop Science Society of America.
- Harris R. 1989.** An evolutionary continuum of people–plant interaction. In: Harris D, Hillman G eds. *Foraging and farming: the evolution of plant exploitation*. London: Unwin Hyman, 11–26.
- Hughes CE, Govindaraulu R, Robertson A, Filer DL, Harris SA, Bailey CD. 2007.** Serendipitous backyard hybridization and the origin of crops. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* **104**: 14389–14394.
- INEGI (Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informática). 2002.** 'Localidades de la República Mexicana, 2000'. Obtenido de Principales Resultados por Localidad. XII. Censo de Población y Vivienda 2000. Editado por Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO). México.
- Janzen DH, Martin PS. 1982.** Neotropical anachronisms: the fruits the gomphotheres ate. *Science* **215**: 19–27.
- Jiménez-Osornio JJ, Ruenes-Morales MR, Montañez-Escalante P. 1999.** Agrobiodiversidad de los solares de la Península de Yucatán. *Red: Gestión de Recursos Naturales* **14**.
- Keller KC, Luciano P. 1997.** *Diccionario chontal de Tabasco*. Serie de Vocabularios y Diccionarios Indígenas Mariano Silva y Aceves 36. Mexico: Secretaría de Educación Pública.
- Li R, Zhang H, Zhou X, et al. 2010.** Genetic diversity in Chinese sorghum landraces revealed by chloroplast simple sequence repeats. *Genetic Resources and Crop Evolution* **57**: 1–15.
- Martin GJ. 1995.** *Ethnobotany: a methods manual*. Cambridge: Chapman & Hall.
- Martínez-Castillo J, Zizumbo-Villarreal D, Gepts P, Colunga-García Marín P. 2007.** Gene flow and genetic structure in the wild-weedy-domesticated complex of *Phaseolus lunatus* L. in its Mesoamerican center of domestication and diversity. *Crop Science* **47**: 58–66.
- Mauro R, Portis E, Acquadro A, Lombardo S, Mauromicale G, Lanteri S. 2009.** Genetic diversity of globe artichoke landraces from Sicilian small-holdings: implications for evolution and domestication of the species. *Conservation Genetics* **10**: 431–440.
- Maya J. 2001.** *An introduction to qualitative methods: a training module for students and professionals*. Edmonton: Qual Institute Press.
- Medina-González EI. 1996.** *Jícaras y guajes prehispánicos procedentes de contextos arqueológicos húmedos*. BSc thesis. Escuela Nacional de Conservación, Restauración y Museografía Manuel del Castillo Negrete INAH SEP, México.
- Mirambell L. 1994.** Los primeros pobladores del actual territorio mexicano. In: Manzanilla L, López Luján L. eds. *Historia Antigua de México* Vol. 1. Mexico: INAH, UNAM, Porrúa, 177–208.
- Miranda F. 1978.** *Vegetación de la península yucateca*. Mexico: Colegio de Postgraduados, SARH.
- Morton JF. 1968.** The calabash (*C. cujete*) in folk medicine. *Economic Botany* **22**: 273–280.
- Nabhan GP. 1989.** *Enduring seeds*. New York, NY: North Point Press.

- Nabhan GP, Rea AM. 1987.** Plant domestication and folk biological change: the Upper Piman/Devil's claw example. *American Anthropologist* **89**: 57–73.
- Ortiz P, Rodríguez MC, Delgado A. 1997.** *Las investigaciones arqueológicas en el Cerro Sagrado del Manatí*. México: Universidad de Veracruz.
- Parra F, Casas A, Peñaloza-Ramírez JM, Cortés-Palomec AC, Rocha-Ramírez V, González-Rodríguez A. 2010.** Evolution under domestication: ongoing artificial selection and divergence of wild and managed *Stenocereus pruinosus* (Cactaceae) populations in the Tehuacán Valley, Mexico. *Annals of Botany* **106**: 483–496.
- Pennington TD, Sarukhán J. 1998.** *Árboles tropicales de México*. México: UNAM, FOE.
- Pérez-Cortés S, Reyna-Hurtado R. 2008.** La dieta de los pecaríes (*Pecari tajacu* y *Tayassu pecari*) en la región de Calakmul, Campeche, México. *Revista Mexicana de Mastozoología* **12**: 17–42.
- Petit RJ, Hampe A. 2006.** Some evolutionary consequences of being a tree. *Annual Reviews in Ecology and Systematics* **37**: 187–214.
- Rico-Gray V, García-Franco JG, Chemas A, Puch A, Sima P. 1990.** Species composition, similarity and structure of Mayan homegardens in Tixpeual and Tixcacaltuyub, Yucatan, Mexico. *Economic Botany* **44**: 470–487.
- Ross-Ibarra J, Molina-Cruz A. 2002.** The ethnobotany of chaya (*Cnidosculus aconitifolius* ssp. *aconitifolius* Breckon): a nutritious maya vegetable. *Economic Botany* **56**: 350–365.
- Ruenes-Morales MR, Casas A, Jiménez-Osornio JJ, Caballero J. 2010.** Etnobotánica de *Spondias purpurea* L. (Anacardiaceae) en la Península de Yucatán. *Interciencia* **35**: 247–254.
- Sánchez M, Miraña P, Duivenvoorden J. 2007.** Plants, soils and landscapes: sorting of nature by the Miraña Indians of Colombian Amazon. *Acta Amazonica* **37**: 567–582.
- Slocum MC, Gerdel FL, Aguilar MC. 1999.** *Diccionario Tzeltal de Bachajón, Chiapas*. Serie de Vocabularios y Diccionarios Indígenas Mariano Silva y Aceves 40. Mexico: Secretaría de Educación Pública.
- Smartt J, NW Simmonds. eds 1995.** *Evolution of crop plants*. New York, NY: Longman Scientific and Technical.
- Smith NJH, Williams JT, Plucknett DL, Talbot JP. 1992.** *Tropical forests and their crops*. London: Comstock Publishing Associates.
- Spangler RE, Olmstead RG. 1999.** Phylogenetic analysis of Bignoniaceae based on the cpDNA gene sequences rbcL and ndhF. *Annals of the Missouri Botanical Garden* **86**: 33–46.
- Standley PC. 1926.** Trees and shrubs of Mexico. *Contributions to the US National Herbarium* No. 23.
- Tardío J, Pardo-de-Santayana M. 2008.** Cultural importance indices: a comparative analysis based on the useful wild plants of Southern Cantabria (Northern Spain). *Economic Botany* **62**: 24–39.
- Ucko PJ, Dimbleby GW. eds 2007.** *The domestication and exploitation of plants and animals*. Chicago, IL: Aldine.
- Verdú M. 2002.** Age at maturity and diversification in woody angiosperms. *Evolution* **56**: 1352–1361.
- Weising K, Gardner R. 1999.** A set of conserved PCR primers for the analysis of simple sequence repeat polymorphisms in chloroplast genomes of dicotyledonous angiosperms. *Genome* **42**: 9–19.
- Zohary D, Hopf M. 1993.** *Domestication of plants in the Old World*, 2nd edn. Oxford: Oxford Science Publications.

Capítulo 3.

*Aguirre-Dugua X., Pérez-Negrón E., Casas A. 2013. Phenotypic differentiation between wild and domesticated varieties of *Crescentia cujete* L. and culturally relevant uses of their fruits as bowls in the Yucatan Peninsula, Mexico. Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine 9:76.*



Phenotypic differentiation between wild and domesticated varieties of *Crescentia cujete* L. and culturally relevant uses of their fruits as bowls in the Yucatan Peninsula, Mexico

Aguirre-Dugua *et al.*



RESEARCH

Open Access

Phenotypic differentiation between wild and domesticated varieties of *Crescentia cujete* L. and culturally relevant uses of their fruits as bowls in the Yucatan Peninsula, Mexico

Xitlali Aguirre-Dugua, Edgar Pérez-Negrón and Alejandro Casas*

Abstract

Background: Selection criteria are important for analyzing domestication of perennial plant species, which experience a selection pressure throughout several human generations. We analyze the preferred morphological characteristics of *Crescentia cujete* fruits, which are used as bowls by the Maya of Yucatan, according to the uses they are given and the phenotypic consequences of artificial selection between one wild and three domesticated varieties.

Methods: We performed 40 semi-structured interviews in seven communities. We calculated Sutrop's salience index (S) of five classes of ceremonial and daily life uses, and of each item from the two most salient classes. We sampled 238 bowls at homes of people interviewed and compared their shape, volume and thickness with 139 fruits collected in homegardens and 179 from the wild. Morphology of varieties was assessed in fruit ($n = 114$ trees) and vegetative characters ($n = 136$ trees). Differences between varieties were evaluated through linear discriminant analysis (LDA).

Results: Use of bowls as containers for the Day of the Dead offerings was the most salient class ($S = 0.489$) with chocolate as its most salient beverage ($S = 0.491$), followed by consumption of daily beverages ($S = 0.423$), especially maize-based *pozol* ($S = 0.412$). The sacred *saka'* and *balche'* are offered in different sized bowls during agricultural and domestic rituals. Roundness was the most relevant character for these uses, as bowls from households showed a strong selection towards round shapes compared with wild and homegarden fruits. Larger fruits from domesticated varieties were also preferred over small wild fruits, although in the household different sizes of the domesticated varieties are useful. LDA separated wild from domesticated trees ($p < 0.001$) according to both fruit and vegetative variables, but domesticated varieties were not different among themselves.

Conclusions: The association between *C. cujete* bowls and traditional beverages in ritual and daily life situations has driven for centuries the selection of preferred fruit morphology in this tree. Selection of fruit roundness and volume has allowed for the differentiation between the wild variety and the three domesticated ones, counteracting gene flow among them. By choosing the best fruits from domesticated varieties propagated in homegardens, the Maya people model the domestication process of this important tree in their culture.

Keywords: Calabash, *Crescentia*, Domestication, Gourd tree, Maya, Mesoamerica, Morphology, Phenotypic variation

* Correspondence: acasas@cieco.unam.mx

Centro de Investigaciones en Ecosistemas, Universidad Nacional Autónoma de México, Campus Morelia, Apartado Postal 27-3 (Santa María de Guido), Morelia, Michoacán 58190, México

Background

Domestication is an evolutionary process in which artificial selection increases fitness of individuals with morphological and physiological features favourable to people [1-3]. As the main evolutionary force driving domestication, artificial selection promotes phenotypic and genetic differentiation between domesticates and their wild relatives [4,5] with variable results according to intensity of past and current management practices of plant populations as well as features of the life history of managed plants. Plant management practices include gradients of activities with variable energy input, techniques and production goals in different geographical spaces. These practices include the tolerance or let standing, protection and promotion of preferred individuals in wild populations and their active cultivation in human-created environments such as agricultural parcels and homegardens [6]. In order to understand how artificial selection drives evolution of plant species under domestication, it is therefore necessary to analyze the environmental, social and cultural aspects influencing human management of biological variation [7].

Social and cultural aspects of plant management are particularly relevant to understand the decision-making processes that favour some individuals over others [6,8,9] because selection criteria and management practices depend on the role of each plant resource in a human culture. In the case of domestication of woody perennial plants, cultural criteria are linked to the process of intra-specific diversification of trees with cultivars for different purposes (e.g. in *Olea europaea* L. there exist approximately 1200 cultivars used for obtaining oil or olives, and in *Vitis vinifera* L. more than 5000 cultivars destined to wine, raisin or table grape production [10,11]). Markets and tourism are dynamic forces influencing the domestication process of trees, such as in the case of *Spondias tuberosa* Arruda in Brazil, in which fruit size is the main

feature considered for collection intended for marketing purposes while flavour is prioritized when fruits are destined to domestic consumption [12]. Therefore, the variety of uses is undoubtedly linked to human selection that allows the phenotypic and genetic differentiation of perennial plant populations under domestication.

Crescentia cujete L. (Bignoniaceae) is a tree species whose fruits were and currently are used by the Maya of the Yucatan Peninsula, Mexico, for preparing bowls commonly called *luch* in Maya and *jícaras* in Spanish. In that area, we previously studied the nomenclature of varieties recognized by local people, their frequency in wild and human-made environments, their management and genetic consequences of such management [13]. The Maya distinguish a wild variety called *uas* (güiro in Spanish) and three domesticated varieties, *luch* (jícara), *sac luch* (white jícara) and *yaax luch* (green jícara; Table 1), based on fruit size (domesticated varieties are larger than the wild one), roundness (domesticated fruits tend to be spherical while the wild variety produces elongated fruits) and pericarp thickness (domesticated varieties have a thicker pericarp; Figure 1). The wild variety is tolerated in some homegardens where it grows spontaneously while domesticated varieties are mainly clonally propagated in homegardens and a low proportion of trees are also cultivated through seed sowing (Table 1).

In contrast with most perennial plant species that have been domesticated for their edible fruits, *Crescentia cujete* is exclusively used for manufacturing bowls, being this and its sister species *C. alata* the only long-lived perennial plants whose fruits are used for manufacturing containers in the Americas [14,15]. Its fruit pulp is also commonly used in the Antilles and different regions of Mexico through Central and South America in the preparation of traditional remedies (usually in the form of a syrup) for treating respiratory ailments, internal abscesses and to expedite delivery [16-18]. In the Yucatan area, we observed

Table 1 *Crescentia cujete* varieties found in the study area, their characteristics and management

| Habitat | Variety | Main characteristics according to Maya people | Management |
|------------|------------------|---|--|
| Savanna | <i>uas</i> | Wild variety. Small, thin elongated fruits. | Spontaneous growth. Not harvested. Useful for shadow where the savanna is used as pastureland. |
| Homegarden | <i>uas</i> | Wild variety. Small, thin elongated fruits. | Spontaneous growth. Tolerated. Used occasionally for making bowls, mainly for shade or aesthetics, as well as a living fence and for its medicinal properties. |
| | <i>luch</i> | Domesticated variety. Round fruit, larger and thicker than wild variety. | Cultivated from cuttings, occasionally through seeds. Used mainly for making bowls, to a lesser extent for its medicinal properties. |
| | <i>sac luch</i> | Domesticated variety. Round fruit, light green when fresh, whitish aspect after being prepared, thinner pericarp. | Cultivated from cuttings. Used mainly for making bowls, sometimes for preparing remedies. |
| | <i>yaax luch</i> | Domesticated variety. "Not so round" fruit, dark green color when fresh, brownish aspect after preparation, thicker pericarp. | Cultivated from cuttings, occasionally through seeds. Used mainly for making bowls, but also for medicinal applications. |

Table adapted from [13].



Figure 1 Morphological variation in *Crescentia kujete* varieties from the study area. **A)** Fruits (three first columns, from left to right) of *sac luch*, *yaax luch* and *uas* varieties growing in homegardens, and (fourth column) of *uas* variety growing in putative wild populations, scale: 20 cm; **B)** Leaves (from left to right) of *uas* wild variety and two individuals of *yaax luch* domesticated variety, all three growing in the same homegarden in Pachuitz; **C)** Leaves of *uas* wild variety growing in the putative wild population near Chun Ek; ruler in **B** and **C**: 50 cm.

that its leaves are used for fever relief (directly applied to the forehead) and the fruit pulp is prepared for treating respiratory illnesses.

The making of containers from *C. kujete* fruits represents a unique opportunity to study the cultural aspects motivating human selection of fruit morphological characters in association with the phenotypic differentiation between wild and cultivated varieties.

The communities of the Yucatan Peninsula represent the lowland area of the Maya people. These communities have long been recognized as exceptional reservoirs of biodiversity grounded on a diverse array of agricultural, horticultural and forestry strategies deeply rooted in the Maya culture and enriched with numerous plant species from the Old World [19-24]. Homegardens from the communities of the Yucatan Peninsula harbour nearly 350 plant species (mainly trees and shrubs), averaging 100–150 plant species per community [23,25], as well as domestic animals such as pigs, poultry (chickens, turkeys, ducks, doves) and native bees [19]. The biological richness, productivity and economic role of the Yucatan Maya homegardens [26-28] make them one of the spaces where social relationships are forged and reproduced (the other one being the *milpa*, which is the slash-and-burn agricultural plot where maize, beans and squash are grown together [29]).

Among the pre-Hispanic evidence of the role of *Crescentia kujete* fruits among the lowland Maya, it can be mentioned the presence of ornamented bowls in Chichén Itzá (1200–800 BP; [30]) and the representation of the species in ancient Maya vases [31]. Historical sources that point out their importance include the *Popol Vuh* (ca. 1544 AD), a mythical account about the creation of the world and epic tales. One of them refers that the head of one of the protagonists, Hun-Hunahpú, is placed by the lords of the underworld in a sterile tree that gets immediately covered by round fruits; then they “perceive the greatness of the essence of that tree [i.e. *C. kujete*]” [32]. The species was also described in the *Relación de las Cosas de Yucatán* by bishop Diego de Landa in 1566 AD:

“There is a tree from whose fruit, which is like a round gourd, the Indians make their vessels, and they make them well painted and cute...”; also, “...from that [maize dough] they take a ball and dilute it in a glass made from the shell of a fruit that grows in a tree through which God provided them with glasses”. The Book of Chilam Balam of Chuyamel (ca. 1782), which includes religious and secular accounts, states the following sentence: “...‘My son, bring me your child, the one with the white-face, so I can see her, the one with the beautiful white head-dress’ (...) What he asks is the white *jícara* full of *saka'*, water-of-maize-without-lime” [33]. Popenoe [34] includes *C. kujete* in a checklist of plant species from the region of Copán, Honduras, that were most probably as useful to the ancient Maya as they currently are to their descendants.

The primary goal of our study is to articulate the current uses of bowls made from *Crescentia kujete* fruits, the selected morphological characteristics of fruits associated with these uses, and the consequences of this selection on the phenotypic characteristics of trees. For this purpose, we integrated ethnobotanical and morphometric data from the trees growing in homegardens and in putatively wild populations. We aimed at: 1) documenting the diversity of uses of bowls made from *C. kujete* fruits in Maya communities and recognize how their characteristics influence human selection over the phenotypic variation of the species; 2) evaluating the morphological differentiation between varieties in fruit and vegetative characters; and 3) assessing how the observed phenotypic differentiation of these varieties is congruent with the species’ local nomenclature and the use of its fruits.

We expected that i) bowls used in households would reflect the characteristics preferred by people, mainly roundness, large size and a thick pericarp; ii) morphological differentiation between varieties will be more evident in fruit than in vegetative characters, as fruits are the direct targets of human selection; and iii) the use of bowls will be associated to fruit characteristics that define the Maya classification of the four varieties of the species.

Methods

Study area

Our study was conducted in seven Maya communities located in the states of Campeche and Yucatan, Mexico, and two putative wild sympatric populations growing in open savannas associated to semi-evergreen tropical forest (Figure 2, Table 2).

Ethnobotanical survey

In total, we visited 47 homegardens and performed 40 semi-structured interviews [36]. From these, 22 interviews were responded by women (15 in Spanish, 7 in Maya with the help of our local guide as translator), 14 by men (10 in Spanish, 4 in Maya) and 4 by man and woman couples (in Spanish). In this study, Maya spelling follows Barrera-Vásquez [37]. Although *jícaras* are common items in the study area, *Crescentia cujete* trees are not present in all households' gardens, especially in Yaxcabá and Maní which are the most populated and urbanized villages among those surveyed (Table 2). Several authors [19,25,38-40] report this tree species as an element of the flora of lowland Maya homegardens at low frequency while other studies do not include it [41]. Distribution of the species in Maya homegardens is therefore variable among villages and among homegardens within a village (in our sample, mean number of trees per home = 1.7, mode = 1 tree). For the study, participants were selected using the snowball sampling method and by direct approach to the owners of homegardens where the tree species was identified. Our names and affiliations as well as the purpose of the study were introduced to people in order to obtain prior informed consent for conducting the interviews and for measuring trees and household bowls.

During the interviews we registered the daily and ceremonial uses of bowls described by the informants. We identified five main classes of uses as recipients: consumption of daily life beverages, other daily life uses (including scooping water for home activities and maize for feeding domestic animals), ceremonial offering of food and beverages for the Day of the Dead (November 1st and 2nd), ceremonial offering of *saka'* and *balche'* during agricultural and domestic rituals, and ceremonial uses during other festivities. In order to identify the salience of each class of use, we considered the classes mentioned in each interview and calculated the Sutrop index (S) for each one of them with the formula $S = F / (N \cdot mP)$, where F represents the frequency of the term (in this case, the class), N is the total number of respondents, and mP is the mean position in which the term is named [42]. Subsequently, we analyzed the items of the two most salient classes: consumption of daily life beverages and ceremonial offerings for the Day of the Dead; the Sutrop index (S) was then calculated for every food item in each of these subsets of data. Calculations were performed through FLAME v1.0 software [43]. The techniques for preparing bowls and practices involved in bowls' commercialization were also documented.

We requested access to the bowls present in interviewed people's homes for taking the following measurements: height (h), diameter (D), depth (de) and bowl thickness (or pericarp thickness, pt ; see Figure 3); h , D and de were measured in cm with a 50 cm scale with 1 mm precision, while pt was measured in mm with a 20 cm calliper with 0.02 mm precision. In order to estimate the shape of the bowl a roundness index was defined as $rd = (h/D)$, with values close to 1 in bowls with a round shape, values >1 if the shape corresponds to a

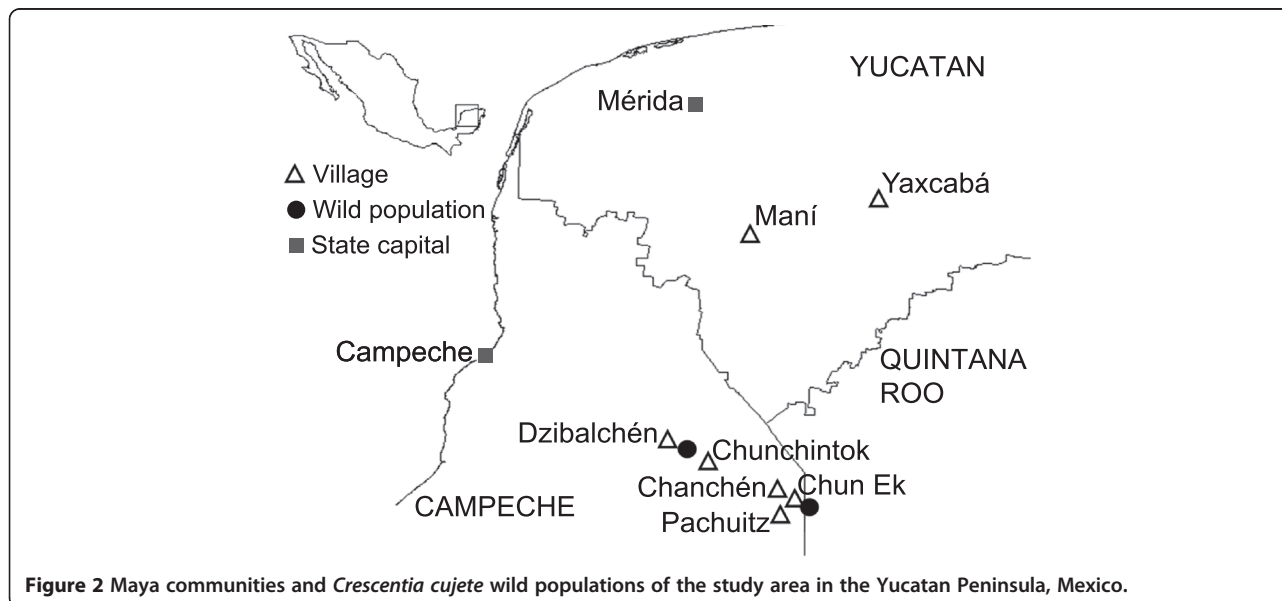


Figure 2 Maya communities and *Crescentia cujete* wild populations of the study area in the Yucatan Peninsula, Mexico.

Table 2 Characteristics of the surveyed villages

| Village | Inhabitants | # Households | % Maya speakers | # Homegardens (interviews) | Altitude masl | Coordinates | |
|-------------|-------------|--------------|-----------------|----------------------------|---------------|-------------|--------------|
| | | | | | | N | W |
| Yaxcabá | 3007 | 722 | 56 | 6 (6) | 30 | 20° 32' 53" | -88° 49' 38" |
| Maní | 4146 | 982 | 76 | 8 (10) | 20 | 20° 23' 11" | -89° 23' 25" |
| Dzibalchén | 2340 | 591 | 34 | 14 (7) | 170 | 19° 27' 36" | -89° 43' 42" |
| Chunchintok | 1086 | 256 | 78 | 1 (1) | 140 | 19° 21' 35" | -89° 34' 60" |
| Chun Ek | 158 | 22 | 78 | 7 (6) | 100 | 19° 11' 13" | -89° 11' 29" |
| Chan-Chen | 304 | 53 | 79 | 7 (6) | 120 | 19° 12' 32" | -89° 15' 41" |
| Pachuitz | 266 | 50 | 86 | 4 (4) | 140 | 19° 08' 52" | -89° 14' 56" |

Data from [35].

vertical ellipse and values <1 if it corresponds to a horizontal ellipse. Bowl volume (in litres, L) was calculated with the formula of ellipsoid bodies $V = [4/3\pi (h/2)(D/2)(de)/1000]/2$. These measurements were made in a total of 258 bowls from 30 of the households visited.

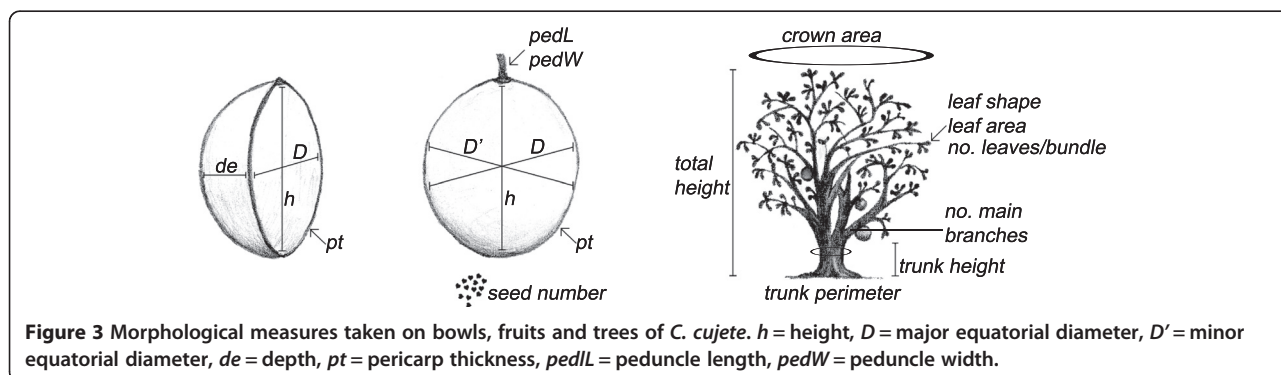
Means and standard deviations, as well as the coefficient of variation (CV), were calculated for each variable. We also compared bowl characteristics (*rd*, *V* and *pt*) with fruits collected in homegarden trees and in the putative wild populations.

Morphometric analyses

A total of 318 fruits were collected from 114 trees (179 fruits from 60 wild trees, 139 fruits from 54 trees growing in homegardens; mean number of fruits/tree = 2.8). We measured in the field the height of the fruit from the peduncle scar to the base (*h*), the major equatorial diameter (*D*) and the minor equatorial diameter (*D'*) in order to estimate the roundness of the fruit with the index $rd = (h/D)$. The volume of the fruit (*V*, in litres, L) was calculated with the formula of ellipsoid bodies volume $V = 4/3\pi(h/2)(D/2)(D'/2)/1000$. The thickness of the pericarp (*pt*) was measured in the major equatorial diameter and the length and width of the peduncle were also measured in mm using a 20 cm calliper with 0.02 mm precision (Figure 3). Seeds were extracted from one half of every fruit and directly counted. Mean fruit

morphology was calculated for every tree. Wild fruits were collected when mature (with a yellowish to brownish color). Fruits from homegardens were collected from the trees only if recognized as mature by the owners, but although the pericarp was lignified, seeds were not physiologically mature, which prevented us from including seed size (or seed weight) in our analysis.

We measured the following vegetative characters of trees: total height (in m), trunk height (from the ground to the main branching point, in cm), trunk perimeter (in cm, measured midway between the ground and the first main branch, as these trees ramify early), number of main branches departing from the trunk, crown area (in m², calculated as an ellipsoid from two crown diameters N-S and E-W) and mean number of leaves per bundle (from a random sample of 3–5 bundles per tree; see Figure 3). For evaluating leaf shape a random sample of 10 leaves per tree was collected from one branch facing to north, and their shape characterized with Elliptic Fourier Descriptors analysis (EFDs). This method analyzes the contour shape as a sum of waves or harmonics, each of them defined by four EFDs, which can be subject to multivariate analyses to summarize the morphological variation of the sample [44-47]. After being scanned at 150 dpi with a 3x3 cm reference, leaves' shape was characterized using the software Shape ver. 1.3 [48]. In order to define a good number of harmonics for our sample, we calculated the percentage



of pixels that differed between the original contour and the digital contour based on 1 to 20 harmonics; we found that seven harmonics allowed for the reconstruction of 97% of the original contour (data not shown). We calculated the mean leaf shape for every tree and performed a centered non-scaled principal component analysis (PCA) to obtain two scores of leaf shape based on the first and second principal components. Differences in leaf shape between varieties were evaluated through ANOVA of PCA scores (in R version 2.15.1, available online from the R Foundation for Statistical Computing). Mean leaf area was also calculated for each tree. Vegetative characters were analyzed in a total of 136 trees (59 wild, 77 from homegardens).

In order to describe the characteristics of each variety, we calculated the mean and standard deviation as well as the coefficient of variation (CV) for fruit and vegetative characters; differences between varieties were evaluated with non-parametric Wilcoxon's sum rank test with a Bonferroni correction for multiple comparisons.

In order to identify those characters with higher capacity of separating varieties, a linear discriminant analysis (LDA) was applied to fruit and vegetative characters based on five groups: *uas* wild variety growing in the flooded savanna (*uasS*), *uas* wild variety growing in homegarden (*uasH*), *luch* domesticated variety, *sac luch* domesticated variety and *yaax luch* domesticated variety (Table 1). The statistical significance of group separation was evaluated by Wilk's lambda (λ). LDA was performed through IBM SPSS v.19.0.0°. All statistical tests considered a significance threshold of $\alpha = 0.05$.

Results and discussion

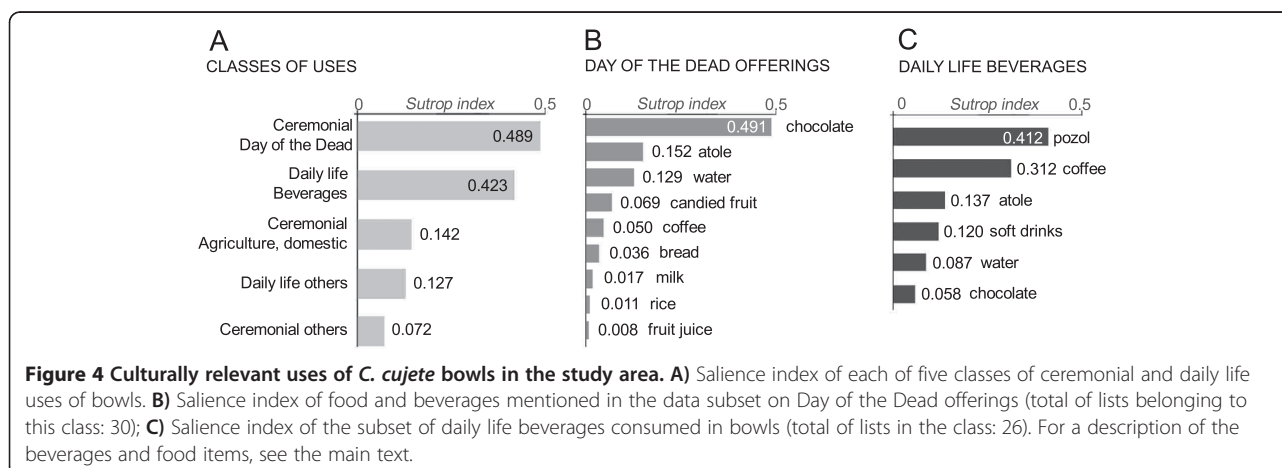
Current uses of *Crescentia kujete* bowls in lowland Maya culture

Among the different classes of uses of bowls, ceremonial uses had a total frequency of 56 mentions, while uses of daily life were mentioned 35 times in total. Ceremonial

offerings for the Day of the Dead and consumption of daily life beverages were the two classes with the highest salience index ($S = 0.489$ and 0.423 , respectively), followed by agricultural and domestic offerings, other daily life uses and festivities (Figure 4A).

In the case of ceremonial offering of food and beverages during the Day of the Dead, chocolate was the item with the highest salience ($S = 0.491$) followed by *atole*, water and candied fruit (papaya *Carica papaya* L. or ciruela *Spondias purpurea* L.); other items such as coffee, bread, milk, rice and fruit juice were mentioned with less frequency or in lower ranks (Figure 4B). Interestingly, 20% of interviewees specified that they used bowls of different size according to the motive of the offering: small bowls are used when it is dedicated to children (November 1st) and big bowls when it is to adults that have passed away (November 2nd). Additionally, 42.5% of the interviewees said that for these offerings bowls must be new or exclusively used for this purpose (i.e. stored apart from others).

As for agricultural rites, 8 interviewees made explicit reference to the *ch'a chaak* ceremony (rain petition) where *saka'* and *balche'* are served in *jicara*. *Saka'* is a beverage made from maize cooked in plain water, sometimes sweetened with honey [37], while *balche'* is a fermented beverage made from the bark of *Lonchocarpus* spp. soaked in water with honey [49]. Additionally, 8 interviewees mentioned the offering of *saka'* during *hanli kol*, *wahi kol* or *primicia* (first-fruit ceremony), when burning the bush for establishing the *milpa* or for protecting it. Four interviewees mentioned that *saka'* is prepared in a big bowl and then distributed in smaller bowls. Offering of *saka'* in the domestic setting is oriented to appease the evil winds that cause illnesses in children and backyard animals. Other festivities mentioned by the interviewees were children school parades when *jicaras* are hit with one another for making a rhythmical sound, and a dance known as *Danza de la Cabeza de*



Cochino (“Dance of the Pig’s Head”) by which the vow to a saint is renewed [50] and when *jícaras* are used as rattles.

Among daily beverages consumed in *jícara*, the most salient was *pozol* ($S = 0.412$), which is a mixture of water and dough made with maize cooked with lime (also known as *nixtamal*), mainly consumed by men during their work in the field. The second most salient beverage was coffee, followed by *atole* (corn-meal gruel), soft drinks, water and chocolate (Figure 4C).

When asked about the preparation technique for making bowls from *Crescentia cujete* fruits, 78% of men and 85% of women interviewed described a similar technique (Figure 5). Nine (9) interviewees agreed that both can equally prepare the bowls, although 11 interviewees specified differential gender tasks: men take the fruits from the tree and cut them in half, whereas women clean them.

A total of 17 interviewees (42.5%) said that they commercialize bowls, 4 of them specifying that selling was for the Day of the Dead offerings. Prices differed according to the informant, but in all cases they were associated to bowl size: from ¢50 to \$3 Mexican pesos (USD ¢4 to ¢23) one small bowl, \$1.5 to \$5 (USD ¢12 to ¢38) a medium-sized one, and \$5 to \$10 (USD ¢38 to ¢77) the big ones. Fresh fruits may also be commercialized, but only 3 people interviewed (7.5%) said to have sold them to people who know how to prepare bowls (\$3 Mexican pesos each, USD ¢23). Additionally, 4 interviewees (10%) said to have practiced *medianía*: they receive fresh fruits from someone owning a tree, they prepare the bowls and return to the owner one half of them, keeping the other half. One interviewee, who owns two trees, prepared 120 bowls before the Day of the Dead, working together with 3 members of his family during 4 days; if sold at a standard price, this activity may represent a total income of 28 to 46 USD (the equivalent of 6 to 10 days of work with the minimum salary). Individuals who practice *medianía*,

those who have two or more trees in their homegardens, and those who commonly sell bowls at this date are generally known by the community members to be specialized in bowl’s preparation and commercialization.

Our results show that in the study area, *Crescentia cujete* bowls are used for a wide range of purposes linked to the life and culture of the Maya people from the Yucatan Peninsula, from everyday life uses to specialized practices associated to religious and agricultural rituals, despite the availability of plastic and glass containers. Daily consumption of *pozol* in *jícara*, in the same way as five centuries ago (recorded by bishop Diego de Landa cited in the Background section), shows the relevance of these bowls in the traditional way of life of these communities. At the same time, the presence of coffee and soft drinks supports the flexibility of such uses; it is also the case in ritual occasions, given that coffee and bread have been added to the list of foods consumed at contemporary Maya sacramental meals (Figure 4B; [51]).

The religious ritual of offering food and drinks to the souls of those who have passed away is undoubtedly one of the most important incentives for continuing the use of these natural bowls and, therefore, for the conservation of the species in homegardens, especially because there exists an economic dynamic linked to it. The idea of using bowls that are new or set apart, as it is the case for other objects of the offerings, expresses respect for “that which is holy, that which is effective in dealing with the gods” [52]. Chocolate is also strongly associated to their culture: archaeological and documentary evidence shows that the Maya have a long, continuous history of consuming liquid chocolate since the Preclassic period (600 BC, [53]) mainly in ceremonies of religious and political significance [51,54]. The consumption of *atole* was also common during feasting events [51].

Bowls occupy a central role as containers during agricultural ceremonies for the offering of *saka’* and *balche’*.



Figure 5 Preparation technique of *jícaras* or bowls made from *C. cujete* fruits. Fruits are collected when mature; at this stage, fruit’s colour turns from deep green to pale green or yellow-green; the fruit loses its shiny aspect and if pinched with a fingernail, no mark remains in its surface (this can be interpreted as the pericarp being already lignified; if the fruit is immature, bowls are too soft and get deformed when drying). After cutting the peduncle as short as possible, the two halves are defined in the fruit’s surface with the help of a knife’s point and a thread that surrounds the fruit vertically (always from the scar of the peduncle through the base of the fruit). The fruit is then cut with a fine-toothed saw following the line mark. Pulp is extracted and thrown away (A). The halves are boiled in water with lime from 5 to 20 minutes, until the remaining pulp attached to the pericarp is soft (too much time in the water will propitiate an oxidation of the pulp, which would leave a black, undesirable stain in the bowl) (B). The pulp is immediately scrapped off with a spoon or an easy-open can end (C). Bowls are then washed with clean water and let drying upside-down for a couple of days outdoors.

These are beverages used exclusively for ritual purposes (for additional details see [51,52,55-58]) but, in contrast to the Day of the Dead offerings that occur in the domestic setting and involve the active participation of women, agricultural ceremonies occur in the *milpa*, which is a space commonly associated to men and located at the edge of the village or within nearby forest areas [55]. The belief in forest spirits (*aluxes, dueños del monte, señores del monte*) is widespread in these communities and the rituals observed to appease and thank them (such as *wahi kol* or *hanli kol*) are essential for assuring a good harvest [29]; rituals are also necessary to renew the divine permission for hunting [58].

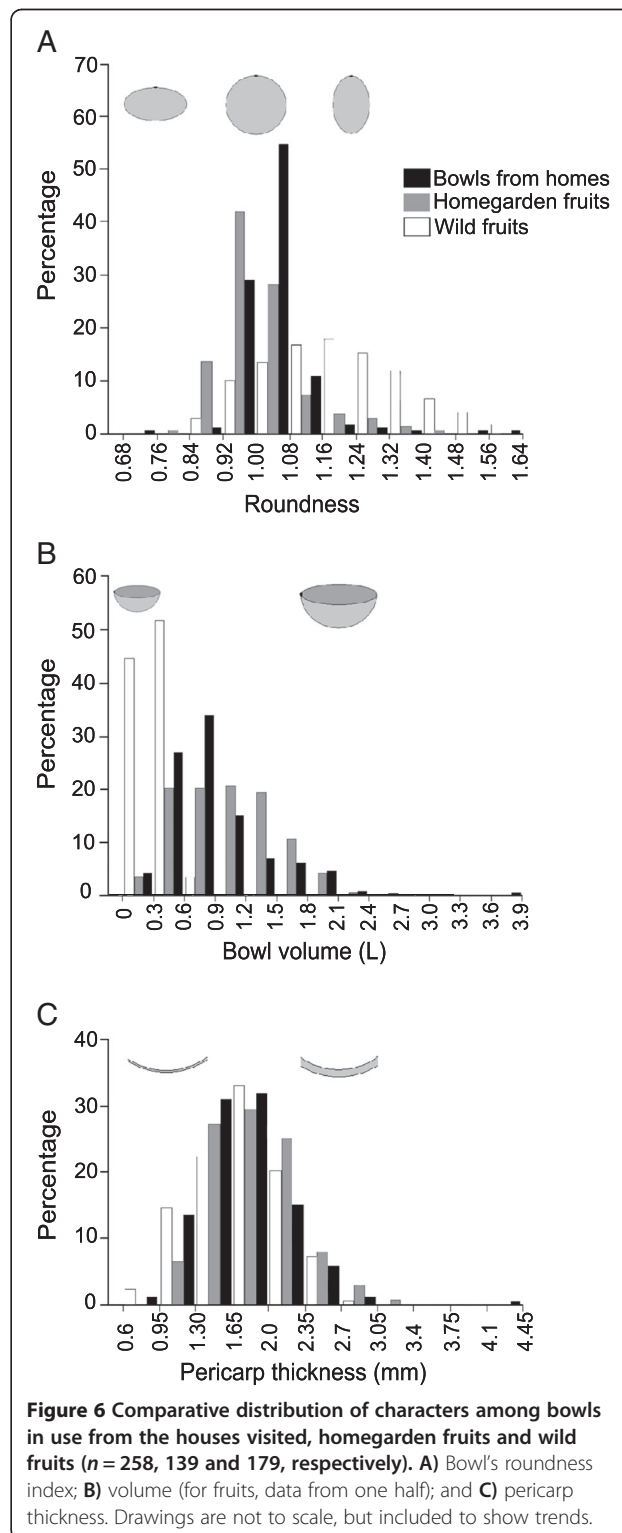
The making and using of these natural containers is also closely linked to the maintenance of social relationships through daily and ritual situations among the Kari'na and Mayana people of Surinam, who use them for drinking *kasiri*, a fermented beverage made from cassava, and among the Maroons from that same region, who use *C. kujete* bowls for ritual bathing, preferring them over plastic cups [59].

Our findings show that there has been a continuous link between *jicaras* and traditional beverages from pre-Hispanic times to our days. In consequence, *C. kujete* has been managed and its fruits constantly selected by the Maya people for centuries. As long-lived perennials have long generation times and high outcrossing rates [60-63], they require a constant selection pressure that spans many human generations to achieve noticeable results. In the case of species whose fruits are edible, human selection has been mainly directed to obtain larger fruits with less toxic compounds and defensive structures [64], an expected pattern associated to their use as food, with emphasis on particular fruit characteristics depending on their final purpose. However, the role of tradition is outstanding in the case of *C. kujete* because its non-edible fruits cannot be expected to evolve in the same direction as edible species. In the case studied, it is the cultural relevance of its specific uses that has allowed for the constant selection pressure behind its domestication as we discuss in the section below, a pattern that seems to hold in other areas of the species distribution.

Bowl uses and selection over the phenotypic variation of the species

Bowls measured in homes had a mean roundness index close to a nearly-perfect half-sphere (mean \pm sd $rd = 1.033 \pm 0.077$); this was the less variable feature (CV = 7.4%) and the one with the higher degree of shift in relation not only to wild savanna fruits, which are more elongated ($rd = 1.201 \pm 0.15$), but also in relation to homegarden fruits ($rd = 1.007 \pm 0.103$; Figure 6A). Their volume distribution ($V = 0.866 \pm 0.497$ L) is less shifted than roundness

in relation to the available phenotypic variation of the species and presents a higher degree of variation (CV = 57.3%), but 61% of them are between 300 and 900 ml (Figure 6B). The thickness of their pericarp ($pt = 1.73 \text{ mm} \pm 0.431$) shows a smaller degree of variability



than volume (CV = 24.9%), but its distribution is very similar to the one shown by homegarden fruits (Figure 6C).

The marked preference for round shapes in household bowls agrees with our initial hypothesis, but it is worth noticing that the shift among the three categories of samples (bowls from households, homegarden fruits and wild fruits) shows that two steps are involved in this process of human selection: the first one occurs when homegarden trees are preferred over wild trees and a second one when a subsample of homegarden fruits is processed into bowls. However, as *C. cujete* propagation is mainly based on tree cuttings and not on seeds from particular fruits (Table 1), it is the first step that has the major impact in artificial selection and the phenotypic differentiation of wild and domesticated populations. Our hypothesis also considered that selection of bowls would be focused on larger sizes, but their use for consuming beverages limits this trend, as consumption of any drink is commonly less than 1 L. Scarcity of large bowls in some homes could also be related to the fact that they have a higher price in the local market. Yet, it is important to notice that interviewees said that selling was mainly associated to the Day of the Dead offerings and, as we mentioned, the ritual use of the bowls favours a variety of sizes, including small and medium-sized bowls.

When we asked to people which variety the bowl belonged to, only 12 informants gave a specific answer; the rest of the sample was therefore assigned to the category “variety not determined”. From all the bowls surveyed, 12.8% were identified by our interviewees as *yaax luch* variety, 7.8% as *sac luch* variety, 2.7% as *luch* variety, 1.6% as *uas* variety, while 75.2% were from a non-determined variety. However, based on their shape and size, these non-identified bowls were most probably obtained from domesticated trees but not wild trees (Figure 6). Indeed, the *uas* wild trees from the savanna are not harvested while the *uas* wild trees are tolerated in homegardens and harvested although at low frequency (Table 1) and, given that they represent less than 30% of the trees found in the homegardens surveyed, they certainly provide a small proportion of the bowls used in the households.

Morphological differentiation of local varieties

Leaf shape variation identified by PCA of elliptic Fourier descriptors (Figure 7) shows that PC1 was associated to leaf's width, as leaves from wild trees were oblanceolate while those from homegarden trees were obovate (see also Figure 1); PC2 reflected leaf's base from cuneate to attenuate shapes. The ANOVA of the scores between varieties revealed significant differences in the first principal component ($F_{4,31} = 31.35, p < 0.001$) but not in the second one ($F_{4,31} = 1.11, p = 0.35$).

As described in Table 3, *uas* wild trees from savanna populations had small fruits, with elongated shapes, thin

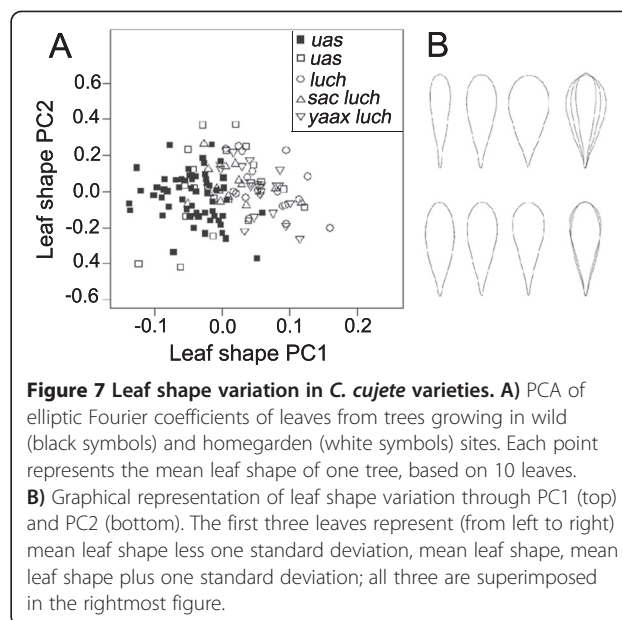


Figure 7 Leaf shape variation in *C. cujete* varieties. **A**) PCA of elliptic Fourier coefficients of leaves from trees growing in wild (black symbols) and homegarden (white symbols) sites. Each point represents the mean leaf shape of one tree, based on 10 leaves. **B**) Graphical representation of leaf shape variation through PC1 (top) and PC2 (bottom). The first three leaves represent (from left to right) mean leaf shape less one standard deviation, mean leaf shape, mean leaf shape plus one standard deviation; all three are superimposed in the rightmost figure.

pericarp, long and narrow peduncles and abundant seeds. They were the largest among the varieties measured and their leaves were small, with narrow and elongated shape (Figure 7). Among the varieties found in homegardens, trees identified as *uas* (i.e. wild) produced fruits with significantly shorter and wider peduncles and fewer seeds than *uas* wild trees from the savanna, but their volume, shape and pericarp thickness was not significantly different from them (Table 3).

As shown in Table 4, trees of domesticated varieties found in homegardens were generally shorter, thinner, with lower trunks, smaller crown areas and less leaves per bundle, although they were not significantly different from the wild variety growing in homegardens. Yet, they had lower total tree heights and smaller crown areas ($W = 489.5, p < 0.001$; $W = 683, p < 0.001$, respectively) than wild trees from the savanna. All domesticated varieties were characterized by a larger leaf area and a more rounded leaf shape, significantly different from *uas* wild trees growing in homegardens (Table 4; see Figure 1B); fruit morphology was not significantly different among them in any of the variables analyzed but when compared to the wild variety (*uas*) growing in homegardens, their fruits had significantly larger volumes, rounder shapes, shorter and wider peduncles (Table 3).

The first discriminant function of the LDA based on fruit characters accounted for 97.9% of the total variance and was significant (Wilk's $\lambda = 0.076, p < 0.001$) showing a clear differentiation of wild and domesticated groups; the second discriminant function related to the discrimination among domesticated varieties accounted for an

Table 3 Fruit characters of each variety from wild and homegarden trees

| Habitat | Savanna | | Homegarden | | | |
|-------------------------|---------|-------------------------------------|---------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|---------------------------------------|
| | Variety | <i>uas</i> (wild) | <i>uas</i> (wild) | <i>luch</i> (domesticated) | <i>yaax luch</i> (domesticated) | <i>sac luch</i> (domesticated) |
| No. of trees | | 60 | 11 | 9 | 16 | 18 |
| No. of fruits | | 179 | 27 | 24 | 39 | 49 |
| Fruit volume (L) | | 0.664 ± 0.207 ^a 31.2% | 1.006 ± 0.469 ^{a,A} 46.6% | 2.184 ± 0.733 ^B 33.6% | 2.155 ± 0.840 ^B 39.0% | 2.267 ± 0.795 ^B 35.1% |
| Roundness | | 1.201 ± 0.150 ^a 12.5% | 1.132 ± 0.118 ^{a,A} 10.4% | 0.979 ± 0.038 ^B 3.9% | 1.000 ± 0.058 ^B 5.8% | 0.960 ± 0.041 ^B 4.25% |
| Pericarp thickness (mm) | | 1.75 ± 0.38 ^a 21.8% | 1.65 ± 0.28 ^{a,A} 16.7% | 2.04 ± 0.48 ^{A,B} 23.3% | 2.00 ± 0.22 ^B 10.9% | 1.761 ± 0.292 ^{A,B} 16.6% |
| Peduncle length (mm) | | 43.10 ± 7.45 ^a 17.3% | 29.11 ± 9.63 ^{b,A} 33.1% | 16.45 ± 4.75 ^B 28.9% | 15.38 ± 3.71 ^B 24.1% | 15.796 ± 3.189 ^B 20.2% |
| Peduncle width (mm) | | 6.09 ± 0.96 ^a 15.8% | 7.05 ± 0.76 ^{b,A} 10.7% | 9.25 ± 1.40 ^B 15.2% | 9.31 ± 1.15 ^B 12.4% | 9.217 ± 1.008 ^B 10.9% |
| Seed number | | 571.2 ± 215.6 ^a 37.8% | 342.1 ± 120.7 ^{b,A} 35.3% | 398.6 ± 109.6 ^A 27.5% | 480.5 ± 153.9 ^A 32.0% | 448.78 ± 174.15 ^A 38.8% |

Means ± sd are shown in each line above, and the CV below. ^{a,b}: statistical difference for each character according to Wilcoxon's sum rank test between *uas* from savanna and *uas* from homegarden; absence of significant difference is shown with the same lowercase letter. ^{A,B}: statistical difference for each character among varieties growing in homegardens; absence of significant difference is shown with the same uppercase letter. For all tests alpha = 0.007 according to a Bonferroni correction.

Table 4 Vegetative characters of each variety from wild and homegarden trees

| Habitat | Savanna | | Homegarden | | | |
|------------------------------|---------|-------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|
| | Variety | <i>uas</i> (wild) | <i>uas</i> (wild) | <i>luch</i> (domesticated) | <i>yaax luch</i> (domesticated) | <i>sac luch</i> (domesticated) |
| No. of trees | | 59 | 22 | 18 | 22 | 15 |
| Tree height (m) | | 5.51 ± 1.49 ^a 27.0% | 5.02 ± 2.37 ^{a,A} 47.2% | 2.78 ± 0.96 ^B 34.5% | 3.80 ± 1.19 ^{A,B} 31.3% | 4.04 ± 1.24 ^{A,B} 30.7% |
| Trunk height (m) | | 0.59 ± 0.46 ^a 77.9% | 0.89 ± 0.55 ^{a,A} 61.8% | 0.62 ± 0.44 ^A 71.0% | 0.45 ± 0.38 ^A 84.4% | 0.46 ± 0.41 ^A 89.1% |
| Trunk perimeter (m) | | 1.07 ± 0.38 ^a 35.5% | 0.73 ± 0.53 ^{b,A} 72.6% | 0.49 ± 0.18 ^A 36.7% | 0.63 ± 0.28 ^A 44.4% | 0.57 ± 0.20 ^A 35.1% |
| Crown area (m ²) | | 36.37 ± 19.71 ^a 54.2% | 26.23 ± 24.98 ^{a,A} 95.2% | 10.70 ± 8.12 ^A 75.9% | 23.36 ± 11.91 ^A 50.9% | 18.52 ± 11.24 ^A 60.7% |
| No. main branches | | 2.78 ± 0.93 ^a 33.5% | 2.32 ± 0.57 ^{a,A} 24.6% | 2.22 ± 0.65 ^A 29.3% | 2.36 ± 0.66 ^A 28.0% | 2.27 ± 0.46 ^A 20.3% |
| No. leaves/bundle | | 6.25 ± 1.60 ^a 25.6% | 5.45 ± 2.19 ^{a,A} 40.1% | 4.20 ± 1.39 ^A 33.1% | 4.42 ± 1.97 ^A 44.6% | 4.33 ± 2.15 ^A 49.6% |
| Leaf area (cm ²) | | 9.38 ± 2.70 ^a 28.8% | 18.04 ± 12.35 ^{b,A} 68.5% | 24.85 ± 15.94 ^{A,B} 64.1% | 31.09 ± 15.30 ^B 49.2% | 30.05 ± 8.55 ^B 28.5% |
| Leaf shape PC1 | | -0.041 ± 0.041 ^a | -0.001 ± 0.057 ^{b,A} | 0.063 ± 0.043 ^B | 0.052 ± 0.035 ^B | 0.012 ± 0.042 ^A |
| Leaf shape PC2 | | -0.003 ± 0.013 ^a | 0.002 ± 0.021 ^{a,A} | 0.002 ± 0.014 ^A | 0.001 ± 0.013 ^A | 0.003 ± 0.009 ^A |

Means ± sd are shown in each line above, and the CV below. ^{a,b}: statistical difference for each character according to Wilcoxon's sum rank test between *uas* from savanna and *uas* from homegarden; absence of significant difference is shown with the same lowercase letter. ^{A,B}: statistical difference for each character among varieties growing in homegardens; absence of significant difference is shown with the same uppercase letter. For all tests alpha = 0.007 according to a Bonferroni correction.

additional 1.4% of the variance and was not significant (Wilk's $\lambda = 0.818$, $p = 0.119$). When considering vegetative characters, differentiation of groups by the first discriminant function accounted for 88.3% of the total variance and was statistically significant (Wilk's $\lambda = 0.210$, $p < 0.001$); the second discriminant function was statistically significant but accounted for only 5.8% of the total variance (Wilk's $\lambda = 0.734$, $p < 0.05$) (Figure 8).

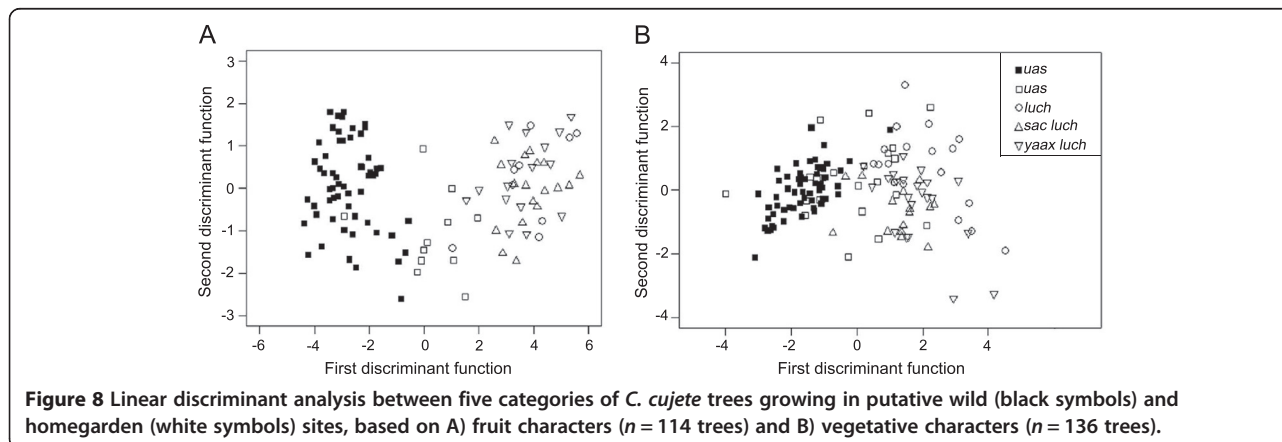
According to the LDA, the most important fruit character for discriminating groups was peduncle length, followed by (in decreasing order) fruit volume, seed number, peduncle width, pericarp thickness and roundness. When considering vegetative characters, the most important variables were leaf shape (PC1 score), followed by leaf area, total height, trunk perimeter, leaf shape (PC2 score), number of main branches, number of leaves per bundle, trunk height and crown area. The weight of peduncle length in the LDA was unexpected, but there exists a strong correlation between larger fruits and shorter and wider peduncles, as these allow the fruit to remain attached to the branch despite being heavier (fruits with $V = 4.3$ L can weight 3200 grs; see Figure 1A) (Spearman's correlation between weight and peduncle length $\rho = -0.510$, $p < 0.001$).

Our results show a pattern that can be observed for both fruit and vegetative characters: the first discriminant functions differentiate fundamentally wild trees from the savanna from trees growing in homegardens; domesticated varieties are not well differentiated from each other; and *uas* wild trees growing in homegardens occupy an intermediate position between *uas* wild trees from the savanna and the three domesticated varieties from homegardens (Figure 8).

As expected, we found a clear distinction of wild and domesticated varieties of *Crescentia cujete* based on fruit characters, but group separation based on vegetative characters was also statistically significant with leaf shape as the variable with highest weight for classifying such a distinction. Given that Maya local nomenclature

is not based on leaf shape recognition and leaves should not be directly influenced by the selection on fruits, we consider this differentiation to be a secondary effect of the differential genetic identity of wild and domesticated varieties. Aguirre-Dugua et al. [13] documented that *uas* wild trees from savanna and homegardens harbour cpDNA haplotypes genetically distant from the cpDNA haplotype displayed by the domesticated varieties. This pattern of genetic identity suggests the presence of seed-mediated gene flow from wild populations into the homegardens and, in some cases, the pollination of domesticated trees by wild pollen. In consequence, we consider that the vegetative differences between trees growing in the savanna and in homegardens, and the intermediate position of *uas* wild trees tolerated in homegardens, reflect the genetic structure of the local populations of *Crescentia cujete*. Whether this association between leaf morphology and varieties is common in *C. cujete* is unclear. Arango-Ulloa et al. [65] report a diversity of leaf shapes in *C. cujete* trees from Colombia (lanceolate, oblong, spatulate, oblanceolate, obovate and elliptic), but they do not specify if they are associated to particular fruit morphologies (they report eight different fruit shapes) or local varieties.

Finally, we found domesticated varieties having smaller tree sizes (Table 4), this could be associated to their younger age (communities such as Chun Ek, Chanchén and Pachuitz being founded only five decades ago), to a different genetic composition, as previously mentioned, but it could also be due to management processes. Aguirre-Dugua et al. [13] documented that the majority of domesticated trees growing in homegardens were planted from clonal cuttings, and 6 people interviewed (15%) said that these must be planted horizontally, in such a way that the different branches develop from the ground, instead of having one trunk with a tendency of vertical growth. This practice would therefore favour a low-standing tree, which represents a selection trend common to other tree species



under domestication [64] related to an easier harvest and independent of selection on fruit size.

Differentiation of varieties and bowl uses

Given that our morphological analysis did not differentiate domesticated varieties among themselves, it is possible that fruit characters important for the Maya nomenclature of domesticated varieties were not well represented by our morphometric data, since external colour was not included in our analysis and the roundness index could not be the most appropriate. As long as qualitative variables are important for the local nomenclature of a species, the statistical analysis of morphological characters for differentiating local varieties of perennial plants remains a challenge [66-68]. Nevertheless, we previously reported [13] that both specific varieties (*sac luch* and *yaax luch*) are equally valued by the Maya people. We noted that most people interviewed did not identify clearly the varieties of bowls used in homes, which contrasts with the clear naming of the tree's variety identity. This fact appears to reflect that the domesticated group is real whereas the differentiation of domesticated varieties is unclear after fruits have been processed into bowls. Moreover, the same variety can produce fruits of different sizes (Figure 1), which are then used in the different daily and ritual contexts previously described.

The weak association between varieties and particular uses could be related to two aspects: the unavailability of a larger morphological diversity of *C. kujete* in the area, which would represent a limiting factor external to the selection process, and the direction of human selection guided by cultural preferences, which is an internal factor. While only round fruits were identified in the homegarden trees from the study area, additional fruit morphologies of *C. kujete* are known from other regions in Mexico (e.g. elongated fruits in the states of Oaxaca and Chiapas used as spoons, pers. obs.), Colombia [65] and Surinam [59]. In this last country, Meulenbergh [59] reported that the Maroon people distinguish up to 7 cultivars of this species, giving a name to each one that indicates its specific purpose (bowl, spoon, musical instrument, etc.), and indigenous people from the Kari'na tribe recognize and use as well 3 cultivars distinguished by their particular fruit morphology and use. When compared with other areas, the morphological diversity of *C. kujete* found in the lowland Maya area is limited. However, our study shows that the cultural preferences of the Maya favour round shapes from *luch*, *sac luch* and *yaax luch* varieties despite the availability of wild *uas* elongated fruits.

Introgression from wild relatives has been an important source of genetic enrichment and diversification of cultivated pools in perennial plants such as apple [69], avocado [70], grape [71] and olive [72], but for gene flow

to be evolutionary relevant for domestication, the resulting seedlings have to be selected by humans. In our study case, evidence of gene flow between homegarden and wild trees include the presence of tolerated wild *uas* trees in the homegardens with intermediate vegetative and fruit phenotypes, and the presence of wild haplotypes in such individuals [13], but these trees are not favoured by the Maya. On the contrary, wild elongated fruits (which could be appreciated by the people from Surinam who have such a variety in their villages, for example) are consistently being discarded. Our results therefore suggest that the limited diversity of fruit morphology available in the study area is being reinforced by stabilizing selection toward rounder fruits, preventing the diversification of the cultivated pool and keeping all domesticated varieties as part of one single large group.

Conclusions

Bowls made from *Crescentia kujete* fruits are used for a wide range of purposes linked to the daily and ritual life of the Maya people from the Yucatan Peninsula, and preferences associated to these uses are linked to human selection among one wild and three domesticated varieties of the species. *Jicaras* are mostly used as containers for traditional beverages such as chocolate and maize-based *pozol*, a long-standing association that dates back to pre-Hispanic times and that has allowed for the transgenerational human management of this long-lived tree species and the selection of its non-edible fruits. Men and women are both related to these containers, but in different spaces and ceremonies: men in agricultural and hunting rituals, women in domestic offerings and daily life. Bowl roundness is the most strongly selected character, whereas volume is important only in some cases, and such selection occurs in two stages: by favouring domesticated varieties with rounder and larger fruits in the homegardens, and then by choosing the best fruits from homegarden trees. Bowl uses were linked to fruit characteristics that define the differentiation of wild *versus* domesticated varieties. However, we did not find significant morphological differences among the three domesticated varieties nor a pattern of selection of different purpose cultivars; rather domesticated varieties form a large group where rounder bowls are selected from and where different fruit sizes meet different roles. This result is associated to a limited morphological diversity available at the local level but also to the strong inclination of the Maya for round fruits. Such preference exerts a stabilizing selection over the available phenotypic diversity of the species and prevents the diversification of the cultivated pool through introgression from wild trees, which produce elongated fruits, otherwise appreciated and used by other peoples in different areas of the species distribution. When compared to other

domesticated long-lived perennial plants, domesticated *C. kujete* shows a pattern of larger fruit sizes and a moderate dwarfism that facilitates harvest.

As a whole, the domestication of *Crescentia kujete* and its cultural dimension are recently becoming explored, but the presence of this species among different peoples and geographical regions offers a promising possibility of developing comparative studies. Together with previous and current studies developed on the bottle-gourd *Lagenaria siceraria* (Molina) Standl. [73-75], the study of non-edible fruits will undoubtedly broaden our understanding of plant domestication through its natural and cultural components.

Competing interests

The authors declare that they have no competing interests.

Authors' contributions

XA-D designed the research on *Crescentia kujete*, carried out field work, analysis and interpretation of data, and wrote the manuscript. EP-N conducted field work and data collecting. AC coordinator-supervisor of the main research project on plant domestication in Mesoamerica, participated in the conception of the study, and made substantial contributions to the manuscript. All authors read and approved the final manuscript.

Authors' information

XA-D PhD student of the Posgrado en Ciencias Biomédicas at the Centro de Investigaciones en Ecosistemas (CIEco), UNAM. EPN full time academic technician at CIEco. AC full time researcher at CIEco, UNAM.

Acknowledgements

We thank the Maya people for their participation in interviews and sharing their knowledge. The authors thank Israel Noh and Lisandro Cocom for their help during the interviews and data collecting. The Escuela de Agricultura Ecológica U Yits Ka'an in Maní, Marcela Morales and Héctor León kindly facilitated fieldwork. We also thank Fernando Ortiz for his valuable help during collection trips and Karla A. García Martínez, Luz Elena García Martínez, Martín de Jesús Cervantes López and Lorena Téllez García for their assistance on fruit processing and seed counting. X. Aguirre-Dugua received a PhD scholarship from Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (Conacyt, no. 268674) at Posgrado de Ciencias Biomédicas (UNAM). The Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIT IN219608) and CONACYT (CB-2008-01- 103551) provided financial support to the research project. Three anonymous reviewers provided useful comments and suggestions.

Received: 9 July 2013 Accepted: 29 October 2013

Published: 14 November 2013

References

- Ladizinski G: *Plant Evolution under Domestication*. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers; 1998.
- Purugganan MD, Fuller DQ: **The nature of selection during plant domestication**. *Nature* 2009, **457**:843-848.
- Brown AHD: **Variation under domestication in plants: 1859 and today**. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 2010, **365**:2523-2530.
- Guillén S, Terrazas T, de la Barrera E, Casas A: **Germination differentiation patterns of wild and domesticated columnar cacti in a gradient of artificial selection intensity**. *Gen Res Crop Evol* 2011, **58**:409-423.
- Parker IM, López I, Petersen JJ, Anaya N, Cubilla-Rios L, Potter D: **Domestication syndrome in caimito (*Chrysophyllum cainito* L.): fruit and seed characteristics**. *Econ Bot* 2010, **64**:161-175.
- Blancas J, Casas A, Rangel-Landa S, Moreno-Calles A, Torres I, Pérez-Negrón E, Solís L, Delgado-Lemus A, Parra F, Arellanes Y, Caballero J, Cortés L, Lira R, Dávila P: **Plant management in the Tehuacán Valley, Mexico**. *Econ Bot* 2010, **64**:287-302.
- Casas A, Vázquez ME, Viveros JL, Caballero J: **Plant management among the Nahua and the Mixtec from the Balsas River Basin: and ethnobotanical approach to the study of plant domestication**. *Hum Ecol* 1996, **24**:455-478.
- de Freitas Lins Neto EM, Peroni N, Maranhão CM, Maciel MI, de Albuquerque UP: **Analysis of umbu (*Spondias tuberosa* Arruda (Anacardiaceae)) in different landscape management regimes**. *Environ Monit Assess* 2012, **184**:4489-4499.
- Smith BD: **General patterns of niche construction and the management of 'wild' plant and animal resources by small-scale pre-industrial societies**. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 2011, **366**:836-848.
- Bartolini G, Prevost G, Messeri C, Carignani G: *Olive Germplasm: Cultivars and Word-Wide Collections*. <http://apps3.fao.org/views/olive/oliv.jsp>.
- Franks T, Botta R, Thomas MR: **Chimerism in grapevines: implications for cultivar identity, ancestry and genetic improvement**. *Theor Appl Genet* 2002, **104**:192-199.
- de Freitas Lins Neto EM, Ferreira De Oliveria I, Britto FB, de Albuquerque UP: **Traditional knowledge, genetic and morphological diversity in populations of *Spondias tuberosa* Arruda (Anacardiaceae)**. *Gen Res Crop Evol* 2013, **60**:1389-1406.
- Aguirre-Dugua X, Eguiarte LE, González-Rodríguez A, Casas A: **Round and large: morphological and genetic consequences of artificial selection on the gourd tree *Crescentia kujete* by the Maya of the Yucatan Peninsula, Mexico**. *Ann Botany* 2012, **109**:1297-1306.
- Gentry AH: **Bignoniaceae Part I**. *Flora Neotrop Monogr* 1980, **25**:82-96.
- Pennington TD, Sarukhán J: *Árboles tropicales de México*. México: UNAM, FCE; 1998.
- Morton JF: **The calabash (*Crescentia kujete*) in folk medicine**. *Econ Bot* 1968, **22**:273-280.
- Gómez-Estrada H, Díaz-Castillo F, Franco-Ospina L, Mercado-Camargo J, Guzmán-Ledezma J, Medina JD, Gaitán-Ibarra R: **Folk medicine in the northern coast of Colombia: an overview**. *J Ethnobiol Ethnomed* 2001, **7**:27-38.
- Volpato G, Godínez D, Beyra A, Baerreto A: **Uses of medicinal plants by Haitian immigrants and their descendants in the Province of Camagüey, Cuba**. *J Ethnobiol Ethnomed* 2009, **5**:16-24.
- Barrera A: **Sobre la unidad de habitación tradicional campesina y el manejo de recursos bióticos en el área maya yucatanense**. *Biótica* 1980, **5**:115-129.
- Royce RL: *The ethno-botany of the Maya. ISHI reprints on Latin America and the Caribbean*. Philadelphia: Institute for the Study of Human Issues; 1976.
- Barrera A, Gómez-Pompa A, Vázquez-Yanes C: **El manejo de las selvas por los Mayas: sus implicaciones silvícolas y agrícolas**. *Biótica* 1977, **2**:47-61.
- Gómez-Pompa A, Allen MF, Feddick S, Jiménez-Osornio JJ: *The Lowland Maya Area: Three Millennia at the Human-Wildland Interface*. Binghamton, New York; 2003.
- Toledo VM, Barrera-Bassols N, García-Frapolli E, Alarcón-Chaires P: **Usos múltiples y biodiversidad entre los mayas yucatecos (México)**. *Interciencia* 2008, **33**:345-352.
- Ford A, Nigh R: **Origins of the Maya forest garden: Maya resource management**. *J Ethnobiol* 2009, **29**:213-236.
- Rico-Gray V, García-Franco JG, Chemas A, Puch A, Sima P: **Species composition, similarity, and structure of Maya homegardens in Tixpeul and Tixcacaltuyub, Yucatan, Mexico**. *Econ Bot* 1990, **44**:470-487.
- Aké-G A, Ávila M, Jiménez-O J: **Valor de los productos directos del agroecosistema solar: el caso de Hocabá, Yucatán, México**. *Sociedades Rurales, Producción y Medio Ambiente* 2002, **3**:7-18.
- Benjamin TJ, Montañez PI, Jiménez JJM, Gillespie AR: **Carbon, water and nutrient flux in Maya homegardens in the Yucatán Peninsula of México**. *Agron Syst* 2001, **53**:103-111.
- de la Cerda HE C, Guerra Mukul RR: **Homegarden production and productivity in a Mayan community of Yucatan**. *Hum Ecol* 2008, **36**:423-433.
- de Frece A, Poole N: **Constructing livelihoods in rural Mexico: milpa in Mayan culture**. *J Peasant Studies* 2008, **35**:335-352.
- Medina-González El: *Jícaras y guajes prehispánicos procedentes de contextos arqueológicos húmedos*, BSc thesis. New York: Escuela Nacional de Conservación, Restauración y Museografía Manuel del Castillo Negrete INAH SEP; 1996.
- Kerr J: *Maya Vase Database*. Photographs K1226, K1247, K4546, K4923. <http://www.mayavase.com>.
- Christenson AJ: *Popol Vuh: Sacred Book of the Quiché Maya People*. <http://www.mesoweb.com/publications/Christenson/PopolVuh.pdf>.

33. Barrera-Vásquez A, Rendón S: *Libro de los libros de Chilam Balam*. Mexico: Fondo de Cultura Económica; 1948.
34. Popenoe W: **The useful plants of Copan**. *Am Anthropol* 1919, **21**:125–138.
35. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática (INEGI): *Censo de Población y Vivienda 2010*. http://www.inegi.org.mx/sistemas/consulta_resultados/iter2010.aspx.
36. Maya J: *An introduction to qualitative methods: a training module for students and professionals*. Edmonton: Qual Institute Press; 2001.
37. Barrera-Vásquez A: *Diccionario Maya*. México: Porrúa; 2007.
38. Harper RM: **Useful plants of Yucatan**. *Bull Torrey Bot Club* 1932, **59**:279–288.
39. Caballero J: **Maya homegardens: past, present and future**. *Etnoecológica* 1992, **1**:35–54.
40. García de Miguel J: *Etnobotánica maya: origen y evolución de los huertos familiares de la Península de Yucatán, México*, PhD thesis. Universidad de Córdoba: Universidad de Córdoba; 2000.
41. de Clerck FAJ, Negreros-Castillo P: **Plant species of traditional Mayan homegardens of Mexico as analogs for multistrata agroforests**. *Agro Syst* 2000, **48**:303–317.
42. Sutrop U: **List task and a cognitive salience index**. *Field Methods* 2001, **13**:263–276.
43. Penne F, Wencelius J, Garine E, Raimond C, Bohbot H: *FLAME v1.0: Free-List Analysis under Microsoft Excel*. Paris: CNRS; 2012.
44. Kuhl FP, Giardina CR: **Elliptic Fourier features of a closed contour**. *Comp Graph Image Proc* 1982, **18**:236–258.
45. Liang ZC, Huang P, Yang J, Rao GY: **Population divergence in the amphicarpic species *Amphicarpaea edgeworthii* Benth. (Fabaceae): microsatellite markers and leaf morphology**. *Biol J Linn Soc* 2009, **96**:505–516.
46. Hoffman JI, Peck LS, Hillyard G, Zieritz A, Clark MS: **No evidence for genetic differentiation between Antarctic limpet *Nacella concinna* morphotypes**. *Mar Biol* 2010, **157**:765–778.
47. Iwata H, Ebana K, Uga Y, Hayashi T, Jannink JL: **Genome-wide association study of grain shape variation among *Oryza sativa* L. germplasms based on elliptic Fourier analysis**. *Mol Breeding* 2010, **25**:203–215.
48. Iwata H, Ukai Y: **Shape: a computer program package for quantitative evaluation of biological shapes based on elliptic Fourier descriptors**. *J Hered* 2002, **93**:384–385.
49. Bastarrachea-Manzano JR: **La vegetación maya: otra forma de cosmovisión**. In *Manejo de la diversidad de los cultivos en agroecosistemas tradicionales*. Edited by Chávez-Servia JL, Tuxill J, Jarvis DI. Cali: Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos; 2004:208–215.
50. Redfield R: *The folk culture of Yucatan*. Chicago: The University of Chicago Press; 1941.
51. LeCount LJ: **Like water for chocolate: feasting and political ritual among the Late Classic Maya at Xunantunich, Belize**. *Am Anthropol* 2001, **103**:935–953.
52. Redfield R, Villa-Rojas A: *Chan Kom, a Maya village*. Chicago: The University of Chicago Press; 1934.
53. Hurst WJ, Tarka SM, Powis TG, Valdez F, Hester TR: **Cacao use by the earliest Maya civilization**. *Nature* 2002, **418**:289–290.
54. Coe SD, Coe MD: *The true history of chocolate*. New York: Thames & Hudson; 1996.
55. Pérez-Toro: *La Milpa*. Mérida: Gobierno de Yucatán; 1942.
56. Baqueiro-López O: *Magia, mitos y supersticiones entre los mayas*. Mérida: Maldonado Editores; 1983.
57. Marion MO: *Identidad y ritualidad entre los mayas. Colección Fiestas de los Pueblos Indígenas*. Mexico: Instituto Nacional Indigenista Sedesol; 1994.
58. Santos-Fita D: *Cacería de subsistencia, manejo y conservación de fauna silvestre en comunidades rurales de la Península de Yucatán, México*, PhD thesis. El Colegio de la Frontera Sur; 2013.
59. Meulenberg IRMM: *Calabashes and Bottle Gourds from Suriname*, MSc thesis. University of Leiden; 2011.
60. Hamrick JL, Godt MJW: **Effects of life history traits on genetic diversity in plant species**. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 1996, **351**:1291–1298.
61. Verdú M: **Age at maturity and diversification in woody angiosperms**. *Evolution* 2002, **56**:1352–1361.
62. Petit RJ, Hampe A: **Some evolutionary consequences of being a tree**. *Ann Rev Ecol Syst* 2006, **37**:187–214.
63. Parra F, Pérez-Nasser N, Lira R, Pérez Salicrup D, Casas A: **Population genetics and process of domestication of *Stenocereus pruinosus* (Cactaceae) in the Tehuacán Valley, Mexico**. *J Arid Environ* 2008, **72**:1997–2010.
64. Miller AJ, Gross BL: **From forest to field: perennial fruit crop domestication**. *Am J Bot* 2011, **98**:1389–1414.
65. Arango-Ulloa J, Bohorquez A, Duque MC, Maass BL: **Diversity of the calabash tree (*Crescentia cujete* L.) in Colombia**. *Agro Syst* 2009, **76**:543–553.
66. Assogbadjo AE, Glèlè-Kakai R, Chadare FJ, Thomson L, Kyndt T, Sinsin B, Van Damme P: **Folk classification, perception and preferences of baobab products in West Africa: consequences for species conservation and improvement**. *Econ Bot* 2008, **62**:74–84.
67. Fandohan B, Assogbadjo AE, Glèlè-Kakai R, Kyndt T, Sinsin B: **Quantitative morphological descriptors confirm traditionally classified morphotypes of *Tamarindus indica* L. fruits**. *Gen Res Crop Evol* 2011, **58**:299–309.
68. Gwali S, Nakabonge G, Lamoris-Okullo JB, Eilu G, Nyeko P, Vuzi P: **Morphological variation among shea tree (*Vitellaria paradoxa* subsp. *nilotica*) 'ethnovarieties' in Uganda**. *Gen Res Crop Evol* 2012, **59**:1883–1898.
69. Cornille A, Gladieux P, Smulders MJM, Roldán-Ruiz I, Laurens F, Le Cam B, Nersesyan A, Clavel J, Olonova M, Feugey L, Gabrielyan I, Zhang X-G, Tenaillon M, Giraud T: **New insight into the history of the domesticated apple: secondary contribution of the European wild apple to the genome of cultivated varieties**. *PLoS Genet* 2012, **8**:e10002703. doi:10.1371/journal.pgen.1002703.
70. Ashworth VETM, Clegg MT: **Microsatellite markers in avocado (*Persea americana* Mill.): genealogical relationships among cultivated avocado genotypes**. *J Heredity* 2003, **94**:407–415.
71. Myles S, Boyko AR, Owens CL, Brown PJ, Grassi F, Aradhya MK, Prins B, Reynolds A, Chia JM, Ware D, Bustamante CD, Buckler ES: **Genetic structure and domestication history of the grape**. *Proc Natl Acad Sci USA* 2011, **108**:3530–3535.
72. Besnard G, Rubio De Casas R, Vargas P: **Plastid and nuclear DNA polymorphism reveals historical processes of isolation and reticulation in the olive tree complex (*Olea europaea*)**. *J Biogeogr* 2007, **34**:736–752.
73. Price S: **When is a calabash not a calabash?** *New West Indian Guide* 1982, **56**:69–82.
74. Heiser CB: *The Gourd Book*. Norman: The University of Oklahoma Press; 1979.
75. Morimoto Y, Maundu P, Fujimaki H, Morishima H: **Diversity of landraces of the white-flowered gourd (*Lagenaria siceraria*) and its wild relatives in Kenya: fruit and seed morphology**. *Gen Res Crop Evol* 2005, **52**:737–747.

doi:10.1186/1746-4269-9-76

Cite this article as: Aguirre-Dugua et al.: Phenotypic differentiation between wild and domesticated varieties of *Crescentia cujete* L. and culturally relevant uses of their fruits as bowls in the Yucatan Peninsula, Mexico. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine* 2013 **9**:76.

Submit your next manuscript to BioMed Central and take full advantage of:

- Convenient online submission
- Thorough peer review
- No space constraints or color figure charges
- Immediate publication on acceptance
- Inclusion in PubMed, CAS, Scopus and Google Scholar
- Research which is freely available for redistribution

Submit your manuscript at
www.biomedcentral.com/submit



Capítulo 4.

Patrones filogeográficos en *Crescentia cujete* y *C. alata*

Introducción

La composición fenotípica y genotípica diferencial de las poblaciones domesticadas en relación con sus homólogos silvestres se mantiene gracias a las prácticas de manejo en las que se expresa la selección artificial (Montes-Hernández et al. 2005; Bost 2009; Lins-Neto et al. 2014). Estas prácticas de manejo consisten principalmente en dejar en pie (i.e. tolerancia) y propagar activamente los propágulos (sexuales o asexuales) de los individuos seleccionados (Casas et al. 2007; Martínez-Castillo et al. 2007; Pickersgill 2007; Parra et al. 2010). La diferenciación entre poblaciones en la escala geográfica puede también ser acentuada por la dispersión artificial de individuos o sus propágulos, pues se fundan nuevas poblaciones en áreas previamente no ocupadas por el taxón (i.e., eventos de colonización a larga distancia; Gepts et al. 1988; Moeller y Schaal 1999; Motamayor et al. 2002; Doebley et al. 2006), y se reúnen en una misma población linajes previamente aislados, causando procesos de flujo génico intra e interespecífico que aumentan la diversidad de las especies sujetas a domesticación (Papa y Gepts 2003; Hughes et al. 2007; Ross-Ibarra et al. 2009; Hufford et al. 2012). En el largo plazo, estas prácticas de selección, propagación y dispersión que suceden en una escala microevolutiva van delimitando la distinción de los linajes domesticados respecto a los linajes silvestres, es decir, se diferencian nuevas unidades evolutivas.

Estos procesos de diferenciación poblacional pueden ser analizados por la disciplina de la filogeografía. Los estudios filogeográficos analizan el arreglo geográfico de los linajes de genes neutrales dentro y entre especies cercanamente emparentadas, para identificar los procesos históricos que han dado origen a la arquitectura genealógica actual de las especies (Avice 2000, 2009; Templeton 2001; Petit y Vendramin 2006). En el caso de taxa domesticados, la aproximación filogeográfica es útil para reconocer relaciones de parentesco entre variedades o poblaciones (Ikegami et al. 2009; Gunn et al. 2011; Myles et al. 2011), identificar parientes silvestres (Harris et al. 2002; Léotard et al. 2009; Petersen et al. 2012; Meyer et al. 2012a), reconstruir rutas de difusión (Besnard et al. 2002; Matsuoka et al. 2002; Zerega et al. 2004) e identificar fenómenos demográficos (i.e., cuellos de botella, expansiones y flujo génico; Palmé y Vendramin 2002; Miller y Schaal 2005; Arias et al. 2010; Cornille et al. 2012). Identificar los factores naturales y humanos que definen la arquitectura genealógica actual de las especies domesticadas permite enriquecer la teoría en torno a la domesticación,

la cual representa un caso de estudio para comprender los procesos evolutivos (Gregory 2009; Brown 2010), así como mejorar las estrategias de manejo de recursos genéticos y su conservación, tanto del germoplasma domesticado como de su contraparte silvestre (Khadari et al. 2005; Grassi et al. 2006; Chen et al. 2009).

Si bien existe abundante información en torno a estos procesos en el caso de las especies anuales de relevancia agrícola mundial (Salamini et al. 2002; Londo et al. 2006; Fuller 2007), el conocimiento actual sobre especies perennes es limitado, sobre todo en centros de domesticación distintos de la cuenca del Mediterráneo (Miller y Gross 2011; Meyer et al. 2012b) (véase Anexo I). En contraste con las especies anuales, las especies perennes domesticadas se caracterizan por tener ciclos de vida largos y sistemas reproductivos exógamos que dificultan la fijación de caracteres por selección artificial y la diferenciación de las poblaciones seleccionadas de sus parientes silvestres (Zohary 2004). Las características ecológicas y reproductivas de las especies perennes explicarían sus menores tasas de domesticación y un número menor de rasgos de domesticación (Pickersgill 2007; Meyer et al. 2012b). Sin embargo, a pesar de estas limitantes, es posible observar en las especies perennes domesticadas una alta diversidad filogenética (al menos 41 familias botánicas), la selección de diversas partes de la planta (principalmente frutos y semillas, pero también raíces, tallos y hojas) y su utilización para fines tanto alimenticios como ornamentales y utilitarios (Hernández-Xolocotzi 1993; Miller y Gross 2011; Meyer et al. 2012b).

Una muestra de esta diversidad se encuentra en Mesoamérica, donde cerca de 65% de las plantas que han sido domesticadas son perennes, pertenecientes a unas 22 familias botánicas (Miller y Gross 2011; Hernández-Xolocotzi 1993). En esta región existen también sistemas de producción tradicionales (parcelas agrícolas, sistemas agroforestales y huertos familiares) donde están vigentes las prácticas de manejo y selección artificial que constituyen la base de la domesticación (Blancas et al. 2010; Moreno-Calles et al. 2010). Estas poblaciones bajo manejo se encuentran comúnmente coexistiendo con poblaciones silvestres de las mismas especies (Parra et al. 2010). La diversidad filogenética y de usos de las especies perennes domesticadas de Mesoamérica, su coexistencia con poblaciones silvestres y el manejo humano al que están sujetas hacen de esta región un escenario idóneo para comprender los procesos de domesticación en lo morfológico, reproductivo, fisiológico, genético y filogeográfico (Arias et al. 2010; Guillén et al. 2011; Lins-Neto et al. 2014).

Entre los árboles domesticados en Mesoamérica se encuentran las especies del género *Crescentia*. Los frutos de *Crescentia* han sido utilizados para la elaboración de recipientes y utensilios desde las primeras fases del desarrollo agrícola (véase el Capítulo 1). Cuentan con

poblaciones silvestres ampliamente distribuidas en las áreas tropicales de México y Centroamérica (asociadas a áreas abiertas de selvas bajas caducifolias en el caso de *C. alata*, sabanas y selvas subperennifolias en el de *C. cujete*) y se observan con frecuencia en huertos familiares y áreas antropogénicas como potreros (Gentry 1980; Pennington y Sarukhán 1998). Alwyn H. Gentry (1980) consideró que el rango natural de *C. cujete* es “poco claro”, pues esta especie es “extensamente cultivada en la América tropical. Es sin duda nativa al menos del norte de Centroamérica y México”. La distribución fragmentada de estas especies sugiere que pudieron haber sido introducidas por el hombre en varias regiones, pues sus frutos indehiscentes tienen una dispersión natural limitada dependiente de pequeños mamíferos y corrientes de agua (Gentry 1974; Howe 1985; véase Capítulo 1).

Por su profunda historia de uso, amplia distribución, limitadas capacidades de dispersión natural y la coexistencia de poblaciones silvestres y domesticadas, las especies mesoamericanas de *Crescentia* constituyen un sistema en el que es posible reconocer las relaciones causa-efecto entre las estrategias de domesticación de las especies perennes y su estructura filogeográfica. Específicamente, en el presente capítulo se determinarán los efectos del tipo de propagación (clonal/sexual) y las prácticas de manejo (cultivo/tolerancia) en la diferenciación entre poblaciones silvestres y domesticadas. Entre estos efectos se encuentra la generación de cuellos de botella y la facilitación (o, en caso contrario, limitación) de procesos de flujo génico intra e interespecífico. La diferenciación entre poblaciones silvestres y domesticadas permitirá también conocer el origen probable de los árboles presentes en los huertos y, con ello, evaluar la extensión de la dispersión artificial.

Métodos

Poblaciones analizadas

Las áreas de colecta fueron seleccionadas de acuerdo con la distribución mostrada por especímenes de herbario (véase la Fig. 3A del Capítulo 1). En el caso de *C. cujete* el muestreo se centró en México y Centroamérica, área reconocida por Gentry (1980) como el probable rango nativo de la especie. Los árboles muestreados fueron divididos en dos categorías – aquellos presentes en huertos y silvestres- con base en los siguientes criterios:

Individuos de huertos – Árboles que se encuentran dentro de núcleos de población; ubicados en el huerto o jardín familiar, dentro del terreno donde se encuentra la casa-habitación; dentro de terrenos donde hubiera construcciones (casas, escuelas) aunque éstas no estuvieran

habitadas; dentro de terrenos sin construcciones pero dentro del núcleo de población, rodeada de propiedades habitadas; en otras zonas dentro del núcleo de población como banquetas y borde de calles. Dentro de esta categoría se incluyeron también los individuos provenientes de jardines botánicos.

Individuos silvestres – Árboles que se encuentran fuera de núcleos de población; en el borde de carreteras; en terrenos dedicados a la ganadería (potreros); en áreas de vegetación natural como selvas bajas caducifolias, selvas medianas, sabanas, así como vegetación secundaria o perturbada como pastizales y palmares.

Se analizaron para *C. cujete* un total de 390 individuos, los cuales fueron colectados en 39 sitios en México, así como muestras provenientes de Cuba, Costa Rica, Venezuela y Perú (en total 47 sitios). En conjunto se reunieron 226 individuos de huertos, 159 silvestres y 5 muestras de herbario. Las muestras provenientes de ejemplares de herbario provistas por el Herbario Nacional fueron denominadas “MEXU” (véanse Tablas 1 y 2 del Anexo IV). Los sitios ubicados en la vertiente al océano Pacífico corresponden exclusivamente a huertos, ya que no se detectaron poblaciones silvestres en dichas áreas, información que coincide con la distribución natural reportada en la literatura (véase Capítulo 1).

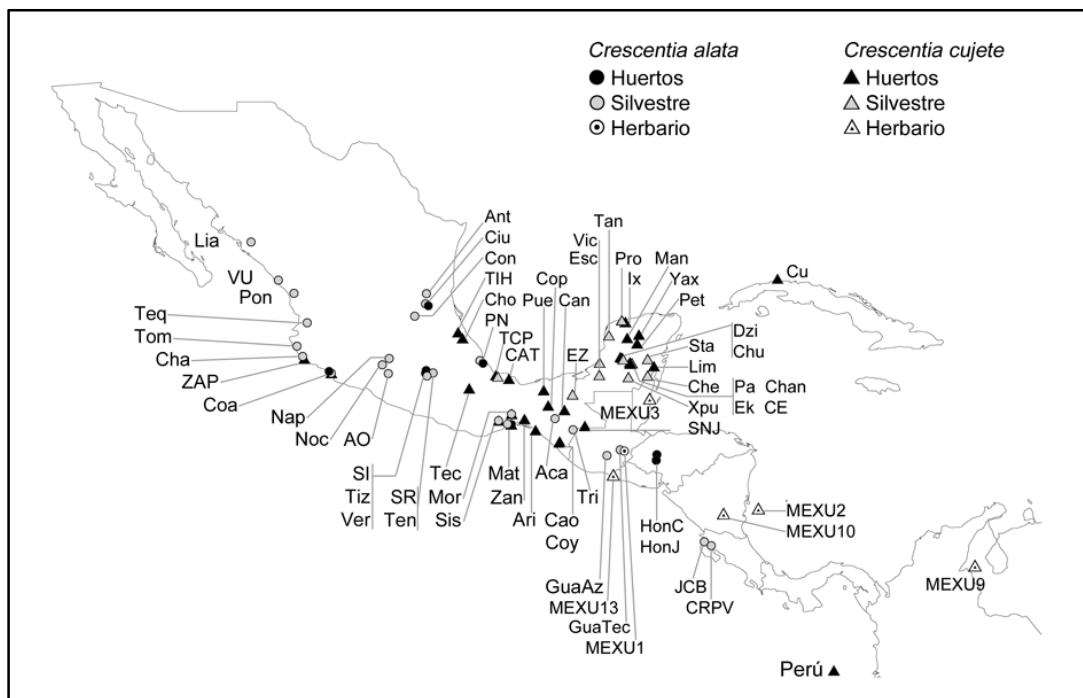


Fig. 1. Sitios de colecta del análisis filogeográfico. Las siglas corresponden a las localidades señaladas en las Tablas 1 y 2 del Anexo IV.

En el caso de *C. alata* se analizó un total de 243 individuos colectados en 28 sitios en México, además de muestras provenientes de Guatemala, Honduras y Costa Rica (en total 35 sitios). Estas muestras corresponden a 43 individuos de huertos, 199 silvestres y 1 proveniente de herbario (véase Tabla 3 del Anexo IV). Adicionalmente se incluyó en el análisis una muestra de *C. mirabilis* proveniente del Jardín Botánico de La Habana; se trata de una especie endémica de Cuba. También se utilizó una muestra de *Parmentiera aculeata* como referencia para enraizar la red de haplotipos. El género *Parmentiera* es hermano de *Crescentia* y pertenece a la misma tribu Crescentieae (Grose y Olmstead 2007). En todos los casos se colectaron hojas de los individuos, las cuales fueron conservadas inmediatamente en nitrógeno líquido o bien deshidratadas con silica gel. Adicionalmente, en los sitios donde se colectaron individuos de huertos se obtuvo información sobre la vía de propagación de los individuos presentes en el huerto (tolerado, o bien plantado por medio de esqueje o semilla).

Amplificación de microsatélites de cloroplasto

Se extrajo el ADN total genómico de las muestras colectadas con base en el protocolo de Doyle y Doyle (1987) basado en CTAB (bromuro de cetiltrimetil amonio) modificado con la adición de cloruro de sodio-Tris-EDTA (Anexo III). El ADN de ejemplares de herbario fue extraído con el DNeasy Plant Mini Kit de Qiagen (no. cat. 69106). Se amplificaron los microsatélites de cloroplasto con los diez oligonucleótidos universales publicados por Weising y Gardner (1999) marcados con fluorescencia; los productos de PCR fueron analizados en el AbiPrism 3100-Avant Genetic Analyser. El tamaño de cada microsatélite fue evaluado utilizando el software Peak Scanner v. 1.0 (Applied Biosystems) con un marcador de tamaños GeneScan 500 LIZ como referencia.

Se evaluaron las temperaturas adecuadas para la amplificación y el polimorfismo de cada microsatélite con base en una muestra preliminar de dos árboles provenientes de cinco poblaciones geográficamente distantes. Seis de los microsatélites mostraron variación (Tabla 4). Los microsatélites seleccionados fueron simultáneamente amplificados en cada muestra en un volumen final de 5 μ l utilizando el kit de PCR multiplex de Qiagen (no. cat. 206143) con la siguiente composición: Mezcla Multiplex 2.5 μ l, coctel oligonucleótidos 1 μ l, ADN (10ng/ μ l) 1 μ l, H₂O 0.5 μ l; el coctel de oligonucleótidos contenía para el locus *ccmp1* una concentración de oligos 3 mM, *ccmp2* 1.5 mM y para los loci *ccmp4*, 5, 6 y 10 una concentración de 1 mM. La amplificación se realizó con el siguiente programa: 95°C 15 min;

35 ciclos, cada uno de 94°C 30 s, 55.5°C 1:30 min y 72°C 1 min; y un paso final de 60°C 30 min. Los productos de PCR se analizaron como se señaló previamente.

Para confirmar los patrones observados en la amplificación de los microsatélites y la repetibilidad del PCR se amplificaron en dos ocasiones 99 individuos pertenecientes a 40 sitios (tomando en cuenta ambas especies). Adicionalmente se utilizaron de uno a tres controles positivos en cada corrida.

Los tamaños de los microsatélites en cada muestra se registraron de manera transversal para disminuir la probabilidad de cometer errores en la lectura (i.e. primero un microsatélite en todas las muestras, luego el segundo microsatélite, etc., y no los diferentes microsatélites de una sola muestra a la vez).

Análisis de los datos

Los haplotipos fueron definidos como cada combinación particular de microsatélites ('alelos'). Las relaciones entre haplotipos fueron visualizadas por medio de una red de unión de medianas (en inglés *median-joining network*; Bandelt et al. 1999). Este método reconstruye filogenias intraespecíficas representando, a manera de red y en un solo gráfico, un conjunto de árboles posibles para el juego de datos analizado. El propósito de esta red es mostrar varias relaciones evolutivas alternativas posibles, pues las reticulaciones representan incertidumbre respecto al orden de cambio de los estados de carácter. El método de unión de medianas consiste, primero, en construir todos los árboles de distancia mínima (en inglés *minimum spanning tree*) entre los haplotipos e integrarlos en una sola red. Posteriormente, nuevos vértices o haplotipos intermedios consenso son agregados a la red con base en un criterio de parsimonia (priorizando aquellos que actúan como nodos de ramificación); estos haplotipos intermedios son denominados vectores medianos (*median vectors*) y pueden ser biológicamente interpretados como haplotipos que no se muestrearon o bien como haplotipos ancestrales extintos. La adición de nuevos vértices o vectores medianos depende de un parámetro ϵ que especifica la distancia mínima que debe existir entre haplotipos (incluyendo los haplotipos de las muestras y los intermedios propuestos por la parsimonia) dentro de la cual es posible agregar dichos nuevos vectores. Este parámetro puede ser ≥ 0 y entre mayor sea ϵ , se conservarán más vectores medianos. Ajustar el valor de este parámetro permite, por lo tanto, considerar distintos niveles posibles de homoplasia (Bandelt et al. 1999).

El análisis de redes de unión de medianas aplicado a los datos del presente estudio se realizó con el software Network 4.6.1.2 (Bandelt et al. 1999, *fluxus-engineering.com*) bajo la modalidad ‘Y-chromosomal short tandem repeat’ que se refiere a haplotipos de herencia uniparental definidos por microsatélites de repeticiones sencillas que evolucionan una repetición a la vez (*single-repeat mutational model*). La distancia entre haplotipos se midió con base en un peso de 10 (default) para cada estado de carácter. Se definió el valor del parámetro $\epsilon=10$ para asegurar la inclusión en la red de todos los árboles más cortos posibles, y se aplicó un paso adicional posterior de máxima parsimonia para eliminar aquellos vectores medianos generados en el proceso de cálculo que, una vez terminada la red, resultan superfluos por estar ligados sólo a otros vectores medianos y a ningún haplotipo de la muestra. Para destacar en la red uno de los árboles más cortos posibles como una hipótesis plausible de relaciones entre ellos se consideró la presencia compartida de haplotipos en las mismas poblaciones y su distribución geográfica. Tal consideración se hizo bajo la premisa de que es más probable que los haplotipos en baja frecuencia provengan de otros haplotipos más abundantes de las mismas poblaciones donde se les detectó o dentro del mismo rango geográfico que de haplotipos menos frecuentes y/o provenientes de otras poblaciones más lejanas.

Se analizaron los niveles de diversidad genética en las poblaciones de cada especie y para cada categoría de sitios (huertos y silvestres) con base en el número de total de haplotipos y por medio del índice de diversidad haplotípica h calculado con el programa Arlequin v.3.5.1.3 (Excoffier et al. 2005). Dicho índice puede interpretarse como la probabilidad de que dos haplotipos escogidos al azar dentro de una población sean distintos entre sí y tiene como fórmula: $h = (1 - \sum x_i^2) / n$, donde x_i representa la frecuencia del haplotipo i y n corresponde al tamaño de muestra (Nei 1987). Los valores de h fueron comparados entre especies y entre sitios (silvestres y huertos) de la misma especie por medio de una prueba t de Student.

La estructuración de la diversidad haplotípica fue evaluada en cada especie con un análisis de varianza molecular (AMOVA) para conocer la distribución de la variación genética entre los sitios de huerto y los sitios silvestres (con el programa Arlequin v.3.5.1.3; Excoffier et al. 2005). También se analizó la estructuración con los estadísticos G_{st} y R_{st} calculados con el programa PermutCpSSR v.2.0 (Pons y Petit 1995, 1996). El estadístico G_{st} es un análogo a la F_{st} de Wright desarrollado para datos haploides; evalúa la relación entre la diversidad promedio que se encuentra dentro de las poblaciones (h_s) y la diversidad total de

toda la muestra (h_T) con base en la fórmula $G_{st}=(h_T-h_S)/h_T$. Si bien el estadístico G_{st} se basa exclusivamente en las frecuencias haplotípicas (alelos no ordenados), R_{st} se calcula de la misma manera (denominándose los valores de diversidad intrapoblacional y total v_S y v_T , respectivamente), pero incluyendo una matriz de pesos (π) que refleja las relaciones entre los haplotipos analizados (i.e, los alelos están ordenados). Estos pesos pueden ser distancias entre secuencias o la diferencia en el número de repeticiones en loci de microsatélites (Pons y Petit 1996). De hecho, el estadístico G_{st} se considera un caso particular en el que la matriz de distancias π considera que todos los haplotipos se encuentran a la misma distancia entre sí (distancia =1). Para determinar si la diversidad genética de las poblaciones se encuentra estructurada de manera significativa y que las poblaciones contienen haplotipos más relacionados entre sí que con el resto de los haplotipos presentes en las demás poblaciones es posible poner a prueba la hipótesis nula de que $R_{st}>G_{st}$. La diferencia significativa entre estos dos estadísticos señala la presencia de estructura filogeográfica pues indica si haplotipos emparentados están dentro de las mismas poblaciones o en poblaciones distintas (si $R_{st}>G_{st}$ o $R_{st}<G_{st}$, respectivamente; Pons y Petit 1996, véase por ejemplo Wang et al. 2013). Sin embargo, este método no considera explícitamente la distancia geográfica entre poblaciones, sino exclusivamente la presencia de haplotipos cercanamente emparentados dentro de las unidades poblacionales (esto es, la presencia de subdivisión filogenética). Debido a restricciones en el cálculo de estos estadísticos se eliminaron los sitios con tamaños de muestra <3 individuos, por lo que tanto G_{st} como R_{st} se basaron en 32 sitios de *C. kujete* (11 silvestres y 21 de huertos) y 29 sitios de *C. alata* (22 silvestres y 7 de huertos; entre estos últimos se agrupó en una sola población los sitios *SI*, *SR* y *Tiz* del estado de Morelos debido a su cercanía geográfica).

Para visualizar la estructuración de esta diversidad y reconocer grupos geográficos de poblaciones se utilizaron dos métodos: el análisis espacial de varianza molecular (SAMOVA) y el algoritmo de Monmonier. En el SAMOVA (Dupanloup et al. 2002) se definen grupos de poblaciones geográficamente cercanas (k), maximizando la proporción de varianza o divergencia total debida a diferencias en la composición genética de dichos grupos (denominada FCT). El estadístico FCT puede definirse como la correlación entre haplotipos tomados al azar dentro de un grupo de poblaciones en relación con cualquier otro par de haplotipos tomados al azar de la especie en su conjunto (Excoffier et al. 1992). Este análisis se realizó con el programa SAMOVA 1.0 (Dupanloup et al. 2002), calculando el valor de FCT para $k=2$ hasta $k=20$ grupos; la agrupación en la que el valor de FCT fue el más alto se conservó como la que mejor refleja la estructuración geográfica de la muestra. Para calcular la

significancia de FCT se realizaron 1000 permutaciones al juego de datos y se obtuvo la distribución nula del estadístico bajo la hipótesis de ausencia de estructuración. El SAMOVA se calculó en cada especie tomando en cuenta dos juegos de datos: a) todos los sitios (silvestres y de huerto) y b) sólo los sitios silvestres.

Por su parte, el algoritmo de Monmonier coloca barreras entre poblaciones (y, por ende, define grupos a cada lado de la barrera) con base en las distancias genéticas que las separan. Este método utiliza una red de Delaunay que conecta (triangula) a todos los puntos (poblaciones) entre sí y una matriz de distancias genéticas entre los puntos, por lo que cada línea que conecta dos puntos cuenta con una distancia genética asociada. La primer barrera se coloca perpendicularmente a la línea con la mayor distancia genética de toda la matriz y se va extendiendo progresivamente a través de las líneas adyacentes que presenten las distancias genéticas más altas, hasta que la barrera alcanza un borde de la red, se cierra en círculo alrededor de uno o varios puntos, o bien se topa con una barrera ya existente. La siguiente barrera es colocada siguiendo el mismo principio, empezando en la línea entre dos puntos que presente la mayor distancia genética en la matriz que no haya sido aún incluida en la primer barrera, y así sucesivamente. El algoritmo requiere definir *a priori* el número de barreras que han de estimarse, pero dado que las barreras se definen con base en distancias decrecientes, la primera barrera es siempre la más importante mientras que las barreras de menor orden están asociadas a distancias cada vez menores. El número máximo de barreras es el número total de poblaciones, cuando cada población está rodeada por una barrera (véase la descripción completa del algoritmo en Manni et al. 2004). En este análisis la matriz de distancias entre poblaciones se basó en el número promedio de diferencias entre poblaciones de Nei (D) definido como $D = \frac{\sum_{i=1}^k \sum_{j=1}^{k'} x_{1i} x_{2j} \delta_{ij}}{k \cdot k'}$ donde k y k' son el número de haplotipos distintos en las poblaciones 1 y 2 respectivamente, x_{1i} es la frecuencia del haplotipo i en la población 1 y δ_{ij} es el número de diferencias entre el haplotipo i y el haplotipo j (Nei y Li 1979). Dicha matriz se calculó con el programa Arlequin v.3.5.1.3 (Excoffier et al. 2005), mientras que el algoritmo de Monmonier se ejecutó con el programa Barrier 2.2 (Manni et al. 2004). Para ambas especies y los dos juegos de datos (todos los sitios y sólo sitios silvestres) se calcularon de 1 a 10 barreras, conservando el número de barreras que representara la diferenciación de los principales grupos de poblaciones. En el SAMOVA y en el algoritmo de Monmonier se excluyó la muestra de Perú de *C. kujete*, debido a su lejanía geográfica y genética.

Finalmente, para contar con un escenario histórico de las especies previo al manejo humano se evaluó si las poblaciones silvestres presentan un patrón de aislamiento por distancia con una prueba de Mantel, utilizando como medida de distancia genética entre

poblaciones el índice D (Nei y Li 1979) previamente mencionado y como distancia geográfica la distancia lineal entre ellas (en km). Para obtener un valor de significancia estadística del coeficiente de correlación entre matrices éstas se permutaron 1000 veces (con el programa Arlequin v.3.5.1.3; Excoffier et al. 2005). También se puso a prueba si las especies han mantenido en estado silvestre tamaños poblacionales constantes o si se han expandido por medio del análisis de la distribución *mismatch* (la distribución de las diferencias pareadas entre haplotipos). La distribución *mismatch* suele ser multimodal en poblaciones que han mantenido un tamaño relativamente constante y unimodal en aquellas que han experimentado un crecimiento demográfico reciente (Rogers y Harpending 1992). El modelo de expansión demográfica puesto a prueba asume un crecimiento poblacional de tamaño N_0 a tamaño N_1 hace τ generaciones, después de lo cual la población alcanza un equilibrio demográfico (Rogers y Harpending 1992). Se utilizó el programa Arlequin v.3.5.1.3 (Excoffier et al. 2005) para estimar el parámetro τ (siendo $\tau=2ut$, donde u es la tasa de mutación y t es el número de generaciones) siguiendo la metodología de Schneider y Excoffier (1999). Se puso a prueba el modelo de expansión con una aproximación de bootstrap paramétrico de 10000 repeticiones en el que se simulan árboles coalescentes acordes a una expansión demográfica con el valor de τ estimado a partir de los datos, recalculando cada vez el nuevo valor de τ^* y la distribución *mismatch* esperada. Las simulaciones permiten generar un intervalo de confianza de 95% para el parámetro τ observado y evaluar el ajuste de la distribución *mismatch* observada a la distribución *mismatch* esperada utilizando como estadístico la suma de desviaciones al cuadrado (*sum of squared differences* o SSD).

Resultados

Diversidad genética y su estructuración en las poblaciones

Analizando ambas especies se detectaron de dos a ocho variantes de tamaño en cada locus de microsatélite (Tabla 1), las cuales permitieron definir 32 haplotipos de cpADN (su identidad se señala en la Tabla 4 del Anexo IV).

Comparando ambas especies, *C. alata* presenta menor número de haplotipos totales que *C. kujete* (17 vs. 22, respectivamente) pero mayor diversidad haplotípica ($h=0.7821$ vs. $h=0.7670$, $p<0.01$) lo cual se puede asociar a una mayor diversidad detectada en proporción al

menor tamaño de muestra en *C. alata* (Tabla 2). Los valores de h y número de haplotipos en cada uno de los sitios muestreados pueden consultarse en las Tablas 7 y 8 del Anexo IV.

Tabla 1. Variabilidad detectada en los microsatélites de cpADN en *C. kujete* y *C. alata* (primers de Weising y Gardner 1999).

| Microsatélite | Repetición en <i>N. tabacum</i> | Posición | Tamaños |
|---------------|-------------------------------------|--------------------------------------|--|
| ccmp1 | (T) ₁₀ | intrón <i>trnK</i> | 128, 129 |
| ccmp2 | (A) ₁₁ | 5' <i>trnS</i> | 181, 182, 183 |
| ccmp4 | (T) ₁₃ | intrón <i>atpF</i> | 140, 141, 142 |
| ccmp5 | (C) ₇ (T) ₁₀ | 3' <i>rps2</i> | 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111 |
| ccmp6 | (T) ₅ C(T) ₁₇ | Región intergénica ORF77-ORF82 | 70, 71, 72 |
| ccmp10 | (T) ₁₄ | Región intergénica <i>rpl2-rps19</i> | 108, 109, 110, 111, 112 |

Dentro de *C. kujete* los sitios silvestres presentaron mayor diversidad que los de huertos, pues cuentan con un índice de diversidad haplotípica más alto ($h=0.7102$ vs. $h=0.5277$, $p<0.01$; Tabla 2) así como mayor número de haplotipos (en total 15 haplotipos vs. 14, respectivamente; en promedio 2.83 haplotipos por sitio vs. 1.73, respectivamente). Cabe mencionar que 13 sitios de huertos presentaron haplotipos característicos de poblaciones silvestres simpátricas, en una proporción de 10% a 75%, siendo éstos los sitios de huertos que presentaron mayor diversidad (véanse en la Fig. 3 sitio en el Golfo de México *Cho*; en la península de Yucatán *Ix*, *Yax*, *Pet*, *Dzi*, *Lim*, *Ek*, *Cha*; en costa del Pacífico *Cop*, *Coy*, *Mat*, *Zan*).

En *C. alata* los sitios silvestres también presentaron mayor número de haplotipos (en total 16 haplotipos vs. 7 en huertos; en promedio 1.79 haplotipos por sitio vs. 1.5, respectivamente). Sin embargo, el índice h es mayor para los sitios de huertos que para los silvestres ($h=0.835$ vs. $h=0.7385$, $p<0.01$; Tabla 2), debido a que proporcionalmente el número de haplotipos detectado es mayor en relación con el tamaño de muestra ($N=43$ en huertos vs. $N=200$ en silvestres) y a que en el conjunto de datos de *C. alata* silvestres existen numerosos haplotipos en baja frecuencia.

En cuanto a la distribución de la diversidad, se encontró una subdivisión filogenética significativa de los haplotipos en las poblaciones de ambas especies ($R_{st}>G_{st}$, Tabla 2). Se detectó una subdivisión marginalmente significativa en las poblaciones silvestres de *C. kujete*, aunque ésta no fue detectada en los huertos. En el caso de *C. alata* la subdivisión estadísticamente significativa detectada a nivel global no se conservó al dividir los datos en las dos categorías de análisis (individuos provenientes de huertos y silvestres) (Tabla 2). El AMOVA mostró una distribución contrastante de la diversidad en ambas especies, pues en *C.*

cujete existe una elevada diferenciación entre los sitios de huerto y los silvestres con 71% de la varianza entre estos dos tipos de grupo, mientras que entre poblaciones dentro de cada categoría se encuentra sólo 11% de la varianza (Tabla 3). En cambio, en *C. alata* sólo el 16% de la varianza se distribuye entre poblaciones de huerto y silvestres, mientras que entre poblaciones dentro de cada grupo se encuentra el 66% de la varianza (Tabla 3). Este resultado se relaciona con la composición de los sitios de huerto de *C. kujete*, los cuales son más homogéneos y contienen haplotipos distintos de los de las poblaciones silvestres (véase más adelante la sección “Distribución geográfica de los haplotipos”).

Tabla 2. Diversidad detectada en las especies analizadas. h =índice de diversidad haplotípica (Nei 1987); G_{st} =índice de estructuración con base en alelos no ordenados; R_{st} =índice de estructuración con base en alelos ordenados (Pons y Petit 1996).

| Especie y categoría | No. sitios | No. indivs. | No. haplotipos | h (sd) | G_{st} (se) ¹ | R_{st} (se) ¹ | p ³ |
|---------------------|-----------------|-------------|----------------|---------------|----------------------------|----------------------------|------------------|
| <i>C. kujete</i> | | | | | | | |
| Silvestres | 17 | 164 | 15 | 0.710 (0.026) | 0.384 (0.072) | 0.544 (0.081) | 0.057 |
| Huertos | 30 | 226 | 14 | 0.528 (0.038) | 0.518 (0.072) | 0.275 (0.079) | 0.133 |
| Total | 46 ² | 390 | 22 | 0.767 (0.015) | 0.552 (0.046) | 0.684 (0.067) | 0.047 |
| <i>C. alata</i> | | | | | | | |
| Silvestres | 26 | 200 | 16 | 0.738 (0.028) | 0.645 (0.070) | 0.743 (0.090) | 0.102 |
| Huertos | 9 | 43 | 7 | 0.835 (0.022) | 0.655 (0.126) | 0.805 (0.171) | 0.135 |
| Total | 31 ² | 243 | 17 | 0.782 (0.021) | 0.650 (0.060) | 0.771 (0.093) | 0.036 |

¹ Excluyendo sitios con tamaños de muestra <3.

² Existe un sitio con individuos en ambas categorías.

³ Valor de p para la prueba de hipótesis $R_{st} > G_{st}$.

Tabla 3. Distribución de la varianza (%) en los distintos niveles del análisis de varianza molecular (AMOVA) considerando dos grupos: poblaciones de huerto y poblaciones silvestres.

| Especie | <i>C. kujete</i> | <i>C. alata</i> |
|------------------------------------|------------------|-----------------|
| Entre grupos | 71.33 | 15.62 |
| Entre poblaciones dentro de grupos | 10.59 | 66.19 |
| Dentro de poblaciones | 18.08 | 17.47 |

Relaciones entre haplotipos

La Figura 2 representa las relaciones entre estos haplotipos con base en el método de redes de unión de medianas, junto con las frecuencias de cada haplotipo en las especies incluidas en el análisis (véase Tabla 4).

Esta red está conformada básicamente por dos grandes grupos separados por tres pasos mutacionales: un grupo formado por los haplotipos I a V, que corresponde a individuos de *C. kujete* muestreados en huertos y otro grupo más amplio formado por los haplotipos VI a

XXXII que corresponde a muestras de *C. kujete* silvestres y *C. alata* silvestres y de huertos. En este segundo grupo los haplotipos VI a XV fueron detectados principalmente en muestras de *C. kujete*, mientras que los haplotipos XIX a XXXII corresponden sobre todo a *C. alata*. Por su parte, *C. mirabilis* presentó el haplotipo XIX compartido con las otras dos especies de su género y *P. aculeata* presentó el haplotipo XVI compartido también con las dos especies mexicanas de *Crescentia* (Fig. 2, Tabla 4).

Los haplotipos más abundantes fueron el I (*C. kujete* de huertos), XIX (*C. alata* silvestre y de huertos, *C. kujete* de huerto y *C. mirabilis*), VII (*C. kujete* silvestre) y XVI (*C. kujete* silvestre, *C. alata* silvestre y *Parmentiera*, Tabla 4). La abundancia del haplotipo XVI compartido por los géneros *Crescentia* y *Parmentiera*, y ubicado entre el grupo de haplotipos característico de *C. kujete* (en tonos azules) y el grupo característico de *C. alata* (en tonos amarillos y cafés) sugiere que éste es un haplotipo ancestral. Lo mismo puede pensarse del haplotipo XIX (amarillo), el cual se encuentra adicionalmente representado en *C. mirabilis*, así como en *C. kujete* en únicamente dos muestras provenientes de Coahuayana Mich. (*Coa*) y Chetumal Q. Roo (*Che*), aunque la presencia del haplotipo XIX en la muestra de Coahuayana sugiere un evento de introgresión (véase la siguiente sección).

Tabla 4. Frecuencia de cada haplotipo en las especies analizadas.

| | I | II | III | IV | V | VI | VII | VIII | IX | X | XI | XII | XIII | XIV | XV | XVI | XVII | XVIII | XIX | XX |
|---------------------|-----|----|-----|----|---|----|-----|------|----|---|----|-----|------|-----|----|-----|------|-------|-----|----|
| <i>C. alata</i> | 10 | | | | | | | | | | | | | | | 34 | | 1 | 100 | 1 |
| <i>C. kujete</i> | 153 | 1 | 27 | 6 | 1 | 5 | 91 | 1 | 3 | 9 | 1 | 1 | 25 | 2 | 1 | 50 | 3 | | | 2 |
| <i>C. mirabilis</i> | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 1 |
| <i>P. aculeata</i> | | | | | | | | | | | | | | | | 1 | | | | |

Tabla 4. Continuación.

| | XXI | XXII | XXIII | XXIV | XXV | XXVI | XXVII | XXVIII | XXIX | XXX | XXXI | XXXII |
|---------------------|-----|------|-------|------|-----|------|-------|--------|------|-----|------|-------|
| <i>C. alata</i> | 8 | 8 | 1 | 30 | 2 | 1 | 3 | 1 | 22 | 4 | 16 | 1 |
| <i>C. kujete</i> | 1 | 1 | | 4 | | | | | 2 | | | |
| <i>C. mirabilis</i> | | | | | | | | | | | | |
| <i>P. aculeata</i> | | | | | | | | | | | | |

La identificación de estos dos haplotipos ancestrales permite observar que el grupo de los haplotipos I a V característicos de *C. kujete* proveniente de huertos se encuentra en una posición derivada y altamente diferenciada con respecto al resto. El haplotipo II, cercanamente emparentado con el haplotipo I característico de la mayoría de las muestras de *C. kujete* de huerto mexicanas, fue identificado en la muestra proveniente de Perú.

Adicionalmente, dos haplotipos resaltan por su ubicación en la parte más externa de la red y por el elevado número de pasos mutacionales que los separan del resto: el haplotipo V

presente en una muestra de *C. kujete* proveniente de la costa del océano Pacífico en Puerto Arista Chis. (sitio *Ari*) que forma parte del grupo de los *C. kujete* cultivados (lo cual coincide con su origen), pero se encuentra a cuatro pasos mutacionales de los haplotipos II y III; el método de análisis de red de medianas deduce adicionalmente la presencia de un haplotipo hipotético no identificado entre éste y los demás haplotipos del grupo (Fig. 2). Por otro lado, el haplotipo XV se encuentra a cuatro pasos mutacionales del haplotipo XIV que forma parte del grupo característico de *C. kujete* silvestre; corresponde a la muestra proveniente de herbario MEXU9 de Venezuela cuya descripción refiere a un individuo silvestre. En este último caso, la gran distancia geográfica que separa a la muestra venezolana del resto de las localidades muestreadas en México sugiere una importante diferenciación entre ellas y explica su distancia genética, así como la inclusión de dos vectores medianos entre ellos (Fig. 2). Es importante destacar que su ubicación en la red es más cercana a los demás haplotipos silvestres mexicanos de *C. kujete* que al grupo de haplotipos de *C. kujete* cultivados. Como se observa en la Fig. 2, es posible sugerir una hipótesis evolutiva con base en uno de los árboles más cortos entre haplotipos representado en la red, seleccionado en función de la distribución geográfica y frecuencia de los haplotipos. En este árbol más corto es más clara la ubicación central de los haplotipos ancestrales XVI y XIX, así como la separación de los haplotipos característicos de *C. kujete* y aquellos de *C. alata*.

Existen otros haplotipos en menor frecuencia característicos de *C. alata* que fueron detectados en un número reducido de individuos de *C. kujete* (haplotipos XXI, XXII, XXIV, XXIX), cuya ubicación geográfica y posición en la red sugiere que se trata de eventos de introgresión, como se analiza en la siguiente sección.

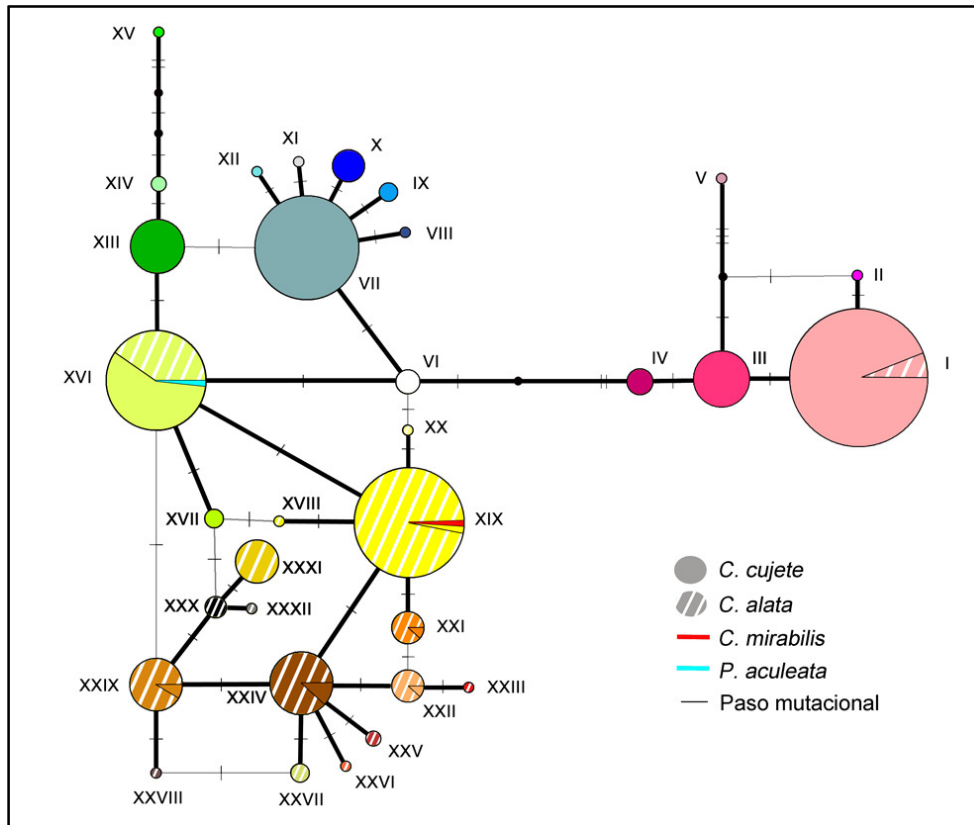


Fig. 2. Red de unión de medianas que muestra las relaciones entre los haplotipos identificados en las muestras; las líneas gruesas señalan uno de los árboles más cortos posibles entre ellos y los puntos negros representan vectores medianos (haplotipos hipotéticos). El tamaño de los círculos es proporcional a la frecuencia de los haplotipos. Nótese que el número de cambios entre un haplotipo y otro está señalado con barras y no proporcionalmente al largo de las ramas. En tonos rosas se muestran los haplotipos de *C. cujete* provenientes de árboles muestreados en huertos (I a V); en tonos azules y verdes (VI a XV principalmente) aquellos detectados en *C. cujete* provenientes de contextos silvestres y en tonos amarillos y cafés (XIX a XXXII) los haplotipos detectados principalmente en *C. alata*.

Distribución geográfica de los haplotipos

La frecuencia de los haplotipos en cada una de las localidades analizadas se muestra en las Figuras 3 y 4, mientras que las frecuencias precisas de los haplotipos en cada sitio pueden consultarse en las Tablas 5 y 6 del Anexo IV.

Se detectaron haplotipos característicos de *C. alata* (XXI, XXII, XXIV, XXIX) en 8 individuos de *C. cujete* (2% del total de la muestra), los cuales provienen de 4 sitios de huerto en la costa Pacífico (Coahuayana Mich. *Coa*, San Mateo del Mar Oax. *Mat*, Zanatepec Oax. *Zan*, Acacoyagua Chis. *Coy*) en simpatria con poblaciones silvestres de *C. alata*. A la inversa, el haplotipo I característico de *C. cujete* proveniente de huertos fue detectado en 10 individuos de *C. alata* (4% del total de la muestra), específicamente de San Mateo del Mar Oax. (*Mat*), donde

existen individuos cultivados de *C. kujete* con dicho haplotipo I y en huertos en Honduras (Figs. 3 y 4). La presencia de estos haplotipos compartidos coincide por lo tanto con eventos de introgresión entre ambas especies.

Las muestras de huertos de *C. kujete* muestran una alta homogeneidad haplotípica, principalmente del haplotipo I presente en el Golfo de México y península de Yucatán, así como en la vertiente del Pacífico. Se observa también homogeneidad en las muestras de Chiapas portadoras del haplotipo III, el cual está distribuido en esta región y en muestras aisladas al norte de Veracruz y península de Yucatán (Fig. 3). La homogeneidad haplotípica de estos sitios muestra que el germoplasma de *C. kujete* se ha dispersado principalmente entre huertos, a nivel regional y a grandes distancias. No así en el caso de *C. alata*, cuyos huertos albergan haplotipos compartidos con sitios silvestres simpátricos (Fig. 4).

Finalmente, la distribución de los haplotipos en los sitios silvestres permite detectar una estructuración geográfica en ambas especies. En *C. kujete* el haplotipo ancestral XVI cuenta con una distribución amplia, pues se le observa principalmente al sur de la península de Yucatán, en las muestras centroamericanas y en la vertiente al Golfo de México. Los haplotipos XIII y XIV se encuentran en el Golfo de México, mientras que los haplotipos VI a XII caracterizan a los sitios del interior y norte de la península de Yucatán. En *C. alata* el haplotipo ancestral XVI se encuentra distribuido principalmente en los sitios de la vertiente al Golfo de México (Huasteca Potosina y centro de Veracruz) y en baja frecuencia en la Meseta Central de Chiapas. Los haplotipos XIX y XXI se observan en los sitios de la cuenca del Balsas y costa central del Pacífico, mientras que los haplotipos XXX a XXXII se encuentran en el límite norte de la distribución de la especie, en Nayarit y Sinaloa. Por otra parte, los haplotipos XXIV, XXIII y XXII corresponden a los sitios del extremo este de la cuenca del Balsas, el Istmo de Tehuantepec y la Meseta Central de Chiapas. Las muestras centroamericanas se caracterizan por portar principalmente el haplotipo XXIX, acompañado de los haplotipos XXVIII y XXXII en baja frecuencia en un sitio de Guatemala.

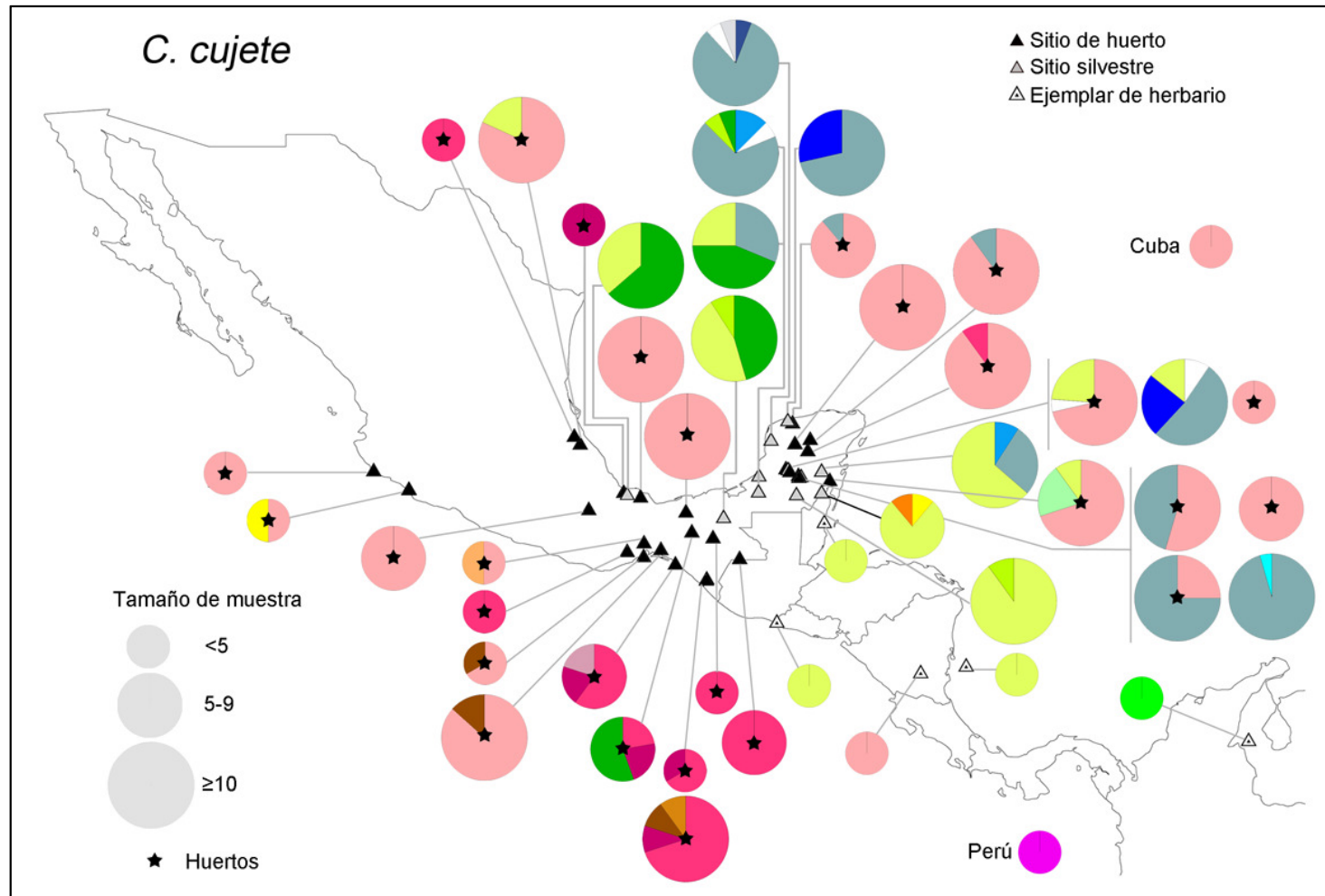


Fig. 3. Distribución de los haplotipos de cpADN en los sitios muestreados de *C. kujete*. Los colores corresponden a los de la Fig. 2. Las frecuencias de los haplotipos en cada sitio pueden consultarse en el Anexo IV.

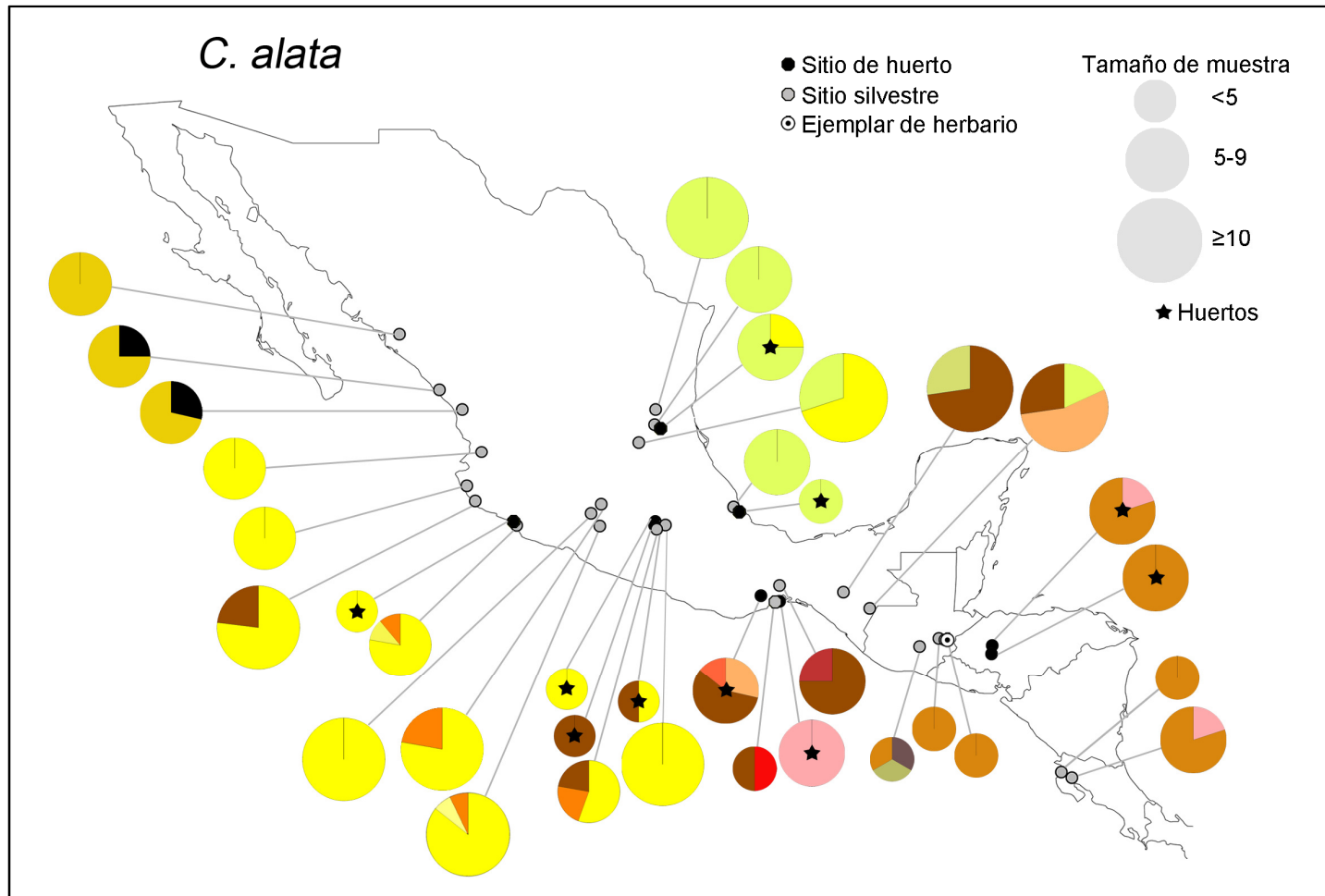


Fig. 4. Distribución de los haplotipos de cpADN en los sitios de *C. alata*.
 Los colores corresponden a los de la Fig. 2. Las frecuencias de los haplotipos en cada sitio pueden consultarse en el Anexo IV.

La distribución diferencial de esta diversidad fue detectada en el análisis de SAMOVA, el cual identifica diversos grupos geográficos de poblaciones. En *C. kujete*, tomando en cuenta todos los sitios (silvestres y huertos), se encontró un máximo valor de diferenciación inter-grupal y de homogeneidad intra-grupal al dividir las poblaciones en $k=6$ grupos (FCT=0.75902, $p<0.01$; véanse los valores de FCT para todos los grupos desde $k=2$ hasta $k=20$ y su significancia en las Tablas 9 y 10, Figs. 1 y 2 del Anexo IV, así como las agrupaciones correspondientes a los tres valores más altos de FCT para ambas especies en las Figuras 3 a 6 del Anexo IV). Casi todas las poblaciones de huerto se agruparon en un solo conjunto a pesar de cubrir un área geográfica muy amplia (Fig. 5A). Sin embargo, algunas poblaciones de huerto se llegaron a diferenciar como grupos únicos (*Pa* en la península de Yucatán, *Cop* al noroeste de Chiapas, *Ari* en la costa de Chiapas, *TCPH* en Veracruz), caracterizados por tener una combinación de haplotipos silvestres y de huerto (por ejemplo *Pa* y *Cop*), lo cual aumenta su distancia tanto a los grupos de poblaciones de huerto como a los de poblaciones silvestres, así como por tener los haplotipos de huerto menos frecuentes III, IV y V (por ejemplo, en las poblaciones *Ari* y *TCPH*). Las poblaciones silvestres mexicanas forman un segundo grupo, seguidas de las poblaciones del sur de México y Centroamérica, y la diferenciación en un grupo único de la muestra venezolana (con alta divergencia genética y geográfica; Fig. 5). El resultado con el algoritmo de Monmonier sigue un patrón equivalente, dado que la primer barrera separa al sitio de huerto *Lim*, caracterizado por contar con una combinación de haplotipos cultivados y silvestres (Fig. 6A). Posteriormente, las siguientes barreras corresponden a áreas que separan grupos adyacentes de poblaciones silvestres y poblaciones de huerto: los huertos al norte del Istmo y los huertos del Istmo y Chiapas –entre los cuales queda aislada la población silvestre *TCPS*–, las silvestres del Golfo y sur de la península, los huertos del norte de la península, y finalmente los sitios silvestres de Centroamérica (Fig. 6A). Al tomar en cuenta sólo los sitios silvestres de *C. kujete*, con el SAMOVA el valor más alto de FCT corresponde a 2 grupos (FCT= 0.88129, $p<0.01$), en el que las poblaciones mexicanas forman un solo conjunto agrupándose con algunas poblaciones centroamericanas (Fig. 5B). El algoritmo de Monmonier identifica barreras primero en el área centroamericana, lo cual es acorde con la similitud entre poblaciones mexicanas, y posteriormente diferencia el norte y sur del península de Yucatán, para finalmente diferenciar el sitio *Esc*, que cuenta con una combinación de alelos del norte y sur de dicha península (Fig. 6B, véase también Fig. 3).

En el caso de *C. alata*, al tomar en cuenta todos los sitios muestreados se obtuvieron con el SAMOVA valores máximos de FCT para 18 grupos (FCT= 0.82792, $p<0.01$). Entre ellos destacan claramente tres conjuntos: las poblaciones del centro de México, las del Pacífico norte, las del Golfo de México y las de Oaxaca y Chiapas (Fig. 7A), con la distinción de poblaciones únicas desde Chiapas hasta Centroamérica. Estos patrones se definen también con las barreras definidas por el algoritmo de Monmonier, con la excepción de las poblaciones del Golfo que no son separadas de las del centro de México (Fig. 8A). En ambos análisis hubo poblaciones de huerto mexicanas que se diferenciaron como poblaciones únicas a pesar de su simpatria con las silvestres y que comparten haplotipos con éstas (por ejemplo *Tiz* en el estado de Morelos) o bien por portar el haplotipo I característico de *C. cujete* (p. ej. *MatH* en la costa de Oaxaca). En el caso de las poblaciones silvestres de *C. alata*, los valores máximos de FCT se detectaron en 9 grupos (FCT= 0.80981, $p<0.01$), conservándose el patrón de diferenciación del norte, centro y vertiente al Golfo, así como la separación de las poblaciones de Oaxaca y Chiapas, y las de Guatemala (Fig. 7B), lo cual se observa también con las barreras del algoritmo de Monmonier (Fig. 8B). Cabe mencionar que la muestra *CRPV* de Costa Rica se mantiene siempre como un grupo diferenciado, sin duda debido a que porta también el haplotipo I de *C. cujete* (véase Fig. 4).

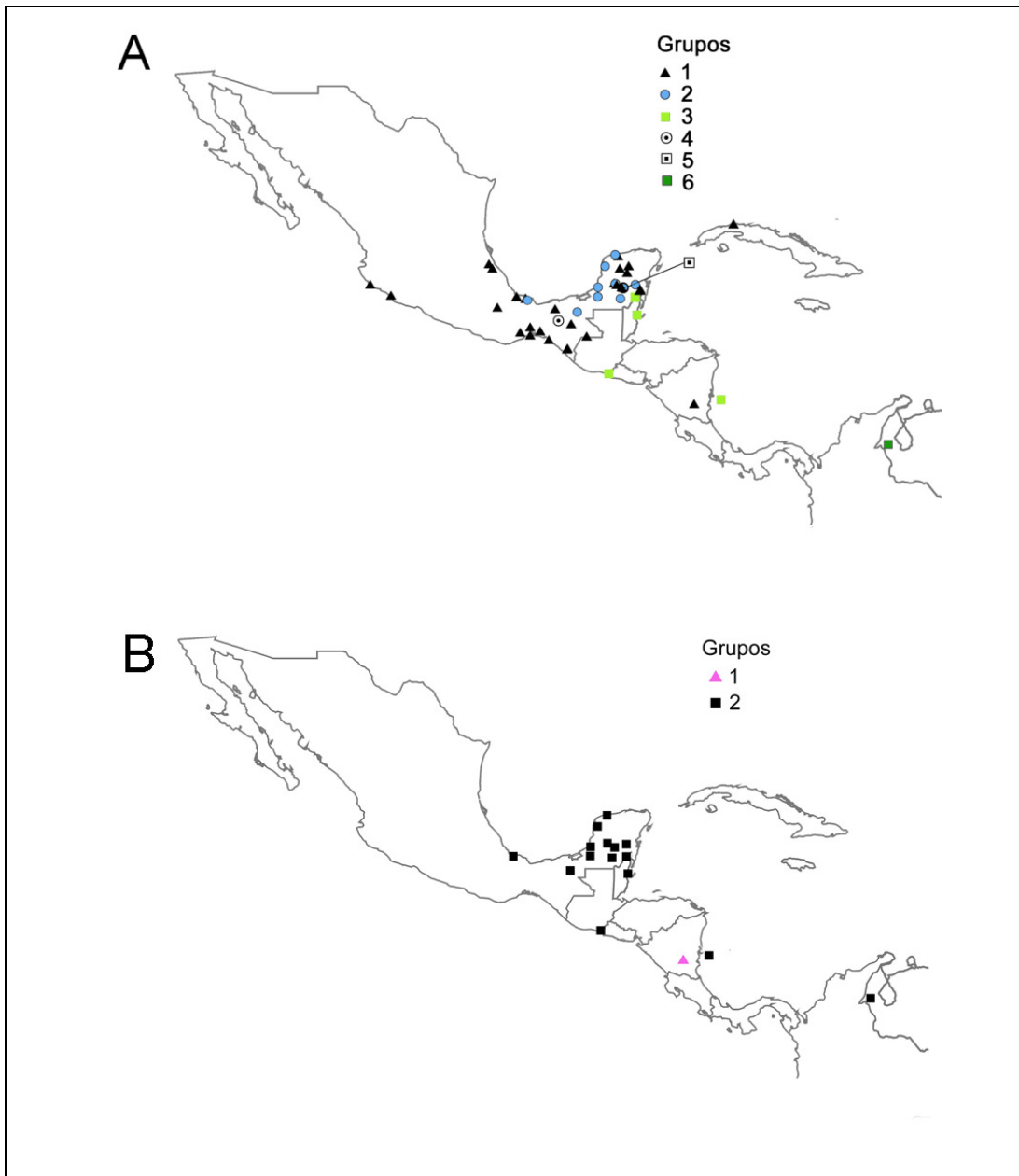


Fig. 5. Grupos identificados con el análisis de SAMOVA en *C. kujete* tomando en cuenta A) todos los sitios, y B) sólo los sitios silvestres.

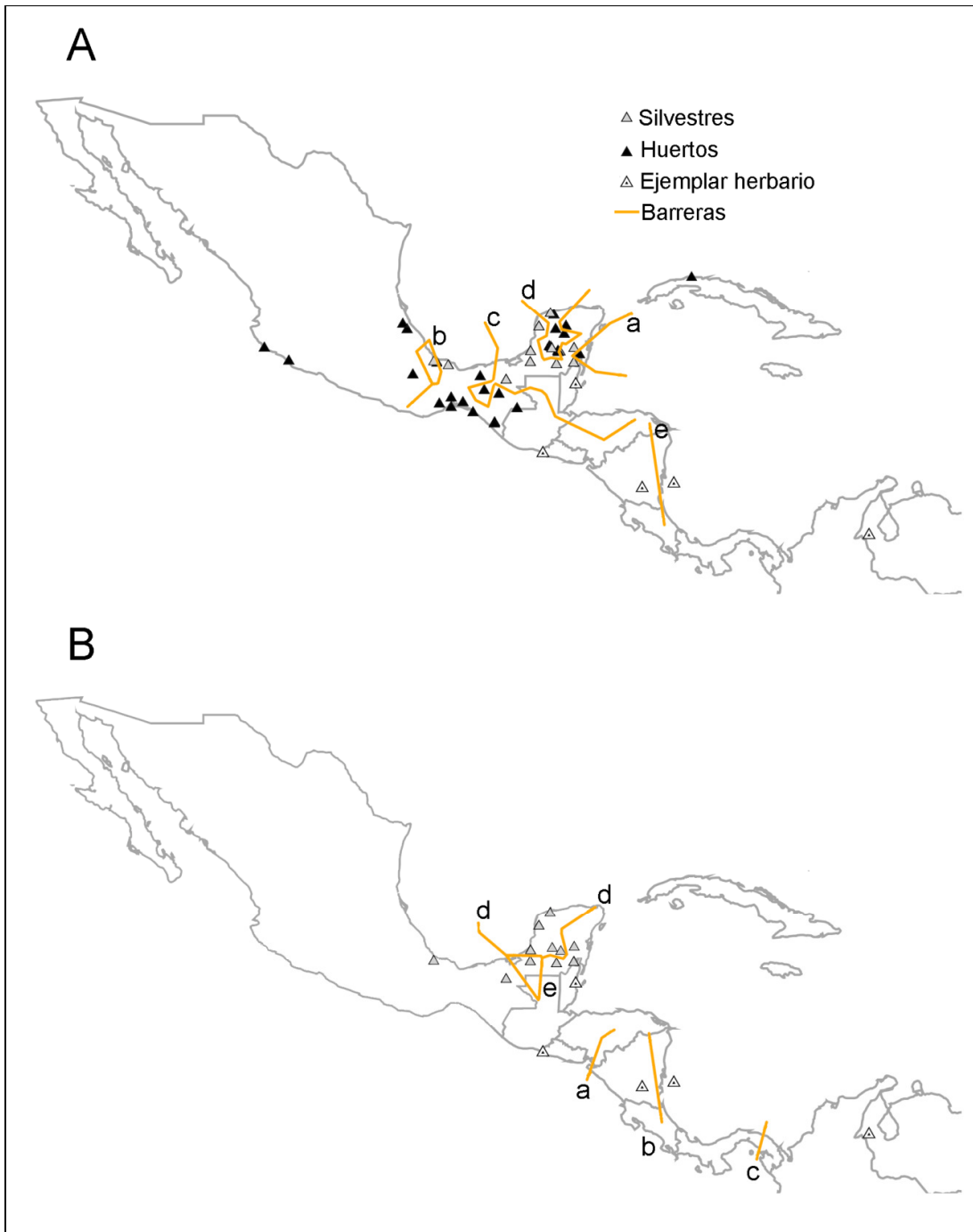


Fig. 6. Barreras genéticas identificadas con el algoritmo de Monmonier en *C. kujete* entre A) todos los sitios, y B) sólo los sitios silvestres. Las letras señalan en orden decreciente cada una de las barreras identificadas.

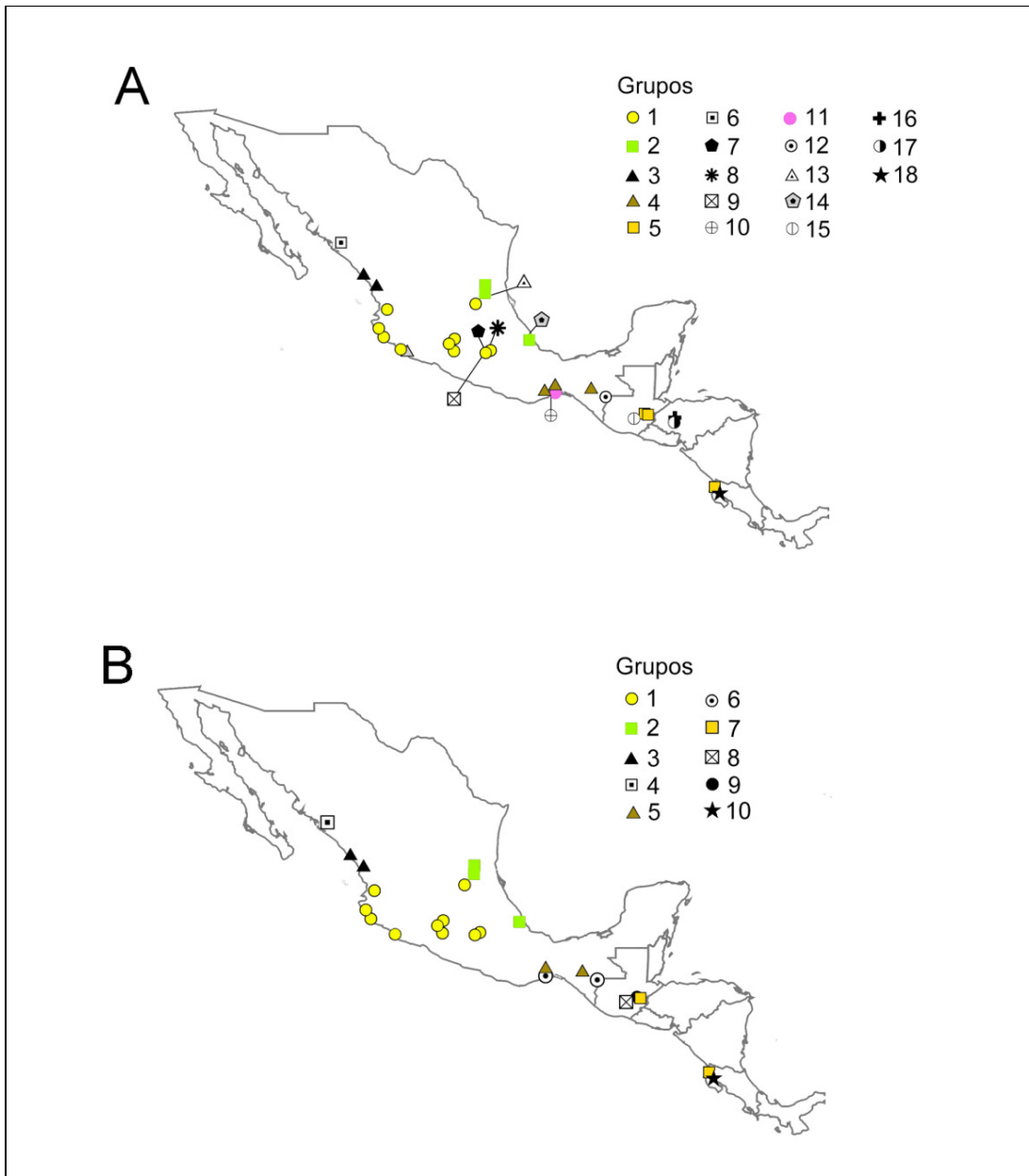


Fig. 7. Grupos identificados con el análisis de SAMOVA en *C. alata* tomando en cuenta A) todos los sitios; y B) sólo los sitios silvestres.

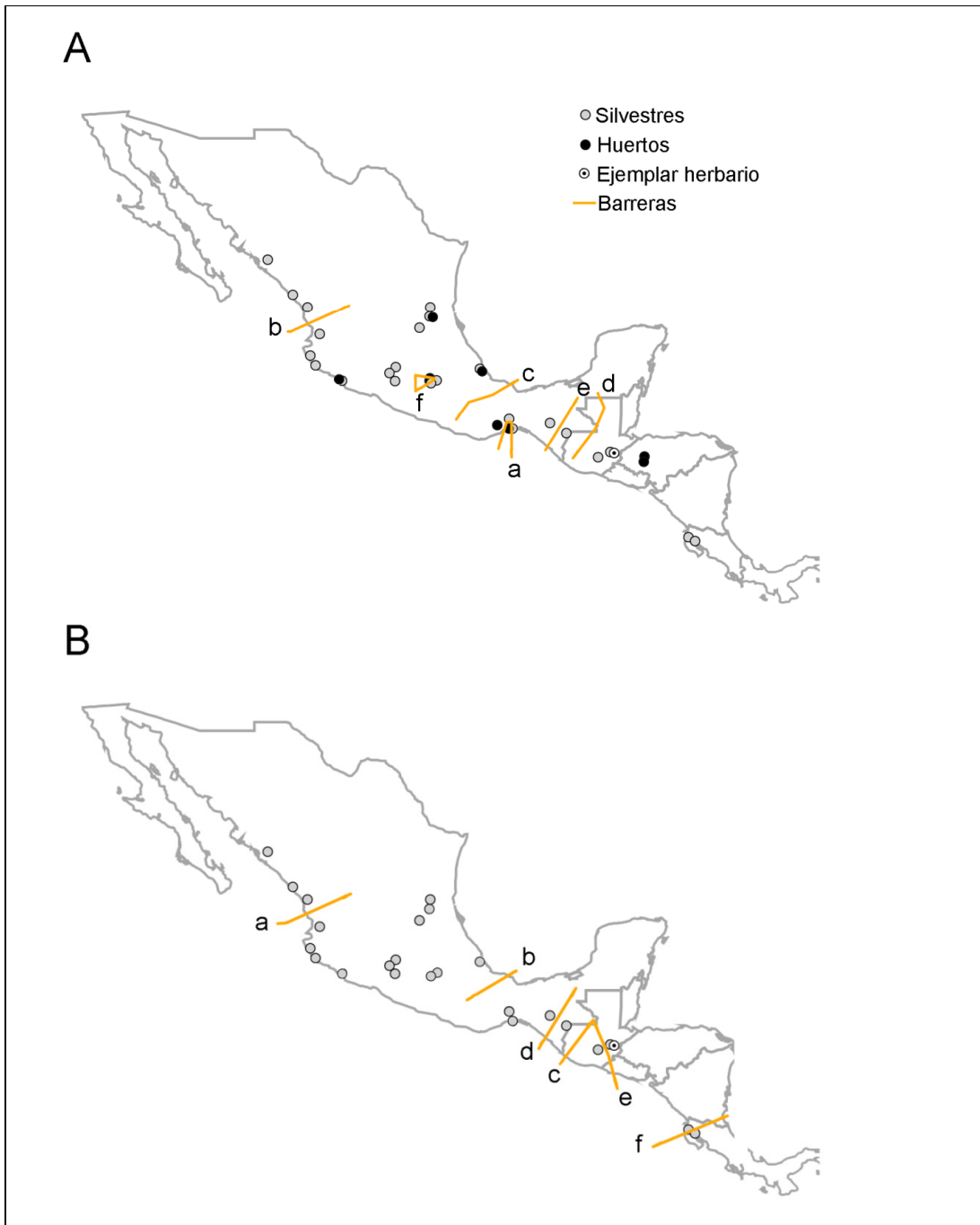


Fig. 8. Barreras genéticas identificadas con el algoritmo de Monmonier en *C. alata* entre A) todos los sitios, B) sólo los sitios silvestres. Las letras señalan en orden decreciente cada una de las barreras identificadas.

En cuanto a los patrones mostrados por las poblaciones silvestres, en ambas especies se detectó un aislamiento por distancia significativo (en *C. cujete* $R=0.578$, $p<0.05$, y en *C. alata* $R=0.469$, $p<0.01$). Asimismo, se observó una distribución unimodal en el número

de diferencias pareadas entre haplotipos, la cual se ajustó al modelo de expansión demográfica (Fig. 9). Se estimó que dicha expansión demográfica sucedió hace $\tau=1.438$ generaciones en *C. kujete* y hace $\tau=0.736$ generaciones en *C. alata* (Fig. 9). El tiempo estimado de la expansión de *C. kujete* fue por lo tanto el doble del de *C. alata*, cuya expansión habría ocurrido más recientemente.

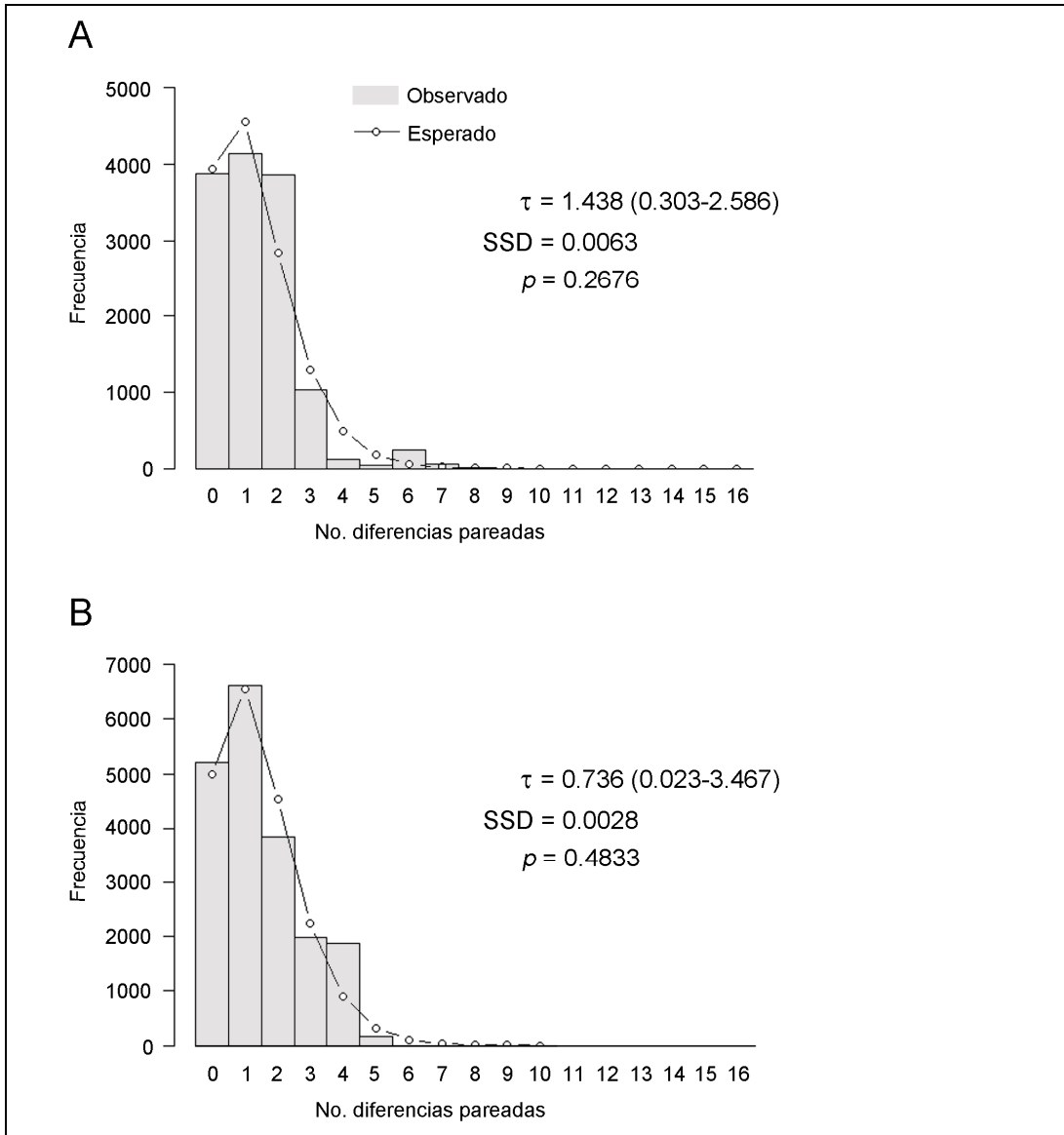


Fig. 9. Análisis de distribución *mismatch* para las poblaciones silvestres de A) *Crescentia kujete* y B) *C. alata*. Los histogramas corresponden a las frecuencias observadas del número de diferencias pareadas entre haplotipos, mientras que las líneas, el valor del estadístico SSD y su ajuste corresponden a un modelo de expansión demográfica sucedido hace τ generaciones (entre paréntesis se muestra el intervalo de confianza al 95% para el parámetro τ observado).

Discusión y conclusiones

Grado de diferenciación geográfica y genealógica entre los linajes cultivados y silvestres

Los resultados obtenidos con el análisis de microsatélites de cpADN muestran una alta diversidad dentro de cada especie ($h=0.767$ en *C. cujete*, $h=0.782$ en *C. alata*, siendo significativamente más alta en *C. alata*), pero la distribución de esta diversidad es contrastante entre ellas. En *C. cujete* se detectó una elevada diferenciación entre los linajes que caracterizan a las muestras provenientes de huertos y a las de origen silvestre, así como el manejo de propágulos tanto vegetativos como sexuales, mientras que en *C. alata* las muestras de huertos comparten sus haplotipos con las de los sitios silvestres locales de cada área muestreada (Fig. 4).

Estos patrones de diferenciación señalan un manejo humano de mayor intensidad en *C. cujete* y, por lo tanto, una selección artificial más intensa mediada a través de la propagación activa, la cual se documentó en 23 de los sitios de huerto muestreados (Tabla 1 del Anexo IV). Este manejo mantiene una composición genética diferencial en las poblaciones silvestres y de huerto a pesar de su simpatria (tanto en el Golfo de México como en la península de Yucatán) y una elevada homogeneidad en los huertos a escala nacional (en el caso del haplotipo I) y regional (en el caso del haplotipo III de Chiapas; Fig. 3). El manejo parece ser también un factor determinante en la dispersión geográfica de un número reducido de linajes entre huertos, a pesar de la disponibilidad de árboles de tipo silvestre. Tal diferenciación, además de percibirse cualitativamente (Fig. 3), se detectó mediante el índice R_{st} que señala la presencia de haplotipos emparentados dentro de las poblaciones, el análisis de varianza molecular (AMOVA) que ubica más del 70% de la variación de la especie entre sitios de huertos y silvestres, así como mediante los análisis de SAMOVA y el algoritmo de Monmonier en los que las poblaciones de huerto se integran en grupos diferenciados de aquellos formados por las poblaciones silvestres.

En comparación con otras especies domesticadas, si bien hay pocos datos de cpADN directamente comparables (Tabla 5), se observa que las especies mesoamericanas del género *Crescentia* en estado cultivado poseen una alta diversidad haplotípica, aunque en el caso de *C. cujete* esta diversidad se debe en gran medida a la incorporación de haplotipos silvestres locales (véase más adelante). En *C. alata* la estructuración de las poblaciones cultivadas es similar a la de las silvestres ($G_{st}=0.655$

vs. 0.645), lo cual es acorde a la ausencia de diferenciación entre estos dos tipos de población y al uso de germoplasma local en los huertos. En cambio, las poblaciones de huerto de *C. cujete* poseen niveles de estructuración mayores que las silvestres ($G_{st}=0.518$ vs. 0.384), patrón documentado con AFLPs nucleares en *Spondias purpurea*, especie propagada vegetativamente ($G_{st}=0.331$ vs. 0.254 en poblaciones de huertos y silvestres, respectivamente; Miller y Schall 2006). En este último caso, la propagación vegetativa podría ser la responsable de generar poblaciones más homogéneas con una mayor proporción de varianza distribuida entre poblaciones (Miller y Schaal 2006). Sin embargo, los mayores valores de estructuración en poblaciones cultivadas de *C. cujete* parecen estar también asociados a la incorporación de haplotipos locales, pues cualitativamente su composición es muy homogénea (Fig. 3) y tanto el análisis de SAMOVA como el algoritmo de Monmonier las agrupan. Las poblaciones cultivadas de vid (*Vitis vinifera*) se caracterizan precisamente por tener esta clase de patrón, en que las poblaciones cultivadas presentan menores niveles de estructuración que las silvestres ($G_{st}=0.169$ vs. 0.353; Arroyo-García et al. 2006) debido a la difusión de un número reducido de linajes cultivados entre regiones del Mediterráneo, la cual ha actuado como fuerza homogenizadora (Imazio et al. 2006; This et al. 2006). Por lo tanto, el solo modo de propagación no es necesariamente un indicador de la estructuración de los linajes de cpADN de las poblaciones bajo cultivo, sino que deben tomarse en cuenta los fenómenos de dispersión humana de germoplasma.

Sin embargo, si bien en *C. cujete* la propagación vegetativa y la selección basada en material de huertos es un factor determinante en el mantenimiento de la diferenciación entre sitios silvestres y de huerto, la tolerancia de individuos espontáneos y la siembra de semillas documentadas en 16 de los 28 de los sitios de huertos (57%) tanto de la vertiente al Golfo como la del Pacífico (Tabla 1 del Anexo IV) permite la incorporación de haplotipos silvestres a las pozas génicas cultivadas. En la vertiente al Atlántico 9 de los 14 sitios de huertos presentaron haplotipos silvestres en frecuencias de 10% (sitio *Yax*) hasta 75% (sitio *Ek*). Esto señala que la estrecha relación documentada en el área maya (Capítulo 2) entre propagación, manejo de la variabilidad intraespecífica disponible e interacciones entre pozas génicas silvestres y cultivadas se presenta en una escala geográfica más amplia.

Tabla 5. Diversidad y estructuración de haplotipos de cpADN en algunas especies perennes domesticadas. SSRs: microsatélites; *HD*: diversidad haplotípica; *h*: índice de diversidad haplotípica de Nei (1987); *Gst*: índice haplotípico de diferenciación poblacional basado en alelos no ordenados (Pons y Petit 1996).

| Especie | Marcador | No. haplotipos | Diversidad haplotípica | Estructuración | Referencia |
|--|----------|----------------|-------------------------|-------------------|---------------------------|
| <i>Olea europaea</i> | SSRs | 4 | - | <i>Fst</i> =0.72 | Besnard et al. 2002 |
| <i>Vitis vinifera</i> subsp. <i>silvestris</i> (silvestre) | SSRs | 5 | <i>HD</i> =0.2781 | <i>Gst</i> =0.631 | Grassi et al. 2006; |
| | | 8 | <i>h</i> =0.03-0.44 | <i>Gst</i> =0.353 | Arroyo-García et al. 2006 |
| <i>Vitis vinifera</i> subsp. <i>vinifera</i> (cultivada) | SSRs | 6 | <i>HD</i> =0.185-0.7364 | - | Imazio et al. 2006 |
| | | 8 | <i>h</i> =0.27-0.43 | <i>Gst</i> =0.169 | Arroyo-García et al. 2006 |
| <i>Corylus avellana</i> | - | 5 | - | <i>Gst</i> =0.89 | Lascoux et al. 2004 |
| <i>Spondias purpurea</i> (silvestre) | AFLPs | - | - | | Miller y Schall 2006 |
| <i>Spondias purpurea</i> (cultivada) | AFLPs | - | - | | Miller y Schall 2006 |
| <i>Crescentia cujete</i> (silvestre) | SSRs | 15 | <i>h</i> =0.7102 | <i>Gst</i> =0.384 | - |
| <i>Crescentia cujete</i> (cultivada) | SSRs | 14 | <i>h</i> =0.5277 | <i>Gst</i> =0.518 | - |
| <i>Crescentia alata</i> (silvestre) | SSRs | 16 | <i>h</i> =0.7385 | <i>Gst</i> =0.645 | - |
| <i>Crescentia alata</i> (cultivada) | SSRs | 7 | <i>h</i> =0.8350 | <i>Gst</i> =0.655 | - |

Es notorio que estos procesos de flujo génico, además de presentarse en el Golfo de México y la península de Yucatán donde los huertos coexisten con poblaciones silvestres de *C. cujete* (Fig. 1), se presentan también con *C. alata* en la costa del Pacífico. La ausencia de poblaciones silvestres de *C. cujete* en la vertiente al océano Pacífico y la composición haplotípica de los huertos (Fig. 3) señalan que la especie ha sido introducida en esa región. El Istmo de Tehuantepec resalta como un área de interés, ya que se trata de la zona de contacto entre ambas vertientes, con ambas especies coexistiendo en los huertos donde se toleran individuos espontáneos y se siembran semillas también de ambas especies (Tabla 1 del Anexo IV). Además existe en la región una rica cultura en torno a la elaboración de recipientes de *Crescentia* (obs. pers.); se trata precisamente del área en la que los haplotipos de cpADN señalan que ha habido mayor grado de introgresión con *C. alata* (Fig. 3).

El flujo génico se ha dado también, aunque en menor grado, en la dirección contraria, pues en los sitios *Mat* y *HonC* se detectaron individuos de *C. alata* provenientes de huertos con el haplotipo I característico de los individuos cultivados de *C. cujete*. Si bien la existencia de híbridos de ambas especies había ya sido indicada previamente por Gentry (1980), los resultados del presente estudio muestran que el manejo humano puede facilitar e intensificar estos procesos. Por otra parte, cabe hacer

notar que la distribución de ambas especies en México es particularmente contrastante (una en cada vertiente, separadas por las cadenas montañosas que recorren el país), pero es probable que este fenómeno se presente en otras regiones como en Centroamérica, donde las barreras naturales son menores y ambas especies son también utilizadas por las comunidades (véase Capítulo 1).

En general, estas evidencias refuerzan la relevancia que tienen los procesos de introgresión facilitados por el manejo humano en taxa perennes bajo domesticación. Éstos suceden porque el germoplasma manejado entra en contacto con poblaciones silvestres locales de las cuales estaba previamente aislado, así como con otras especies bajo domesticación que también son aprovechadas en los huertos (véase por ejemplo el caso de *Leucaena* en Hughes et al. 2007, y de *Stenocereus* en Cruse-Sanders et al. 2013). Las evidencias genéticas y morfológicas muestran que estos procesos de enriquecimiento de la diversidad de las poblaciones bajo domesticación ocurren incluso en especies tradicionalmente propagadas por vía vegetativa como el olivo (*Olea europaea*, Besnard y Bervillé 2002; De Caraffa et al. 2002), el dátil (*Phoenix dactylifera*, Elshibli y Korpelainen 2008), la vid (*Vitis vinifera*, Lopes et al. 2009; Cipriani et al. 2010; Riahi et al. 2012), el higo (*Ficus carica*, Aradhya et al. 2010), cactáceas columnares (Otero-Arnaiz et al. 2005), nopales (*Opuntia* spp., Reyes-Aguero 2005) y magueyes (*Agave* spp., Vargas-Ponce et al. 2009), así como en especies propagadas sexualmente como el aguacate (*Persea americana*) y la palma pejíbaye (*Bactris gasipaes*; Adin et al. 2004; Cole et al. 2007; Chen et al. 2009; véase Anexo I).

Dado que la incorporación de genotipos silvestres locales se encuentra ligada a mayores valores de diversidad haplotípica h en los sitios de huertos (Tabla 2), puede afirmarse que éstos están actuando en ambas especies como reservorios de diversidad, lo cual se ha documentado en otras especies perennes domesticadas templadas y tropicales como el higo (Achtak et al. 2010) y la ciruela (Miller y Schaal 2006). Sin embargo, la complejidad geográfica de la distribución de los haplotipos silvestres (Fig. 3) y la diversidad de estrategias de propagación a lo largo y ancho del área en que se distribuyen los huertos (véase Tabla 1 del Anexo IV) muestran que estos procesos son dinámicos y espacialmente variables.

En *C. alata* no se detectó una diferenciación tan elevada entre poblaciones de huerto y silvestres, pues presentan haplotipos compartidos. De hecho, su composición haplotípica varía de un sitio de huerto a otro, pues está asociada a la estructura filogeográfica silvestre subyacente (Figs. 4, 6 y 8), lo que explica que los sitios de

huertos de *C. alata* mantengan una diversidad mayor que los de *C. cujete* ($h=0.835$ vs. 0.527 respectivamente) y que en el AMOVA la mayor parte de la varianza se encuentre entre poblaciones dentro de cada categoría huerto/silvestre. Sin embargo, resulta notorio que su índice R_{st} no fuera significativo (Tabla 2), lo cual puede deberse a su pequeño tamaño de muestra ($N=2$ a 8).

La presencia de haplotipos compartidos y la heterogeneidad en la composición haplotípica de los huertos no significa que *C. alata* no esté siendo manejada y sujeta en cierto grado a un proceso de domesticación, sino que éste tal vez sea de menor intensidad y que la fuente del germoplasma es local en vez de foránea. La presencia común de la especie en áreas rurales, la tolerancia de individuos espontáneos y siembra de semillas en seis sitios (Tabla 1 del Anexo IV), así como las evidencias históricas y etnobotánicas (véase Capítulo 1), sugieren que esta especie está siendo manejada. Sin embargo, para evaluarlo sería necesario analizar con mayor detalle a escala local el grado de diferenciación morfológica que hay entre poblaciones silvestres y de huerto, así como las prácticas de manejo a las que están siendo sujetos los individuos de los huertos, de manera similar a como en este proyecto se efectuó con *C. cujete* (Aguirre-Dugua et al. 2012, 2013).

Extensión de la dispersión artificial y origen(es) del germoplasma de huertos

En el caso de *C. alata* no cabe duda que las poblaciones silvestres locales son la fuente del germoplasma, por lo que la dispersión debido al manejo humano ha sido principalmente local y no ha modificado de manera drástica la estructura de las poblaciones silvestres. Asimismo, esta especie no ha sufrido un cuello de botella en la diversidad de las poblaciones que constituyen los huertos, como tradicionalmente se asume en los procesos de domesticación.

En contraste, en *C. cujete* existe una gran distancia genética entre los haplotipos de huertos y aquellos característicos de las poblaciones silvestres mexicanas, así como una elevada homogeneidad en huertos enriquecida a nivel local con la incorporación de materiales silvestres regionales. Esto señala que el germoplasma de *C. cujete* se ha dispersado de huerto en huerto en escalas geográficas más amplias, introduciéndose a nuevas regiones en las que entra en contacto con poblaciones silvestres no seleccionadas. La notoria diferencia morfológica en caracteres tanto vegetativos como reproductivos detectados en las poblaciones de la península de Yucatán (Aguirre-Dugua

et al. 2013, véase Capítulo 3) fue también observada cualitativamente en el resto de las poblaciones incluidas en el estudio, lo cual es acorde con los patrones de cpADN.

El manejo humano ha modificado por lo tanto la estructura filogeográfica de la especie, pero dado que el propio manejo mantiene los linajes de huerto y silvestres claramente separados, a pesar de que existe flujo génico vía semilla de poblaciones silvestres hacia los huertos no parece existir dicho flujo en la dirección contraria. Sin embargo, sería necesaria la utilización de marcadores nucleares para definir si las poblaciones silvestres están incorporando genes de las poblaciones de huerto vía polen.

En el caso de los huertos, se observa un patrón de cuello de botella en *C. cujete* asociado a la dispersión humana de propágulos vegetativos y sexuales. Dicho cuello de botella está asociado a la introducción de los linajes de huerto a nuestro país, es decir, por un proceso de difusión, según indican los tres pasos mutacionales que separan al haplotipo cultivado I del haplotipo silvestre mexicano VI (Fig. 2) distribuido en el centro de la península de Yucatán. Desafortunadamente, no es posible proponer algún origen específico para el haplotipo I ya que las pocas muestras provenientes de Centro y Sudamérica incluidas en el análisis no se asocian de manera cercana a él. La muestra venezolana (MEXU9) que parece ser de origen silvestre no se encuentra relacionada con los haplotipos cultivados en México; por otro lado, la muestra de Perú sí es más cercana, pero dado que es un ejemplar de jardín botánico, es difícil establecer si se trata originalmente de germoplasma silvestre o proveniente de algún huerto bajo manejo humano.

Otros elementos que enriquecen la discusión respecto al posible origen del germoplasma de *C. cujete* cultivado en México es la gran diversidad morfológica de *C. cujete* en Colombia reportada por Arango-Ulloa et al. (2009) en las regiones Amazonas, Caribe y Orinoco. Estos autores reportan ocho formas básicas de frutos, de las cuales en México sólo detectamos cuatro variantes bajo cultivo, por lo que su baja diversidad coincide con el probable evento de cuello de botella asociado a la introducción de este germoplasma a nuestro país. La evidencia histórica sugiere también una profunda historia de uso en la costa de Ecuador, pues en esta región los árboles de *Crescentia* son muy comunes hoy en día y se ha hallado cerámica que hace alusión a sus frutos con una antigüedad de 2850 a 1850 AP (Weinstein 2007); *C. cujete* se cuenta también entre las especies utilizadas hoy en día en dicho país por los grupos indígenas Huao, Kichwa, Chá palaa y Paicoca (Rios et al. 2007). En Brasil, los pueblos indígenas de la cuenca del Río Negro, tributario del Amazonas, cultivan también *C. cujete* por medio de esquejes y

semillas y cuentan con una rica cultura de uso de sus recipientes (tanto redondos como alargados; P. Ambrosio, com. pers.). De hecho, los pueblos indígenas de Sudamérica cuentan con sus propios nombres para *Crescentia* (véase por ejemplo Rios et al. 2007 y Meulenbergh 2011), por lo que estudios lingüísticos podrían también aportar elementos en torno al origen y dispersión de esta especie (véase en *Phaseolus*, Brown 2006, y en *Capsicum annuum*, Kraft et al. 2014).

En conjunto, estos elementos sugieren a la región noroeste de Sudamérica (Colombia-Ecuador) como un hipotético centro de origen de los haplotipos cultivados en México y otras áreas de Centro y Sudamérica, pero esta es por el momento una hipótesis que requiere estudios genéticos adicionales, así como mayores evidencias históricas y etnobotánicas en torno al manejo de esta especie en dicha región. Las evidencias genéticas obtenidas en este estudio señalan que el movimiento de los linajes domesticados de *Crescentia* a escala continental en tiempos históricos puede ser equivalente al que sufrieron otras especies perennes domesticadas de origen neotropical como el cacao (*Theobroma cacao*, Motamayor et al. 2002) y la piña (*Ananas comosus*, Smartt y Simmonds 1995).

Estructura de las poblaciones silvestres

Se detectó una clara estructuración de los haplotipos de cpADN en las poblaciones silvestres de ambas especies tanto cualitativamente como con los análisis de SAMOVA y el algoritmo de Monmonier (Figs. 3, 4, 6-9).

En el caso de *C. cujete* se observa cualitativamente que la composición genética de las poblaciones del Golfo de México (haplotipos XVI, XIII y XVII) es distinta a las del norte y este de la península de Yucatán (haplotipos XVII y VIII-XII; Fig. 3), lo cual coincide con dos provincias fisiográficas: la Llanura Costera del Golfo Sur y la Península de Yucatán (INEGI 2001). Aunque el SAMOVA no diferencia ambos grupos, con el algoritmo de Monmonier sí se define una barrera entre estas áreas. En *C. cujete* el haplotipo ancestral XVI (verde claro) se encuentra distribuido en las poblaciones más sureñas (Veracruz, norte de Chiapas, sur de Campeche y sur de Quintana Roo) y en Centroamérica, lo cual coincide con la distribución de dicho haplotipo XVI en *C. alata* en el centro de Veracruz y la Huasteca. Precisamente, el SAMOVA define un grupo conformado por las poblaciones silvestres de *C. alata* en el Golfo de México (Fig. 8) caracterizado por los haplotipos ancestrales XVI y XIX, lo cual es acorde con la

propuesta de Rzedowski y Calderón de Rzedowski (1993) de que estas áreas disyuntas corresponden a zonas relictuales de una distribución históricamente más amplia.

Los grupos definidos para las poblaciones de *C. alata* en la costa del Pacífico corresponden a los haplotipos característicos de esta especie (véase Fig. 2). En esta especie la estructuración observada se encuentra principalmente asociada a la distribución del haplotipo ancestral XIX (en amarillo, cuenca del Balsas y oeste de México) y la diferenciación de áreas más pequeñas al norte (Nayarit, Sonora y Sinaloa) y al sur de México (Chiapas) y Centroamérica (Figs. 4, 7 y 8), estas últimas caracterizadas por presentar haplotipos derivados. Estos grupos coinciden con la definición de las provincias fisiográficas de la Sierra Madre del Sur, Llanura Costera del Pacífico y Cordillera Centroamericana (INEGI 2001).

En conjunto, la distribución de los haplotipos en la vertiente al Pacífico (Fig. 8) es acorde con el patrón de aislamiento por distancia detectado en *C. alata*, cuyo mayor rango latitudinal puede ser responsable de los niveles de estructuración superiores a los de *C. kujete* ($G_{st}=0.645$ vs. 0.384, Tabla 4).

Así, podemos considerar que la distribución de los linajes de cpADN corresponde a la estructuración ‘natural’ tanto de *C. kujete* como de *C. alata*. La detección de aislamiento por distancia, la expansión demográfica en ambas especies con el análisis de la distribución *mismatch* y grupos en forma de estrella en la red de haplotipos (Fig. 2) podría estar asociada a una distribución históricamente más amplia asociada a una expansión de los tipos de vegetación xéricos durante el último periodo glacial pleistocénico, o bien a la expansión de los ambientes sabanoides en el Holoceno debido a las perturbaciones antropogénicas. Debido a que se desconoce la tasa de mutación de los microsatélites de cpADN en *Crescentia*, no es posible calcular en años calendario el periodo de dichas expansiones, aunque sabemos que la expansión de *C. kujete* se presentó el doble de tiempo atrás que la de *C. alata*. Puede hipotetizarse que la expansión de finales del Pleistoceno podría corresponder a *C. kujete*, mientras que *C. alata* podría haberse expandido en el Holoceno. Alternativamente, si *C. alata* se expandió a finales del Pleistoceno, la expansión de *C. kujete* sería aún más profunda.

Aunque la polinización zoófila de *Crescentia* disminuye la probabilidad de detectar su presencia en los registros palinológicos, existen evidencias que señalan la distribución más amplia de las sabanas a finales del Pleistoceno, basadas principalmente en la abundancia de polen de la familia Poaceae así como de *Byrsonima* sp. y *Curatella americana* (Leyden 1984; Markgraf 1989; Piperno 2006; Montoya et al. 2011), árboles

que acompañan comúnmente en la actualidad a *Crescentia* (véase Capítulo 1). Si bien existen evidencias contradictorias respecto a los cambios en los patrones de precipitación en el Neotrópico durante el último máximo glacial (ca. 21 000 AP; Ramírez-Barahona y Eguiarte 2013), algunas áreas de México y Centroamérica presentaron condiciones de menor temperatura, mayor sequía y menor precipitación que en la actualidad (Leyden 1984; Markgraf 1989; Bush y Colinvaux 1990; Piperno y Pearsall 1998; Metcalfe et al. 2000; Ruter et al. 2004; Ramírez-Barahona y Eguiarte 2013), lo cual habría favorecido tanto a las sabanas como a las selvas secas y otros tipos intermedios de vegetación propios de climas estacionales (que pudieron también incluir elementos montanos de origen templado). Las sabanas habrían ampliado su distribución (por ejemplo en el norte de Centroamérica, Kellman 1975) no sólo gracias al clima sino también a la interacción con suelos pobres e incendios recurrentes que retrasaron el establecimiento de elementos arbóreos (Kellman 1984; Hodell et al. 1995). Estos ambientes abiertos habrían sido el hogar de los grandes herbívoros del Pleistoceno propuestos por Janzen y Martin (1982) como los dispersores coadaptados de los frutos indehiscentes de *Crescentia*, cuya presencia habría ayudado a mantener un dosel abierto en esta clase de vegetación (Piperno y Pearsall 1998). Los géneros *Rhynchotherium*, *Stegomastodon* y *Cuverionus*, por ejemplo, son miembros de Gomphotheriidae que parecen haber estado adaptados a la vida en pastizales abiertos (Arroyo-Cabrales et al. 2007).

Posteriormente, a inicios del Holoceno, las condiciones más húmedas favorecieron el establecimiento de la vegetación contemporánea (aunque dicha transición no fue gradual, sino que se presentaron distintos periodos alternados de mayor y menor humedad y temperatura en cada región; Markgraf 1989; Hodell et al. 1995; Piperno y Pearsall 1998; Metcalfe et al. 2000; Carrillo-Bastos et al. 2010). Por ello, es posible considerar que en el periodo interglacial húmedo actual las sabanas se encuentran en su extensión mínima, fragmentadas y aisladas unas de otras (Pennington et al. 2004). En este caso lo esperado es que la distribución de *Crescentia* se viera fragmentada en poblaciones aisladas, con una subsecuente reducción de sus tamaños efectivos poblacionales y niveles de diversidad genética por la ocurrencia de cuellos de botella a nivel local; estos efectos podrían verse agravados por la extinción de la megafauna, sus posibles dispersores naturales. Sin embargo, es probable que el inicio de las actividades antropogénicas redujera el efecto de las nuevas condiciones holocénicas con la acción del fuego y la deforestación, favoreciendo la persistencia de las sabanas y

ambientes abiertos, pues los registros palinológicos muestran una elevada proporción de *Byrsonima* y Poaceae en los últimos 3 000 a 4 000 años (Metcalf et al. 2000; Piperno 2006) asociados a polen de *Zea mays* (Leyden et al. 1998) así como a restos de carbón que señalan incendios recurrentes (Leyden 1984; Montoya et al. 2011), utilizados no sólo en las prácticas agrícolas sino también para actividades de cacería por los primeros grupos humanos que habitaron el continente (Piperno 2006). Efectivamente, Puig (1974, citado por Rzedowski 1978) considera que las comunidades dominadas por *Crescentia* son una degradación de bosques espinosos y bosques caducifolios; Sarukhán (1968, citado por Rzedowski 1978) propone que la mayoría de las sabanas de México tiene un origen secundario por su asociación con las actividades humanas; reconoce que sólo habrían existido originalmente “pequeños focos” de sabana primitiva natural a partir de los cuales ésta se habría extendido gracias a los cambios causados en el suelo por el desmonte y los incendios.

Por lo tanto, es posible esperar que hoy en día estas especies hayan conservado la estructura filogeográfica que tenían cuando su distribución era continua y más amplia, y que cuenten con niveles de diversidad genética elevados debido a la ausencia de cuellos de botella.

La distribución actual característica de *Crescentia* en poblaciones dominantes en pequeñas áreas (obs. pers., Miranda y Hernández-Xolocotzi 1963; Rzedowski 1978) podría asimismo corresponder a eventos de crecimiento demográfico en periodos geológicamente recientes, particularmente impulsados en los últimos siglos por la introducción de caballos y vacas (Janzen 1982). En este sentido, debido a que las muestras provenientes de potreros y áreas de ganadería se incluyeron en la categoría de sitio ‘silvestre’, es posible afirmar que la influencia del ganado equino y vacuno (Gentry 1980; Cajas-Giron y Sinclair 2001; Bass 2004) se ha limitado a modificar sólo la abundancia de *Crescentia* en México y Centroamérica en escalas locales/regionales, sin alterar la estructura filogeográfica subyacente. Esto puede deberse a que el consumo de frutos y la dispersión de semillas en las heces así como el uso de los árboles para sombra están basados en los árboles presentes originalmente en esas zonas y a que la dispersión se encuentra limitada a los movimientos del ganado dentro de las propiedades privadas/comunales.

Es importante notar también que la inferencia hacia el pasado de los fenómenos demográficos y espaciales que han experimentado las poblaciones de una especie es muy difícil si se basa exclusivamente en un locus (como puede considerarse a la

molécula de cpADN). Las genealogías como las que se muestran en la Fig. 2 del presente análisis filogeográfico corresponden a un solo proceso genealógico, pero los detalles pueden ser diferentes para la historia que puedan sugerir los loci nucleares, particularmente en lo que toca a la dispersión vía polen. Además, la hipótesis histórica previamente descrita se basa en lo que se ha documentado en torno a las sabanas y pastizales, sobre todo gracias al polen de Poaceae y *Byrsonima*, como se señaló, siendo que distintos taxa que actualmente se encuentran en un mismo tipo de vegetación pueden haber presentado una distribución distinta durante los periodos glaciales, pues fueron las especies, y no los tipos de vegetación, las que respondieron de manera individual a los cambios climáticos que caracterizan al Pleistoceno (Pennington et al. 2004). Por ello, para poder corroborar o refutar el escenario histórico propuesto sería necesario recurrir a los métodos de la filogeografía estadística basados en marcadores nucleares (véase Anexo I). Además, se ha señalado una hipótesis general para ambas especies, siendo que sus diferencias ecológicas (véase Capítulo 1) sin duda matizan la historia de cada una, además de las diferencias en los cambios climáticos regionales que sufrieron la vertiente al océano Atlántico en relación con la del Pacífico (Metcalfé et al. 2000).

Afortunadamente, los datos paleoecológicos disponibles y la historia natural de *Crescentia* proveen de un marco básico de referencia. Si efectivamente estas especies contaron una distribución amplia y tamaños efectivos poblacionales relativamente grandes en los últimos 20 000 años (recordemos también que su polinización es quiropterofílica, lo cual compensa en cierta medida la limitada dispersión de las semillas), es de esperarse que la deriva génica haya sido poco importante (disminuyendo la estocasticidad del proceso genealógico) y que la acción de otros factores evolutivos sea la que haya definido la estructura genealógica que hemos detectado en este estudio. Debido a que los datos paleoecológicos así lo sugieren, es razonable considerar la genealogía obtenida y su estructura como una huella que nos permite aproximarnos a la historia de este género en Mesoamérica (Wakeley 2004; véase Lascoux et al. 2004).

Referencias

- Achtak, H. et al., 2010. Traditional agroecosystems as conservatories and incubators of cultivated plant varietal diversity: the case of fig (*Ficus carica* L.) in Morocco. *BMC Plant Biology*, 10, p.28.
- Adin, A. et al., 2004. Genetic differentiation and trade among populations of peach palm (*Bactris gasipaes* Kunth) in the Peruvian Amazon-implications for genetic resource management. *Theoretical and Applied Genetics*, 108(8), pp.1564–73.
- Aguirre-Dugua, X. et al., 2012. Round and large: morphological and genetic consequences of artificial selection on the gourd tree *Crescentia cujete* by the Maya of the Yucatan Peninsula, Mexico. *Annals of Botany*, 109(7), pp.1297–306.
- Aguirre-Dugua, X., Pérez-Negrón, E. y Casas, A., 2013. Phenotypic differentiation between wild and domesticated varieties of *Crescentia cujete* L. and culturally relevant uses of their fruits as bowls in the Yucatan Peninsula, Mexico. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 9, p.76.
- Aradhya, M.K. et al., 2010. Genetic structure and differentiation in cultivated fig (*Ficus carica* L.). *Genetica*, 138(6), pp.681–94.
- Arango-Ulloa, J. et al., 2009. Diversity of the calabash tree (*Crescentia cujete* L.) in Colombia. *Agroforestry Systems*, 76(3), pp.543–553.
- Arias, D. et al., 2010. Phylogeographic patterns and possible incipient domestication of *Jacaratia mexicana* A. DC. (Caricaceae) in Mexico. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 57(8), pp.1227–1238.
- Arroyo-Cabrales, J. et al., 2007. The proboscideans (Mammalia) from Mesoamerica. *Quaternary International*, 170, pp.17–23.
- Arroyo-García, R. et al., 2006. Multiple origins of cultivated grapevine (*Vitis vinifera* L. ssp. *sativa*) based on chloroplast DNA polymorphisms. *Molecular Ecology*, 15(12), pp.3707–14.
- Avise, J.C., 2009. Phylogeography: retrospect and prospect. *Journal of Biogeography*, 36(1), pp.3–15.
- Avise, J.C., 2000. *Phylogeography: the history and formation of species*, Cambridge: Harvard University Press.
- Bandelt, H.J., Forster, P. y Röhl, A., 1999. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Molecular Biology and Evolution*, 16(1), pp.37–48.
- Bass, J., 2004. Incidental Agroforestry in Honduras: The jicaro tree (*Crescentia* spp.) and pasture land use. *Journal of Latin American Geography*, 3(1), pp.67–80.
- Besnard, G. et al., 2002. *Olea europaea* (Oleaceae) phylogeography based on chloroplast DNA polymorphism. *Theoretical and Applied Genetics*, 104(8), pp.1353–1361.
- Besnard, G. y Bervillé, A., 2002. On chloroplast DNA variations in the olive (*Olea europaea* L.) complex: comparison of RFLP and PCR polymorphisms. *Theoretical and Applied Genetics*, 104(6-7), pp.1157–1163.
- Blancas, J. et al., 2010. Plant management in the Tehuacán-Cuicatlán Valley, Mexico. *Economic Botany*, 64(4), pp.287–302.
- Bost, J.B., 2009. *Edible plants of the Chinantla, Oaxaca, Mexico with an emphasis on the participatory domestication prospects of Persea schiedeana*. University of Florida.

- Brown, A.H.D., 2010. Variation under domestication in plants: 1859 and today. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London, Series B*, 365(1552), pp.2523–2530.
- Brown, C.H., 2006. Prehistoric chronology of the common bean in the New World: the linguistic evidence. *American Anthropologist*, 108(3), pp.507–516.
- Bush, M.B. y Colinvaux, P.A., 1990. A pollen record of a complete glacial cycle from lowland Panama. *Journal of Vegetation Science*, 1, pp.105–118.
- Cajas-Giron, Y.S. y Sinclair, F.L., 2001. Characterization of multistrata silvopastoral systems on seasonally dry pastures in the Caribbean Region of Colombia. *Agroforestry Systems*, 53, pp.215–225.
- De Caraffa, V.B. et al., 2002. Mitochondrial DNA variation and RAPD mark oleasters, olive and feral olive from Western and Eastern Mediterranean. *Theoretical and Applied Genetics*, 104(6-7), pp.1209–1216.
- Carrillo-Bastos, A. et al., 2010. Holocene vegetation and climate history of central Quintana Roo, Yucatán Península, Mexico. *Review of Palaeobotany and Palynology*, 160(3-4), pp.189–196.
- Casas, A. et al., 2007. In situ management and domestication of plants in Mesoamerica. *Annals of Botany*, 100(5), pp.1101–15.
- Chen, H. et al., 2009. Tracing the geographic origins of major avocado cultivars. *Journal of Heredity*, 100(1), pp.56–65.
- Cipriani, G. et al., 2010. The SSR-based molecular profile of 1005 grapevine (*Vitis vinifera* L.) accessions uncovers new synonymy and parentages, and reveals a large admixture amongst varieties of different geographic origin. *Theoretical and Applied Genetics*, 121(8), pp.1569–85.
- Cole, D.M., White, T.L. y Nair, P.K.R., 2007. Maintaining genetic resources of peach palm (*Bactris gasipaes* Kunth): the role of seed migration and swidden-fallow management in Northeastern Peru. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 54(1), pp.189–204.
- Cornille, A. et al., 2012. New insight into the history of domesticated apple: secondary contribution of the European wild apple to the genome of cultivated varieties. *PLoS genetics*, 8(5), p.e1002703.
- Cruse-Sanders, J.M. et al., 2013. Managing diversity: Domestication and gene flow in *Stenocereus stellatus* Riccob. (Cactaceae) in Mexico. *Ecology and Evolution*, 3(5), pp.1340–55.
- Doebly, J.F., Gaut, B.S. y Smith, B.D., 2006. The molecular genetics of crop domestication. *Cell*, 127, pp.1309–1321.
- Dupanloup, I., Schneider, S. y Excoffier, L., 2002. A simulated annealing approach to define the genetic structure of populations. *Molecular Ecology*, 11, pp.2571–2581.
- Elshibli, S. y Korpelainen, H., 2008. Excess heterozygosity and scarce genetic differentiation in the populations of *Phoenix dactylifera* L.: human impact or ecological determinants. *Plant Genetic Resources*, 7(2), p.95.
- Excoffier, L., Laval, G. y Schneider, S., 2005. Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics Online*, 1, pp.47–50.

- Excoffier, L., Smouse, P.E. y Quattro, J.M., 1992. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics*, 131, pp.479–491.
- Fuller, D.Q., 2007. Contrasting patterns in crop domestication and domestication rates: recent archaeobotanical insights from the Old World. *Annals of botany*, 100(5), pp.903–24.
- Gentry, A.H., 1980. Bignoniaceae. Part I. *Flora Neotropica Monograph*, 25, pp.82–96.
- Gentry, A.H., 1974. Coevolutionary patterns in Central American Bignoniaceae. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 61, pp.728–759.
- Gepts, P. et al., 1988. Dissemination pathways of common bean (*Phaseolus vulgaris*, Fabaceae) deduced from phaseolin electrophoretic variability. I. The Americas. *Economic Botany*, 42(1), pp.86–104.
- González-Soberanis, C. y Casas, A., 2004. Traditional management and domestication of tempesquistle, *Sideroxylon palmeri* (Sapotaceae) in the Tehuacán-Cuicatlán Valley, Central Mexico. *Journal of Arid Environments*, 59(2), pp.245–258.
- Grassi, F. et al., 2006. Phylogeographical structure and conservation genetics of wild grapevine. *Conservation Genetics*, 7(6), pp.837–845.
- Gregory, T.R., 2009. Artificial Selection and Domestication: Modern Lessons from Darwin's Enduring Analogy. *Evolution: Education and Outreach*, 2(1), pp.5–27.
- Grose, S.O. y Olmstead, R.G., 2007. Evolution of a charismatic Neotropical clade: molecular phylogeny of *Tabebuia* s.l., Crescentieae, and allied genera (Bignoniaceae). *Systematic Botany*, 32(3), pp.650–659.
- Gunn, B.F., Baudouin, L. y Olsen, K.M., 2011. Independent origins of cultivated coconut (*Cocos nucifera* L.) in the old world tropics. *PloS one*, 6(6), p.e21143.
- Hamrick, J.L. y Godt, J.W., 1996. Effects of life history traits on genetic diversity in plant species. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London: Biological Sciences*, 351, pp.1291–1298.
- Hamrick, J.L. y Godt, M.J.W., 1997. Allozyme diversity in cultivated crops. *Crop Science*, 37(1), pp.26–31.
- Harris, S.A., Robinson, J.P. y Juniper, B.E., 2002. Genetic clues to the origin of the apple. *Trends in Genetics*, 18(8), pp.426–30.
- Hernández-Xolocotzi, E., 1993. Aspects of plant domestication in Mexico: a personal view. In T. P. Ramamoorthy et al., eds. *Biological diversity of Mexico: origins and distribution*. New York: Oxford University Press, pp. 733–753.
- Hodell, D.A., Curtis, J.H. y Brenner, M., 1995. Possible role of climate in the collapse of Classic Maya civilization. *Nature*, 375(6530), pp.391–394.
- Howe, H.F., 1985. Gomphothere fruits: a critique. *American Naturalist*, 125, pp.853–865.
- Hufford, M.B. et al., 2012. Comparative population genomics of maize domestication and improvement. *Nature genetics*, 44(7), pp.808–11.
- Hughes, C.E. et al., 2007. Serendipitous backyard hybridization and the origin of crops. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104(36), pp.14389–94.
- Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática (INEGI), 2001. Provincias fisiográficas 1:1000000. 2ª edición. Aguascalientes.

- Ikegami, H. et al., 2009. Analysis of genetic diversity among European and Asian fig varieties (*Ficus carica* L.) using ISSR, RAPD, and SSR markers. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 56(2), pp.201–209.
- Imazio, S. et al., 2006. Chloroplast microsatellites to investigate the origin of grapevine. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 53(5), pp.1003–1011.
- Janzen, D.H., 1982. How and why horses open *Crescentia alata* fruits. *Biotropica*, 14(2), pp.149–152.
- Janzen, D.H. y Martin, P.S., 1982. Neotropical anachronisms: the fruits the gomphotheres ate. *Science*, 215(1), pp.19–27.
- Kellman, M., 1975. Evidence for Late Glacial Age fire in a tropical montane savanna. *Journal of Biogeography*, 2, pp.57–63.
- Kellman, M., 1984. Synergistic relationship between fire and low soil fertility in Neotropical savannas: a hypothesis. *Biotropica*, 16, pp.158–160.
- Khadari, B. et al., 2005. Contrasted genetic diversity and differentiation among Mediterranean populations of *Ficus carica* L. : A study using mtDNA RFLP. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 52, pp.97–109.
- Kraft, K.H. et al., 2014. Multiple lines of evidence for the origin of domesticated chili pepper, *Capsicum annuum*, in Mexico. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 111(17), pp.6165–70.
- Lascoux, M. et al., 2004. Impact of Ice Ages on the genetic structure of trees and shrubs. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London, Series B*, 359(1442), pp.197–207.
- Léotard, G. et al., 2009. Phylogeography and the origin of cassava: new insights from the northern rim of the Amazonian basin. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 53(1), pp.329–334.
- Leyden, B.W., 1984. Guatemalan forest synthesis after Pleistocene aridity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 81(15), pp.4856–9.
- Leyden, B.W., Brenner, M. y Dahlin, B.H., 1998. Cultural and climatic history of Coba, a lowland Maya city in Quintana Roo, Mexico. *Quaternary Research*, 49, pp.111–122.
- Lins-Neto, E.M.D.F. et al., 2014. Brazilian and Mexican experiences in the study of incipient domestication. *Journal of ethnobiology and ethnomedicine*, 10(1), p.33.
- Londo, J.P. et al., 2006. Phylogeography of Asian wild rice, *Oryza rufipogon*, reveals multiple independent domestications of cultivated rice, *Oryza sativa*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103(25), pp.9578–83.
- Lopes, M.S. et al., 2009. New insights on the genetic basis of Portuguese grapevine and on grapevine domestication. *Genome*, 52, pp.790–800.
- Manni, F., Guérard, E., y Heyer E., 2004. Geographic patterns of (genetic, morphologic, linguistic) variation: how barriers can be detected by “Monmonier’s algorithm”. *Human Biology*, 76(2), pp.173-190.
- Markgraf, V., 1989. Palaeoclimates in Central and South America since 18,000 BP based on pollen and lake-level records. *Quaternary Science Reviews*, 8, pp.1–24.

- Martínez-Torres, Z., 1991. *Estudio taxonómico y palinológico de la familia Bignoniaceae en el Estado de Guerrero*. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Martínez-Castillo, J. et al., 2007. Gene flow and genetic structure in the wild-weedy-domesticated complex of *Phaseolus lunatus* L. in its Mesoamerican center of domestication and diversity. *Crop Science*, 47(1), p.58.
- Matsuoka, Y. et al., 2002. A single domestication for maize shown by multilocus microsatellite genotyping. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 99(9), pp.6080–4.
- Metcalf, S.E. et al., 2000. Records of Late Pleistocene–Holocene climatic change in Mexico — a review. *Quaternary Science Reviews*, 19(7), pp.699–721.
- Meulenber, I.R.M.M., 2011. *Calabashes and bottle gourds from Suriname: A comparative research between Maroons and Amerindians, with a case-study in Konomerume, a Kari'na village*. University of Leiden.
- Meyer, R.S., Karol, K.G., et al., 2012. Phylogeographic relationships among Asian eggplants and new perspectives on eggplant domestication. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 63(3), pp.685–701.
- Meyer, R.S., DuVal, A.E. y Jensen, H.R., 2012. Patterns and processes in crop domestication: an historical review and quantitative analysis of 203 global food crops. *The New phytologist*, 196(1), pp.29–48.
- Miller, A.J. y Gross, B.L., 2011. From forest to field: perennial fruit crop domestication. *American journal of botany*, 98(9), pp.1389–414.
- Miller, A.J. y Schaal, B.A., 2006. Domestication and the distribution of genetic variation in wild and cultivated populations of the Mesoamerican fruit tree *Spondias purpurea* L. (Anacardiaceae). *Molecular Ecology*, 15(6), pp.1467–80.
- Miller, A.J. y Schaal, B.A., 2005. Domestication of a Mesoamerican cultivated fruit tree, *Spondias purpurea*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102(36), pp.12801–6.
- Mirambell, L., 1994. Los primeros pobladores del actual territorio mexicano. In L. Manzanilla y L. López Luján, eds. *Historia Antigua de México Vol. I*. México: Instituto Nacional de Antropología e Historia. Universidad Nacional Autónoma de México. Editorial Porrúa, pp. 177–208.
- Miranda, F., 1978. *Vegetación de la Península Yucateca: rasgos fisiográficos, la vegetación*, Chapingo: Colegio de Postgraduados.
- Miranda, F. y Hernández-Xolocotzi, E., 1963. Los tipos de vegetación de México y su clasificación. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, 28, pp.29–178.
- Moeller, D.A. y Schaal, B.A., 1999. Genetic relationships among Native American maize accessions of the Great Plains assessed by RAPDs. *TAG Theoretical and Applied Genetics*, 99(6), pp.1061–1067.
- Montes-Hernández, S., Merrick, L.C. y Eguiarte, L.E., 2005. Maintenance of squash (*Cucurbita* spp.) landrace diversity by farmers' activities in Mexico. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 52(6), pp.697–707.
- Montoya, E. et al., 2011. Forest–savanna–morichal dynamics in relation to fire and human occupation in the southern Gran Sabana (SE Venezuela) during the last millennia. *Quaternary Research*, 76(3), pp.335–344.

- Motamayor, J.C. et al., 2002. Cacao domestication I: the origin of the cacao cultivated by the Mayas. *Heredity*, 89(5), pp.380–386.
- Myles, S. et al., 2011. Genetic structure and domestication history of the grape. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108(9), pp.3530–3535.
- Nei, M., 1987. *Molecular Evolutionary Genetics*, New York: Columbia University Press.
- Nei, M. y Li, W.H., 1979. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 76, pp.5269–5273.
- Otero-Arnaiz, A. et al., 2005. Genetic variation and evolution of *Polaskia chichipe* (Cactaceae) under domestication in the Tehuacán Valley, central Mexico. *Molecular Ecology*, 14(6), pp.1603–11.
- Palmé, A.E. y Vendramin, G.G., 2002. Chloroplast DNA variation, postglacial recolonization and hybridization in hazel, *Corylus avellana*. *Molecular Ecology*, 11(9), pp.1769–79.
- Papa, R. y Gepts, P., 2003. Asymmetry of gene flow and differential geographical structure of molecular diversity in wild and domesticated common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) from Mesoamerica. *Theoretical and Applied Genetics*, 106(2), pp.239–50.
- Parra, F. et al., 2010. Evolution under domestication: ongoing artificial selection and divergence of wild and managed *Stenocereus pruinosus* (Cactaceae) populations in the Tehuacan Valley, Mexico. *Annals of Botany*, 106(3), pp.483–96.
- Pennington, R.T. et al., 2004. Historical climate change and speciation: neotropical seasonally dry forest plants show patterns of both tertiary and quaternary diversification. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London, Series B*, 359(1443), pp.515–37.
- Pennington, T.D. y Sarukhán, J., 1998. *Árboles tropicales de México* 2nd ed., México: Universidad Nacional Autónoma de México, Fondo de Cultura Económica.
- Petersen, J.J., Parker, I.M. y Potter, D., 2012. Origins and close relatives of a semi-domesticated neotropical fruit tree: *Chrysophyllum cainito* (Sapotaceae). *American Journal of Botany*, 99(3), pp.585–604.
- Petit, R.J. y Vendramin, G.G., 2006. Plant phylogeography based on organelle genes: an introduction. In S. Weiss y N. Ferrand, eds. *Phylogeography of Southern European Refugia*. The Netherlands: Springer, pp. 23–97.
- Pickersgill, B., 2007. Domestication of plants in the Americas: insights from Mendelian and molecular genetics. *Annals of Botany*, 100(5), pp.925–40.
- Piperno, D.R., 2006. Quaternary environmental history and agricultural impact on vegetation in Central America. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 93(2), pp.274–296.
- Piperno, D.R. y Pearsall, D.M., 1998. The Late Pleistocene and Early Holocene Neotropical World. In *The Origins of Agriculture in the Lowland Neotropics*. San Diego: Academic Press, pp. 90–107.
- Pons, O. y Petit, R.J., 1995. Estimation, variance and optimal sampling of gene diversity. I: haploid locus. *Theoretical and Applied Genetics*, 90, pp.462–470.

- Pons, O. y Petit, R.J., 1996. Measuring and testing genetic differentiation with ordered versus unordered alleles. *Genetics*, 144, pp.1237–1245.
- Puig, H., 1974. *Phytogéographie et écologie de la Huasteca (NE du Mexique)*. Université Paul Sabatier.
- Ramírez-Barahona, S., y Eguiarte, L.E., 2013. The role of glacial cycles in promoting genetic diversity in the Neotropics: the case of cloud forests during the Last Glacial Maximum. *Ecology and Evolution*, 3, pp.725-738.
- Reyes-Aguero, J.A., 2005. *Variación morfológica de Opuntia (Cactaceae) y su relación con la domesticación en la altiplanicie meridional de México*. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Riahi, L. et al., 2012. Highly polymorphic nSSR markers: A useful tool to assess origin of North African cultivars and to provide additional proofs of secondary grapevine domestication events. *Scientia Horticulturae*, 141, pp.53–60.
- Rios, M. et al. eds., 2007. *Useful plants of Ecuador: applications, challenges, and perspectives*, Quito: Abya-Yala.
- Rogers, A., y Harpending, H., 1992. Population growth makes waves in the distribution of pairwise genetic differences. *Molecular Biology and Evolution*, 9(3), pp.552-569.
- Ross-Ibarra, J., Tenaillon, M.I. y Gaut, B.S., 2009. Historical divergence and gene flow in the genus *Zea*. *Genetics*, 181(4), pp.1399–413.
- Ruter, A. et al., 2004. Climate and environment of the subtropical and tropical Americas (NH) in the mid-Holocene: comparison of observations with climate model simulations. *Quaternary Science Reviews*, 23(5-6), pp.663–679.
- Rzedowski, J., 1978. *Vegetación de México*, Mexico: Limusa.
- Rzedowski, J. y Calderón de Rzedowski, G., 1993. Bignoniaceae. *Flora del Bajío y regiones adyacentes*, 22, pp.1–44.
- Salamini, F. et al., 2002. Genetics and geography of wild cereal domestication in the near east. *Nature Reviews. Genetics*, 3(6), pp.429–441.
- Sarukhán, J., 1968. Los tipos de vegetación arborea de la zona cálido-húmeda de México. In *Manual para la identificación de los principales árboles tropicales de México*. México: Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, FAO, pp. 3–46.
- Schneider, S., y Excoffier, L., 1999. Estimation of past demographic parameters from the distribution of pairwise differences when the mutation rates vary among sites: application to human mitochondrial DNA. *Genetics*, 152(3), pp.1079-1089.
- Smartt, J. y Simmonds, N., 1995. *Evolution of crop plants* 2nd ed., Harlow: Longman Scientific and Technical.
- Templeton, A.R., 2001. Using phylogeographic analyses of gene trees to test species status and processes. *Molecular Ecology*, 10(3), pp.779–791.
- This, P., Lacombe, T. y Thomas, M.R., 2006. Historical origins and genetic diversity of wine grapes. *Trends in Genetics*, 22(9), pp.511–519.
- Vargas-Ponce, O. et al., 2009. Diversity and structure of landraces of *Agave* grown for spirits under traditional agriculture: A comparison with wild populations of *A. angustifolia* (Agavaceae) and commercial plantations of *A. tequilana*. *American Journal of Botany*, 96(2), pp.448–457.

- Wakeley, J., 2004. Inferences about the structure and history of populations: coalescent and intraspecific phylogeography. In R. Singh, M. Uyenoyama, y S. Jain, eds. *The Evolution of Population Biology - Modern Synthesis*. Cambridge University Press.
- Wang, B. et al., 2013. Impact of geography and climate on the genetic differentiation of the subtropical pine *Pinus yunnanensis*. *PloS one*, 8(6), p.e67345.
- Weinstein, E., 2007. Cosmic gourds: cucurbit and *Crescentia* effigy pottery of coastal Ecuador. *Economic Botany*, 61(4), pp.315–327.
- Weising, K. y Gardner, R.C., 1999. A set of conserved PCR primers for the analysis of simple sequence repeat polymorphisms in chloroplast genomes of dicotyledonous angiosperms. *Genome*, 42(1), pp.9–19.
- Zerega, N.J.C., Ragone, D. y Motley, T., 2004. Complex origins of breadfruit. *American Journal of Botany*, 91(5), pp.760–766.

Conclusiones generales

- 1) El presente proyecto se centró en el estudio de las prácticas de manejo humano y selección artificial en dos especies del género de árboles *Crescentia* (Bignoniaceae) y sus consecuencias en la composición morfológica y genética de sus poblaciones en las escalas ecológica y filogeográfica. Se siguieron tres principales líneas de investigación: la identificación de las prácticas de manejo y selección artificial en *C. cujete*, la evaluación de la diversidad genética de las poblaciones silvestres y cultivadas de *C. cujete* y su relación con las prácticas de manejo y flujo génico entre ellas, y el análisis de las relaciones filogeográficas entre poblaciones silvestres y cultivadas de *C. cujete* y *C. alata* en México y Centroamérica para la identificación de procesos de diferenciación poblacional guiados por procesos de selección y dispersión humanos.
- 2) El estudio regional llevado a cabo en la península de Yucatán con *C. cujete* mostró la estrecha relación que existe en la escala ecológica entre los criterios de selección humana, los caracteres fenotípicos seleccionados, las prácticas de manejo y la composición genética de las poblaciones. De acuerdo con la hipótesis planteada, se encontró que la variabilidad intraespecífica es percibida por medio de caracteres del fruto, los cuales son seleccionados en función de los usos actuales e históricos de las jícaras. La propagación vegetativa de las variedades cultivadas que presentan los caracteres seleccionados mantiene la diferenciación de linajes de cpADN de las pozas génicas cultivada y silvestre, pero la selección ejercida a favor de frutos más grandes, redondos y gruesos es mitigada por una diversidad de usos cotidianos y ceremoniales de los recipientes, la cual está profundamente enraizada en la historia de la cultura Maya y ha moldeado la domesticación de esta especie a lo largo de los siglos.
- 3) En este mismo estudio regional se halló que la propagación vegetativa representa una vía crucial para la estabilización de la selección artificial y la conservación de los fenotipos valorados, tal como se ha observado en otras especies perennes de América como cactáceas y de la cuenca del Mediterráneo como el olivo, la vid y el dátil. La propagación asexual y la dispersión de los propágulos de las variedades cultivadas preferidas de *C. cujete* entre huertos mantiene una diversidad genética muy baja a nivel de cpADN, así como una homogenización en la composición genética de los huertos. Estas prácticas contrarrestan el flujo génico con las poblaciones silvestres, aunque la tolerancia de individuos espontáneos permite la incorporación de genes silvestres vía polen y semilla a las pozas génicas de los huertos. Estos resultados coinciden con los

patrones identificados en otras especies perennes domesticadas y propagadas tradicionalmente por vía vegetativa en las que el flujo génico con poblaciones silvestres locales, incluso en baja frecuencia, es suficiente para enriquecer las pozas génicas cultivadas.

4) El análisis de los efectos de la domesticación en la escala filogeográfica detectó una elevada diferenciación a nivel de cpADN entre poblaciones de huerto y poblaciones silvestres de *C. cujete* a pesar de su simpatria, mientras que en *C. alata* no se detectó tal diferenciación, pues las poblaciones de huerto comparten haplotipos con poblaciones silvestres locales. En *C. cujete* la baja diversidad de los haplotipos que caracterizan a los huertos y la distancia genética entre éstos y los haplotipos silvestres mexicanos sugieren un cuello de botella asociado a la introducción del germoplasma cultivado en México desde otra región (probablemente de Sudamérica), mediado por la propagación activa (vía asexual y sexual) de este material y su dispersión a largas distancias. Si bien la selección artificial juega un papel central en este proceso, la preponderancia del haplotipo cultivado I sugiere asimismo una deriva génica muy importante en estas poblaciones. El manejo humano de *C. cujete* en los huertos ha modificado la estructura filogeográfica de la especie, incluyendo su introducción a nuevas áreas como el Istmo de Tehuantepec y la costa del océano Pacífico, donde se identificaron procesos de introgresión con *C. alata*. El manejo humano de *C. alata*, al basarse en materiales locales, no ha modificado la estructura filogeográfica de la especie.

5) Las poblaciones silvestres de ambas especies cuentan con una estructura filogeográfica caracterizada por una elevada diversidad genética y la diferenciación de grupos acordes a las provincias fisiográficas del país. Se propone que esta estructuración refleja la baja capacidad natural de dispersión de sus frutos y la amplia distribución que tenían ambas especies en las sabanas a finales del Pleistoceno, la cual habría sido conservada en el periodo interglacial actual gracias a los efectos antropogénicos del desmonte y los incendios que favorecen los ambientes abiertos donde se desarrollan los árboles de *Crescentia*.

6) Las evidencias filogeográficas muestran que existe una relación dinámica entre propagación vegetativa, dispersión a larga distancia de propágulos seleccionados y flujo génico intra e interespecífico con parientes silvestres locales (particularmente en *C. cujete*). Este resultado refuerza la relevancia de los procesos de introgresión facilitados por la dispersión humana de germoplasma y muestra la elevada capacidad de adaptación

de las especies perennes a las condiciones ambientales de los nuevos sitios adonde son introducidas.

7) Los patrones identificados se basan en el análisis de la molécula de cpADN, la cual es de herencia uniparental y representa un solo locus. Sería necesario contar con marcadores nucleares (i.e. realizar un análisis multiloci) para definir con mayor detalle las pozas génicas cultivadas (particularmente en *C. cujete*), estimar el efecto del manejo en los tamaños efectivos de las poblaciones y su nivel de endogamia, así como conocer con mayor precisión el grado de flujo génico entre árboles de huertos y árboles silvestres. Los marcadores nucleares permitirían asimismo evaluar en el marco de la filogeografía estadística la hipótesis propuesta en torno a la amplia distribución de *Crescentia* desde finales del último periodo glaciario favorecida por la acción del hombre en tiempos geológicamente recientes.

8) El diálogo entre datos etnobotánicos y genéticos permitió integrar escalas espaciales (regional-nacional) y temporales (histórico-actual) para evidenciar que la dinámica entre los procesos evolutivos naturales y humanos puede ser contrastante según la región y la especie. Las fuerzas evolutivas (principalmente selección y flujo génico) actúan en distinto grado en diversas áreas, manteniendo la diferenciación de pozas génicas (como en Yucatán) o causando procesos de introgresión (en el Istmo de Tehuantepec, por ejemplo). El diálogo entre estas disciplinas puede ser enriquecido con las evidencias que aportan la ecología, la genética de poblaciones y la filogenética, tal como ha sucedido en otras especies perennes domesticadas, con el propósito de identificar el papel relativo de los distintos procesos naturales y humanos causantes de la arquitectura genealógica actual de las especies domesticadas.

9) El enfoque multidisciplinario permite valorar el papel de las comunidades indígenas y mestizas en el manejo activo de recursos genéticos en espacios como los huertos familiares y la planeación de acciones de protección y conservación de dichos recursos. Este enfoque revitaliza también el concepto de centros de origen como regiones de relevancia histórica y actual en las que estos procesos siguen vigentes en gran número de especies, con diversas historias particulares que conforman el rico mosaico que observamos en la actualidad. En el caso de *Crescentia* en Mesoamérica, los resultados confirman que éste es un importante centro de manejo y domesticación de especies perennes que se encuentra dinámicamente ligado con otras regiones de Centro y Sudamérica, las cuales han contribuido a enriquecer el patrimonio biocultural de esta región.

ANEXO I.

Phylogeographical approaches to the study of plant domestication, with special emphasis on perennial plants.

Xitlali Aguirre-Dugua and Antonio González-Rodríguez

Introduction

Domestication is an evolutionary process in which humans fix in a population, by means of artificial selection, heredable variants that satisfy their needs (food, utilitarian and aesthetics) and that distinguish the domesticated taxon from its wild progenitor.^{1,2} Humans started to cultivate and domesticate plants independently in different parts of the world around 12 000 years ago, driven mainly by the scarcity of wild resources caused by climatic changes in the late Pleistocene and Holocene.³ Archaeological evidence shows that human societies gradually changed from a nomad hunter-gatherer lifestyle to a more sedentary and structured village society, shifting from the collection of wild plants, to their pre-domestication cultivation and then to their domestication through agriculture, horticulture, and forestry strategies in anthropogenic environments.^{3,4}

The first systematic studies on the origin of domesticated plants were by the French naturalist Alphonse de Candolle⁵, the Russian geneticist Nikolai I. Vavilov (who identified eight “centers of development of forms” in the world as valuable sources of germplasm for agriculture, now commonly known as centers of diversity)⁶, and the North American agronomist Jack R. Harlan⁷ who integrated information on the origin of agriculture and animal husbandry (Table 1). Biological sciences then began working next to agronomists and archaeologists on the search for the origin of domesticated species, first with morphoanatomical studies, cytogenetic experiments and controlled breeding programs, and more recently with the help of molecular biology.^{3,8,9} Since the 1980s, the development of molecular techniques based on allozymes and fragments/sequences of DNA of nuclear (nDNA), chloroplast (cpDNA) and mitochondrial (mtDNA) origin opened new avenues of research that have broadened our understanding of the origins of domesticated species. These tools have also contributed to the development of a more comprehensive theory of biological evolution, given that domesticated taxa represent useful model systems for the analysis of genetic, morphological, physiological and behavioral changes of living beings, just as Darwin envisioned 150 years ago.^{10,11}

Table 1. Different approaches to the study of the origins of domesticated plants.

| Field | Main interest | Tools | Analysis units | Perspective |
|--|--|---|--|---|
| Agronomy and anthropology (Vavilov and Harlan) | Identify areas with promising varieties for breeding programs. Locate regions where agriculture first appeared. | Taxonomy Morfometry History/archaeology Cytogenetics | Races Cultivars Species (morphological and biological concepts) | Biogeographic |
| Population genetics | Conservation. Understand species' natural history and ecology. | Statistical genetics | Individuals Populations | Microevolutionary |
| Phylogenetics | Conservation. Identify wild parents. Determine successive events of differentiation/diffusion. | Phylogenetic tree reconstruction | Lineages Species (evolutionary concept) | Macroevolutionary |
| Phylogeography | Characterize genealogical history of intraspecific lineages in time and space. Conservation. Identify dispersion and hybridization events. | Haplotype networks Phylogenetic tree reconstruction Coalescent theory Geographic Information Systems | Populations Species (cohesive concept) | Micro-macro evolutionary Biogeographic |

Domestication is analogous to speciation as process of population differentiation guided by artificial selection that generates new lineages. The speed of this differentiation process depends on the strength of artificial selection, gene flow between selected and wild individuals, effective population size, and organismal lifespan.¹²

Integrating both genealogy and geography, the field of phylogeography is a useful framework for the analysis of domestication, because it represents the crossroad between population genetics, which addresses microevolutionary forces at the individual and population level, and phylogenetics, related to the differentiation of new lineages or evolutionary units.¹³ In this chapter we will present a brief overview of the discipline of phylogeography, its scope and primary tools, and will discuss them in terms of their main use, reach and limits in the research for the origin and evolution of domesticated species. Because of the success and growth of this field in the late decade, it is not our purpose to cover all aspects of phylogeography; we hope the reader will find a more detailed treatment of each topic in the references included herein. In the second part of the chapter we will analyze these issues in the case of domesticated long-lived perennial plants, mainly trees. Theory on plant domestication has mainly been developed on annual species from the Poaceae and Fabaceae with short life cycles, high structuring among populations and low levels of gene flow. In contrast, domesticated trees stand out for their high phylogenetic diversity and for their

ecological characteristics that include sexual and asexual reproduction, exogamous reproductive systems and high levels of gene flow among populations. Identifying tree domestication strategies in non-agricultural contexts and their consequences in the temporal and spatial evolution of tree populations remains a necessary task. By reviewing the genetic and phylogeographic data from ten selected domesticated perennial species we will analyze key aspects of their evolution as the intensity of the bottlenecks they have encountered, the occurrence of introgression events, their geographical origin and the identity of their wild progenitors. We will then discuss how ethnobotanical studies can document artificial selection practices and human-mediated gene flow processes that shape these key aspects of tree domestication. Ethnobotanical information should therefore be considered a necessary counterpart for interpreting genetic and phylogeographic data, designing sampling strategies and proposing new hypotheses on tree domestication.

Phylogeography: an integrative field

Phylogeography is the discipline that analyzes the spatial arrangement of genetic lineages within and among closely related species. By focusing on gene trees of neutral loci from individuals in populations, phylogeographical analyses aim to understand the historical and contemporaneous forces that have produced the current genealogical architecture of populations and species.^{14,15} As gene trees carry the signature of a species' demographic past, it is intended that their analysis in a geographical context can reveal the relationships between population phenomena (e.g., migration, population growth/bottlenecks, selection and gene drift), species distribution, and the mechanisms driving speciation.¹⁴ However, although phylogeography uses the historical information contained in gene trees, it is not a simple extension of phylogenetics to the intraspecific level; it rather characterizes population subdivision in order to identify historical geographic patterns of genealogical structure throughout the distribution of a species and to distinguish them from those caused by modern gene flow.^{14,16,17} By integrating population genetics and phylogenetics in a geographical framework, phylogeographic analyses are useful for addressing domestication processes because domesticated species commonly include many evolutionary lineages with different degrees of divergence, produced by diverse population differentiation processes in a brief and geologically recent time window.

Molecular tools of phylogeography

Molecular markers are the main source of information in phylogeography. Because the straightforward reconstruction of gene genealogies is a fundamental step in all phylogeographic studies, cytoplasmic DNA was originally proposed to be the marker of choice for this purpose. Particularly, mitochondrial DNA (mtDNA) was thought to be ideal for phylogeographic studies in animals because of its ubiquity, ease of isolation, simple structure lacking repetitive DNA, transposable elements, pseudogenes and introns, simple and usually uniparental inheritance without recombination, and considerable degree of intraspecific polymorphism due to a high mutation rate.^{15,18}

In contrast to their early success in animals, phylogeographic studies in plants were slower to develop. One of the main reasons was the problem of detecting appropriate levels of genetic variation in plant genomes. The plant mtDNA is characterized by low rates of nucleotide substitution and is prone to extensive recombination, making it inadequate for generating intraspecific gene genealogies.^{16,19} Chloroplast DNA (cpDNA) is a larger and more complex molecule than mtDNA (about 120-170 kilobases in comparison to the 16-20 kilobases of mtDNA) and more effort was required for its characterization and the identification of useful regions for phylogeographic studies. The mutation rate is variable at different regions of cpDNA, with most variation occurring in the single-copy regions, particularly in spacing sequences that separate coding genes.^{16,20} Simple sequence repeats (SSRs) or microsatellites have also been identified in plant cpDNA and these loci usually display significant variation, but also frequent homoplasy.²⁰

More recently, an emphasis has been put in employing multilocus data for phylogeographic reconstruction, particularly with the advent of coalescent theory and statistical phylogeography (see below). In this respect, mtDNA or cpDNA data are limited because these nonrecombining, uniparentally transmitted genomes are inherited as a unit and therefore represent a single locus in practice²¹. One of the important outcomes derived from coalescent theory is that gene trees are expected to vary among different loci, simply for stochastic but also for other reasons.²² Consequently, basing phylogeographic inference on the patterns exhibited by a single locus can be misleading. Nuclear DNA (nDNA) offers a potentially inexhaustible source of informative genetic variation but also considerable challenges in its application to phylogeographic studies. First, regions with appropriate levels of variation must be identified, since mutation rates in the nDNA are usually low. Secondly, single-copy regions are preferable over regions with multiple copies, because for the later the possibility of presence of pseudogenes or paralogous variants is higher.^{21,23} Thirdly,

recombination has to be taken into account, but fortunately several algorithms are currently available for this purpose.²⁴

The current molecular toolbox for phylogeographic studies includes several techniques for detecting and analyzing variation at mtDNA, cpDNA and nDNA. Variation at the cpDNA of plants has become quite accessible through the development of universal primer pairs for the amplification through the polymerase chain reaction (PCR) of highly variable loci as intergenic spacers and introns.^{25,26} The amplified regions can then be sequenced, which is the most informative approach, or analyzed with restriction enzymes to produce restriction fragment length polymorphisms (PCR-RFLP). Primer pairs for the amplification of cpDNA SSRs have also been developed, differing in their degree of conservation and utility among groups of plants.²⁷ A common current practice is to mark one of the primers (usually the forward primer) with a fluorescent label that can be detected in an automatic capillary sequencer. Amplified fragments are separated electrophoretically and scored as different alleles depending on their size (in base pairs). Basically these same techniques (sequencing, PCR-RFLP, size analysis of SSR alleles) can be applied for the analysis of nDNA, except that universal or consensus regions are scarce even for relatively small taxonomic groups.

A useful and relatively simple molecular technique that allows the multilocus analysis of nDNA is known as Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP). This technique is based on the digestion of genomic DNA with two different restriction enzymes, followed by the ligation of adaptors to the sticky ends of the restriction fragments. In this way, thousands of adapted fragments are generated, but only a subset of these is selected for amplification through PCR. The selection is achieved using primers that are complementary to the sequence of the adaptor but that also have between one and three arbitrary base pairs that extend into the unknown portion of the fragment, and therefore can be complementary or not depending on chance. In this way, the number of amplified fragments is reduced by factors of 4, 16 or 64 if an extension of one, two or three base pairs is used. Since many combinations of restriction enzymes and primers can be used, the number of resulting fragments is virtually unlimited. In practice, a few hundred fragments are ideal, obtained by using two or three primer/enzyme combinations. The scoring of the fragments can be performed through polyacrilamide gel electrophoresis or capillary electrophoresis in an automatic sequencer, which make it possible to resolve fragments that differ in size by a single base pair.²⁸

The advantages of the AFLP technique are that it can be readily applied to any organism and no initial investment in primer development or sequence analysis is required. It is a relatively cheap, easy, fast and reliable method to generate hundreds of informative genetic markers. However, a main disadvantage is the difficulty of assessing the homology among markers of the same molecular size; they also are dominant markers, i.e., a state of “fragment present” can equally correspond to an individual that is homozygous or heterozygous for the “presence” allele.^{28,29}

The development of next-generation sequencing techniques and the increasing advances in genomics are making it feasible to access much larger amounts of data for many different evolutionary studies, including phylogeography. It is now possible to analyze single nucleotide polymorphisms (SNPs) scattered across the whole genome of the organism of interest. SNPs are abundant, codominant, evolve in a manner well described by simple mutation models, and represent a suite of unlinked nuclear genetic loci that can capture a genome-wide picture of population history.³⁰ Given that SNPs have a lower mutation rate than other genetic markers (e.g. microsatellites), homoplasy is usually not a problem. On the other hand, SNPs have a maximum of only four character states (A, T, G, C) making them less informative than microsatellites, but this limitation can be compensated by the much higher number of SNP loci usually available. It has been suggested that SNPs will become the marker of choice for multilocus phylogeographic analyses.^{31,32}

Descriptive analytical approaches in phylogeography

When trying to reconstruct the history of domesticated species, the first step towards phylogeographic inference is based on the identification of genetic relationships among the groups sampled, which includes the domesticated lineage (one population or many, representing different varieties, for example) and wild populations (among which, hopefully, the direct descendants of the wild ancestral population that gave rise to the domesticated population are represented). For this purpose, a wide array of methods is available. Most commonly used with anonymous nuclear markers such as AFLPs or ISSRs, dendrograms or distance grouping analysis (such as the Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean –UPGMA– and Neighbor Joining –NJ), and multivariate methods (hierarchical clustering and principal coordinate analysis) rely on measures of genetic distance among populations, which are directly affected by the loss of alleles associated to the domestication genetic bottleneck. Assignment methods (e.g. *Structure*³³) based on multilocus nuclear markers such as SSRs, AFLPs or SNPs have also been applied in order to identify the most

probable number of genetically distinct groups (populations) and assign individuals to such groups in a probabilistic manner, something that allows for the identification of hybrid individuals (i.e. admixed genotypes).

A more historical perspective is achieved through the construction of phylogenetic trees and haplotype networks. Phylogenetic trees are commonly used with sequence data (single and multilocus) and employ evolutionary models that place different weights on each kind of substitution, i.e., they are based on character states. However, in this case, trees are constructed with the aim of understanding relationships among haplotypes and not among certain taxa, as in traditional phylogenetics. The result is the grouping of haplotypes in clades that display a bifurcating pattern (although sometimes the branching order cannot be defined and a polytomy remains). Phylogenetic reconstruction can be achieved through a wide array of methods (e.g. parsimony, maximum likelihood, Bayesian statistics) and can use statistical tools (e.g. bootstrap, posterior Bayesian probabilities) for evaluating branch's support, which represents the strength of the genealogical signal in the sample that defines the relationships among groups. Additionally, phylogenetic trees can be rooted with an outgroup to polarize the tree, i.e. to define ascent-descent relationships among the oldest node representing the last common ancestor of the samples including the outgroup, and the remaining younger nodes closest to the tips of the tree.³⁴ Molecular clocks based on estimated substitution rates and calibration points can be used for the estimation of the age of the nodes, i.e. for the timing of divergence events.³⁵

However, when applying methods of phylogenetic reconstruction to intraspecific data, it should be taken into account that evolutionary relationships above and below the species level are qualitatively different. Within a species, relationships among alleles at a given locus are the result of a comparatively small number of recent mutations, recombination, and sexual reproduction. Hennig³⁶ referred to this type of relationships as tokogenetic, to differentiate them from the strictly hierarchical, deeper divergences that characterize phylogenetic relationships among alleles found in different species, which are the product of reproductive isolation, independent mutation, and lineage sorting over a longer period of time, leading to separate gene pools.

As an alternative to phylogenetic trees, haplotypes networks can better account for processes acting at the species level, and adequately represent the presence of persistent ancestral haplotypes, multifurcations, reticulations, and homoplasy.²⁴ Unlike phylogenetic trees, connections among nodes in a network can show cycles, representing a pattern that is not strictly bifurcating. Currently, there are several methods to construct haplotype networks

from sequence or SSR data, such as median-joining and statistical parsimony.^{24,37} Haplotype networks built from SSR data commonly assume that microsatellite length is increased or decreased by one repeat unit at a time (stepwise mutation model, SMM³⁸). A two-phase model (TPM) can also be used, where mutations can change the repeat length by one unit (with probability p) or by more than one unit (with probability $1-p$, multiunit mutations being geometrically distributed³⁹). When haplotypes are defined by sequence data, different evolutionary models can be used, in the same manner than sequence data used to build phylogenetic trees.

Coalescent theory provides several explicit predictions that are directly relevant to the interpretation of haplotype networks. Older haplotypes are expected to have a greater frequency, to be more widespread geographically and to be situated in the interior of the network (that is, to have more than one connection with younger, derived haplotypes). In contrast, low frequency haplotypes are more likely to be connected to more common haplotypes than to other low frequency haplotypes. Also, rare haplotypes are more likely to be derived from other haplotypes in the same population than from haplotypes in other populations. According to this, the root of the network (i.e. the oldest ancestral haplotype) is considered to be the most frequent haplotype, although the number of connections and the position of a given haplotype can also be used to assign root probabilities.^{24,40}

Once they have reconstructed the genealogical relationships between populations through these methods, many phylogeographic studies follow a descriptive approach for interpreting them. Descriptive studies commonly depict the genetic patterns observed in the sample (number of haplotypes, their frequency and geographical distribution, the detected amounts of genetic diversity and its structuring according to different summary statistics), superimpose the reconstructed genealogy over the geography and interpret their data directly in order to infer the history of the sampled populations. This strategy was commonly used by those studies published in the first decade after the seminal publication by Avise et al.¹⁸, and is still applied today by many researchers. However, it has been described (and criticized) as a *post hoc* narrative and others methods have since then been proposed as more reliable (see next sections).

Nested Clade Phylogeographic Analysis (NCPA)

In order to go beyond the simple description of the geographical distribution of genetic variants from different populations, Templeton *et al.*⁴¹ proposed the Nested Clade Phylogeographic Analysis (NCPA), a guideline for interpreting the agreement between the

geographical distribution of haplotypes and their genealogical relationships, according to particular historical scenarios. In general terms, this method applies a step-wise inference key based on the relative position of single-locus haplotypes in an haplotype network and their grouping in hierarchically nested clades, together with the geographical distance that separates such haplotypes. For example, according to NCPA, in a basic pattern of long-term restricted gene flow it is expected that the oldest haplotypes, located at the center of the haplotype network, should be widely distributed while the more recent mutations should be located at the tips of the network and remain localized in the areas where they originate.⁴² By looking at different patterns of the geographical spread of more or less related haplotypes, the NCPA inference key can reveal other scenarios such as restricted gene flow with isolation by distance, range expansions, long-distance dispersal events (i.e., colonization) and allopatric fragmentation. Significance of the inferred scenario is evaluated through a permutation test of the haplotypes within the nested clades (i.e., a test for the null hypothesis of no correlation between geography and genealogy).⁴² The method was later modified and extended to include multi-locus cross-validation and the testing of specific phylogeographical hypotheses through a likelihood ratio testing framework.^{43–47} These modifications were a response to criticisms by different authors who found the method ambiguous and lacking statistical rigor given that the inference key and permutation test showed to be prone to a high false-positive rate.^{48–51} A strong debate then followed between those defending the method and those criticizing it, who rather put forward model-based approaches.^{52–61} In the last five years, there has been a sharp decline in the use of NCPA as the central method of phylogeographic studies, but it is still applied in conjunction with phylogenetics, population genetics and coalescent-based methods in order to propose and analyze plausible hypotheses on the demography and biogeography of populations according to species biology and landscape history.^{52,62–64} New procedures that incorporate Approximate Bayesian Computation (ABC) to the construction of haplotype networks and clustering seem to be the next stage for NCPA (see Bloomquist *et al.*⁶⁵).

Coalescent theory and statistical phylogeography

It has been recognized that direct interpretation of demographic and biogeographic processes from the genealogical patterns showed by a group of populations can lead to an overinterpretation of data, as they are subjected to the stochasticity of demographic processes: different histories can lead to a similar genealogical structure and one history can produce diverse genealogical structures. With this in mind, coalescent-based approaches have been

developed in the emerging field of statistical phylogeography to test explicit hypotheses that underlie observed phylogeographic patterns.

This approach is based on the reconstruction, from the present to the past, of the historical relationships between the alleles from a sample by making them converge or coalesce in their ancestral alleles.⁶⁶ The analysis of the depth and ramification structure of coalescence trees derived from empirical data is used to reveal the demographic history of the populations through the estimation of parameters such as effective population size (coalescence points tend to be older when effective population size is high because the probability of lineage extinction is smaller), amount of gene flow (if present, some alleles of one population will coalesce in a different population), and the action of genetic drift or selection (some branches of the tree disappear while others proliferate).¹⁴ Statistical methods that simulate coalescent processes have therefore been developed to test *a priori* defined models (i.e., phylogeographic histories), which means that none of the models is “true” and that the reconstructed genealogy is not directly interpreted but considered as a variable that links the observed data to every proposed model.¹⁷

Coalescent-based methods can model a wide array of possible genealogies according to previously defined parameters that depend on the proposed hypothesis, and they evaluate the probability of the observed genealogy with Bayesian or maximum likelihood approximations. Alternatively, if there are no previously defined hypotheses, they can estimate the most probable demographic parameters that can account for the observed data and provide confidence intervals. Such parameters can include mutation rate, effective population size, rate of population growth, population subdivision, gene flow, divergence times and selection.⁶⁷ On the basis of these theoretical advances, several algorithms have been developed that can be applied to empirical data to obtain estimates of the historical demographic dynamics of populations. For example, the Isolation-with-Migration model (IM) considers an ancestral population diverging into two derived populations that continue to exchange migrants during the divergence process^{68,69}, a scenario that fits very well a domestication event. This model includes six demographic parameters (divergence time, migration from population one to two, migration from population two to one, effective population size of the two derived populations, and effective population size of the ancestral population). These six parameters can be estimated from adequate empirical molecular data with the IMA program, which is an implementation of the IM model.⁷⁰

Another method that has become popular to infer population demographic history is the Bayesian Skyline Plot.⁷¹ This algorithm, implemented in the BEAST (Bayesian

Evolutionary Analysis Sampling Trees) allows the estimation of historical patterns of population size from a gene genealogy without the need for a priori restrictions on possible demographic models.⁷²

However, Knowles⁷³ points out that phylogeographic hypothesis testing can be sensitive to the kind and number of parameters included: models that represent many processes at a time can be biologically more realistic but also more complex and, in consequence, be overthrown by the amount of data necessary to distinguish between alternative hypotheses and a greater computational capacity. As well, Templeton^{58,59} has criticized model-based approaches by considering that they evaluate a finite set of arbitrary chosen phylogeographic alternatives, that they are influenced by subjective assumptions on the parameters being estimated and that their statistical results are hardly interpretable.

Nevertheless, the definition of hypothetical models can be based on independent sources about past events such as the location of populations, times of their probable isolation/divergence or events such as climatic changes or barrier appearance.¹⁷ While information sources for wild species can be fossils and palaeoclimatic data, in domesticated species it is possible to include parameters based on reproductive biology studies, as well as archaeological, anthropological and documentary evidences.⁷⁴ For example, experiments between the domesticated taxon and their wild parents can provide estimates of gene flow, and archaeobotanical samples dated with 14C or AMS⁷⁵⁻⁷⁷ can suggest divergence times or, at least, a superior limit for the divergence event (i.e., when the domesticated morphology is already observed). Macro and microbotanical evidences can also suggest diffusion routes to new areas and, in consequence, differentiation processes through bottlenecks or ecological adaptation of cultivars.⁷⁸

The paradigm of the domestication bottleneck

The classic perspective of the domestication process considers that the domesticated population harbors a reduced fraction of the total genetic variation present in its wild progenitor because only a subsample of the available diversity of the wild species is selected by man (Fig. 1).^{79,80} The result of this sampling process is a genetic bottleneck at the population level and the differentiation of a new (domesticated) lineage from the wild ancestral lineage at a genealogical level. From this moment on, with the gradual appearance of barriers to gene flow (elimination of wild type individuals in the domesticated stock, negative natural selection of domestication traits in wild populations, selection for differential phenology, geographical isolation), both populations/lineages start to accumulate independent

mutations and continue evolving in their respective environments. Following the same line of reasoning, posterior diffusion events to other geographical areas based on subsamples of the domesticated population will also lead to genetic bottlenecks⁸¹; geographical isolation and adaptation to new environmental conditions can be additional factors that lead to population differentiation.

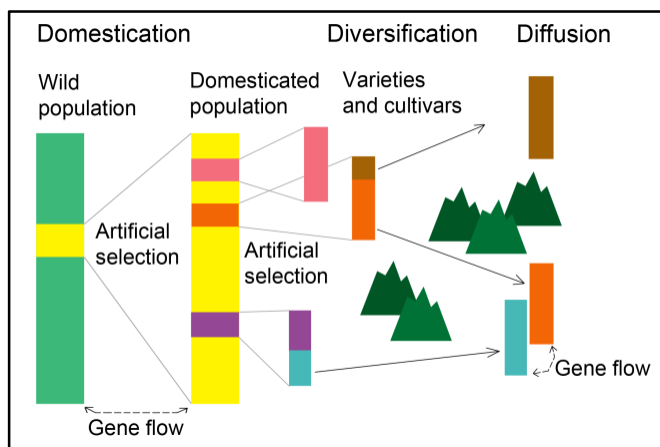


Fig 1. Classical perspective on domestication as the foundation of a new population based on a subsample of wild individuals. Subsequently, artificial selection and drift drive the differentiation process among wild and domesticated populations. Diversification of the domesticated pool can be driven by disruptive selection forces, diffusion to new regions with contrasting environmental conditions, and hybridization with wild parents and/or other domesticated varieties. It is traditionally assumed that domestication and geographical diffusion events lead to genetic bottlenecks.

With this in mind, it has been traditionally assumed that when the domesticated taxon has been originated by one domestication event, all populations will form a monophyletic clade (or, in the case of haplotype networks, will belong to the same haplotype group). Additional lines of evidence that suggest a single origin are the presence of a single neutral genetic variant in different cultivars of the domesticated pool while the wild taxon presents many variants (especially if this uniformity is displayed by several loci) and the identification of a single gene or group of genes responsible for a given domestication trait in different cultivars.^{82,83} If, in contrast, the domesticated taxon is the product of multiple domestication events, i.e., of the selection of a different subsample from more than one wild progenitor in different places, a polyphyletic pattern will emerge. Multiple origins can also be suspected if a given domestication trait is governed by different mutations in different cultivars and if the domesticated pool presents many neutral variants equally found in different or geographically separated wild populations.^{2,82,83} As a corollary, the identification of the closest wild relative

rests upon the sharing of particular haplotypes between the domesticated taxon and a given wild population or the topology of the reconstructed phylogenetic tree. If domestication occurs in sympatry with the wild progenitor, then the area where the domestication event took place (i.e. the center of origin) can be identified as the area where the closest wild relative is found. However, equaling the present distribution of the closest wild parent to the area of domestication can be misleading if its current distribution is not the same it had when the domestication took place, or if there are undiscovered or extinct populations that could be closest to the domesticated taxon.⁷⁴

Additionally, it has been proposed that those branches that diverge early from their common wild progenitor would be representative of the first stages of domestication, while the more derived domesticated varieties would be those of more recent differentiation and whose geographic areas probably represent where the domesticated germplasm has been recently introduced.⁸⁴ However, it is important to notice that the identification of cultivars as “primitive” or “basal” because they branch early (near the base of the tree) can be misleading. An early branching lineage is, in fact, a lineage with a small number of representatives (either because it has not diversified, it has had a high extinction rate or it was poorly sampled in the study) whose age is the same, not older, as its richer sister clade.^{85,86} At the same time, inferring biogeographic scenarios of dispersal and proposing ancestral areas where the initial steps towards domestication took place based on the geographical location of a lineage misinterpreted as “basal” is therefore not possible based on tree topology and the distribution of terminal taxa alone.⁸⁶ Nevertheless, independent information from biogeographical, archaeological and historical sources such as the distribution of the putative wild progenitor and the presence of certain cultivars in a given area at a certain period of time can allow for the inferring of the most probable dispersal scenario among those possible for a given tree topology.

Why genetic patterns are not that easy to interpret: some problems when facing data

The main issue regarding data interpretation in every phylogeographic or phylogenetic analysis is the incongruence that can exist between gene trees and population/species trees.⁸⁷ Phylogeographic patterns can be obscured when the bottleneck has not been severe and the effective population size of the domesticated population remains relatively large. In that case, it can be difficult to discern if two genetically close populations are similar because of the presence of gene flow or by the retention of ancestral polymorphisms.⁸⁸ The stochastic nature of neutral gene inheritance, together with stochastic demographic histories, produces trees

that are not representative of the history of the species. This phenomenon harbors particular relevance when working with recently diverged populations or species such as domesticated ones. This is why it is highly recommended to use multiple loci in order to increase the probability of recovering the true species tree.^{14,21} As previously mentioned, methods based on the coalescent are intended to deal with such genealogical stochasticity through a probabilistic approach.

Besides these concerns, there exist additional issues specifically related to the study of domesticated species history. Two of them are related to the amount and nature of the data that can be obtained: the absence of a phylogeographic structure in the analyzed populations, and the sampling of only extant populations, both domesticated and wild. As previously discussed, the identification of the wild progenitor and the pinpointing of the probable center of origin rests on the identification of shared haplotypes between the domesticated populations and a given wild parent or, when using a phylogenetic approach, by the identification of the closest wild parent. However, when phylogeographic signals in the wild pool are weak, this cannot be achieved with confidence; humans have severely perturbed wild environments since the beginning of the Holocene and have equally been responsible for the movement of domesticated individuals, blurring historical phylogeographic patterns.⁸⁹ Phylogeographic signal can also be lost if hybridization between the domesticated taxon and its wild progenitor occurs, obscuring the original founder effect patterns by mixing their genomes.⁸² High levels of gene flow can also obscure the expected phylogeographic patterns of multiple domestication events because domesticated populations will look more similar to each other than to their respective wild progenitors due to gene exchange.⁹⁰ When this happens, the most common approach is Vavilov's method: areas with the greater genetic diversity are the more likely centers of origin⁹¹. Secondly, a general problem faced by any analysis based on genetic data and that affects the interpretation of patterns about the geography and time of domestication is that sampling is based on present day representatives of wild populations, landraces and modern cultivars. For example, when many wild progenitors have contributed in the past to the extant domesticate but most of them have not persisted because of extirpations and range variation caused by climatic and environmental changes, both by natural and human causes⁹², the present day domesticate will appear associated to only one relative, the closest it has among those lineages that survived. This phenomenon most probably accounts for many of the discrepancies observed between genetic data and those processes inferred by the archaeological record.⁸³ However, the inclusion of

samples from herbarium specimens⁹³ and the analysis of ancient DNA obtained from archaeobotanical remains⁹⁴ offers the possibility of minimizing this problem.

On the other hand, different authors have signaled some of the shortcomings of phylogenetic tools and their underlying assumptions when applied to the reconstruction of domestication history, mainly regarding the estimation of divergence times as well as the interpretation of tree topology. It has also been pointed out that, together with limitations regarding the estimation of divergence times in general (such as the usage of fossil-based calibration points³⁵), molecular clocks obtained from evolutionary processes observed at the phylogenetic scale cannot be applied to population divergence processes that are occurring at an intraspecific scale. Apparently, the molecular clock ‘ticks’ more rapidly as the timescale decreases, that is, that instead of being constant over time, substitution rate is accelerated when dealing with genetic data whose mutations are more recent.⁹⁶ This time-dependency of molecular rates is most likely associated to a near-neutral model of evolution, where slightly deleterious new mutations are removed from the population by purifying selection so that they do not persist over long evolutionary timeframes, although they are detected when analyzing population-level data. Saturation at mutational hotspots could also account for an apparent decrease in mutation rate at deeper times. As a whole, this would mean that recent polymorphisms contribute to an apparent increase in molecular rates towards the present (especially for the last 1-2 My⁹⁶). The main consequence of this phenomenon is that if a molecular clock based on evolutionary rates derived from species whose most recent common ancestor existed millions of years ago is applied to a dataset of recently diverged populations, the estimated timing of the domestication event will be “pushed” deep into the past; in other words, the recently diverged populations will present a high degree of variation because slightly deleterious mutations would have not been yet purged, and the molecular clock will overestimate the time it would take to produce such variation.⁸⁹ By pre-dating phenomena that have happened during the Holocene, it is not surprising that estimates based on molecular clocks differ from those based on archaeological findings.⁹⁶

The discrepancy between genetic and archaeological data has also led to the questioning of the assumptions on the tempo and mode of domestication that underlie the apparently straightforward interpretation of genetic patterns shown by the topology of phylogenetic trees. As described earlier, it is common to infer the number of domestication events that gave rise to a crop according to the topology of a phylogenetic tree (a single domestication event within a single geographic locality will lead to monophyly, while two or more events in different areas will produce a polyphyletic pattern because each domestication

event would be genetically independent⁸²). However, it could also be the case that, instead of being the result of a bottleneck, the crop was a composite product of different selection events taking place at different geographical localities. In the presence of a weaker artificial selection process and a predomestication period more lengthy and geographically extended, there would be enough time for recurrent gene flow among domesticated populations and wild relatives to lower the likelihood that the crop would be associated with a narrow geographical range and that multiple domestications would be genetically independent (the so-called protracted model of domestication⁹⁷). Under this scenario, crops with multiple origins would appear monophyletic because of gene flow (according to computer simulations, populations monophyly would be attained in $\sim 2N$ generations, i.e., on a time that depends on the size of the domesticated population⁹⁷), in which case monophyly would be of little help for differentiating between multiple and single domestication events.⁹⁸ Nevertheless, in a critical reconsideration of the proposal of Allaby et al.⁹⁷, Ross-Ibarra and Gaut⁹⁹ found that single domestication events are more likely to show a monophyletic pattern, even with larger effective population sizes, and that although two domesticated pools with admixture can indeed attain monophyly, this happens much longer (one order of magnitude, $\sim 40N$ generations) after their initial domestication.

Additionally, it would be necessary to take into account the reproductive biology of the plants under domestication, as the amount of gene flow necessary to lose the genetic independence among localities would depend on the species' outcrossing rate¹⁰⁰, although the proponents of the protracted model signal that monophyly is attained even in the case of self-pollinating species.⁹⁸

In a similar way, tree-based methods (e.g. parsimony, Neighbor-Joining, UPGMA) have been signaled as inappropriate for the reconstruction of the historical relationships below the species level. They have been criticized for assuming a strong hierarchical, bifurcating structure in the data where different branches evolve independently from one another, while historical relationships below the species level commonly include reticulate processes because of gene flow, which leads to the sharing of neutral loci between populations (reticulate processes include recombination as well, but as previously mentioned one should not use recombinant loci in phylogeographic analyses). Tree-based methods, as it is their purpose, will attempt to find the tree-like structure that best explains the observed patterns in the data even in the presence of reticulation¹⁰¹ and, as a result, the appearance of a monophyletic group cannot be considered as a reliable indicator of the taxon being a distinct evolutionary lineage. Fortunately, low bootstrap support for some branches can correctly suggest the presence of

introgression and gene flow.¹⁰² Network methods that allow for cycles (or loops) that represent non-dichotomous relationships between individuals have therefore been signaled as more appropriate when dealing with intraspecific genealogies that lie at the phylogeny/tokogeny boundary, i.e., that span the continuum between phylogenetic and population genetic processes.²⁴ Networks are intended to display in a single graph a generalization of the different phylogenetic trees that can be obtained from the data when character conflict exists on the definition of the genealogical pathways that should connect the samples due to the reticulation process. In consequence, these methods are useful exploratory tools for visualizing data. Yet there are two potential biological interpretation of such networks: they can represent character-state evolution where relationships between ancestors and descendants are non-dichotomous (due for example to introgressive hybridization, in which case the network represents a hypothesis of the true phylogenetic history, e.g., reticulate networks), or they can portrait the uncertainty due to incompatibilities within the data set (and not all the nodes and branches would necessarily represent ancestors and evolutionary events, e.g. split networks).^{101,103} Networks can be based on distance measures or character states^{24,101}; they can also be built from trees obtained from different data sets (i.e. consensus networks¹⁰⁴). Belonging to this class of methods, haplotype networks based on organelle data (cpDNA, mtDNA) have been widely used in phylogeographic analyses, but it seems that, in general, network methods applied to nuclear data (such as fingerprinting with AFLPs) have not been fully exploited in the research for the origin and evolutionary patterns of domesticated species.

Additionally, nonhierarchical clustering methods (e.g. principal component analysis) that do not require assumptions about the underlying distribution of data or mutation models of gene evolution have been suggested as a useful approach for identifying the genetic relatedness of samples in the presence of introgression because, in the presence of reticulate processes, genetic distance measures may be a better indicator of the relationships among individuals than synapomorphy.¹⁰² Assignment methods represent as well an interesting approach for the analysis of data that have been subject to reticulation processes, with similar results to those obtained by network and PCoA methods (e.g. Heun *et al.*¹⁰⁵).

New tools

As with many studies dealing with the history of organisms, phylogeographic analyses are being enriched by different disciplines and approaches. The explicit incorporation of the geographical dimension of population evolution has been particularly signaled as an

important condition for future studies, which should complement the (relatively) well developed demographic/phylogenetic methods of the phylogeographic field. Ecological niche and dispersion models associated to Geographic Information Systems (GIS) have been proposed as useful tools for reconstructing past species distribution, which can then be compared to present-day phylogeographical patterns.^{106–108} Such geographical models can also be used for proposing hypothesis that can subsequently be tested using statistical phylogeography.^{109,110} On the other hand, phylogenetic spatial diffusion models represent another approach where GIS play an important role. These models treat the geographical locations of a group of sequences as a trait in the organism's phylogeny, and intend to reconstruct where and when the direct ancestors of that sample existed, whether by means of heuristic approaches such as parsimony, or by using probabilistic methods such as maximum likelihood and Bayesian statistics.⁶⁵

Additional proposals on the study of the geographical origins of crops are associated to the study of domestication genes, i.e. those genes that are responsible for the traits that define the “domestication syndrome” of the species (e.g. tough rachis, apical growth). The comparison of the phylogeographical affinities between domestication genes and neutral loci (from nucleus and organelles) can reveal the geographical and temporal dynamics of the domestication process and the composite origins of a given crop.⁹⁸ For example, domestication genes shared by different lines can be of recent origin while their non-recombining chloroplasts or neutral nuclear genes can be highly divergent, revealing that they are the product of selection from different wild sources followed by hybridization and selective breeding.^{83,92} Nevertheless, it is important to point out that the analysis of the phylogeographic affinities of domestication genes has been proposed in the context of annual plants (e.g., *Triticum*), whose domestication traits have been commonly identified to have a monogenic basis.^{2,80,83} The traits that characterize domesticated long lived perennials, in contrast, have been documented to be regulated by more than one gene¹¹¹, making this approach less feasible for the study of their history.

Phylogeography of domestication in long-lived perennial plants (trees)

Annual plants constitute the main study system of domestication because of their close association to agriculture, with two families, Poaceae and Fabaceae, including one third of the

world's domesticated plants.¹¹² Their short life cycles, relatively small amounts of gene flow (some species, such as wheat *Triticum aestivum* L. and lentils *Lens culinaris* Medik., are able of self pollination) and high structure among populations¹¹³ favor artificial selection and their isolation from wild relatives, facilitating their domestication. Still, a high diversity of perennial plants from a wide number of botanical families has also been domesticated in different regions of the world. Perennial plant domestication represents a challenge because these plants have long life cycles and exogamous reproductive systems that favor high amounts of intra and inter specific gene flow, which in turn are associated to high levels of inbreeding depression and populational genetic diversity.¹¹⁴ Because of their long-life cycles where fewer sexual generations occur in a given period of time, trees were generally domesticated at a slower rate than annual plants and exhibit fewer domestication syndrome traits.^{2,115} Together with their biological characteristics contrasting with those of annual plants, trees are interesting study systems for the analysis of domestication processes by the diversity of their reproductive strategies, which include sexual and asexual reproduction, their various evolutionary origins reflected in the range of botanical families and orders they belong to, and the ecological setting where they are found, from arid zones to humid tropical forests and temperate regions.

Among their characteristic features, three aspects outstand as directly affecting the evolutionary patterns of trees under domestication: a long juvenile phase, remarkably high levels of gene flow, and low genetic population structure. When natural colonization processes occur, the delayed maturity of trees allows for the arrival of new founders before the first individuals start to reproduce, decreasing the founder effect. In contrast, annual plants that reproduce the first year can quickly fill the available space with their offspring. In this sense, delayed reproduction acts as a key factor (even more important than overlapping generations) in reducing the effects of the domestication bottleneck, maintaining high diversity and low differentiation levels among populations of trees.¹¹⁶ Another factor contributing to their genetic diversity and low structuring is their mating system (i.e. outcrossing) which increases pollen flow over long distances and reduces genetic drift.¹¹⁷

Since their levels of pollen flow lead to a highly heterozygous progeny and character segregation, the asexual reproduction of selected individuals has been pointed out as the main strategy allowing for the domestication of woody long-lived perennials in the Old World (Fig. 2A).^{118,119} Indeed, more than 75% of domesticated perennial fruit crops in the world are

clonally propagated¹¹¹, a strategy that sidesteps the genetic segregation in the progeny and reduces the time for fruit production. It has been signaled as well that the two historical waves of tree domestication, around 4,000 and 3,000-2,000 years ago, were related to the development of vegetative propagation strategies.¹¹⁵

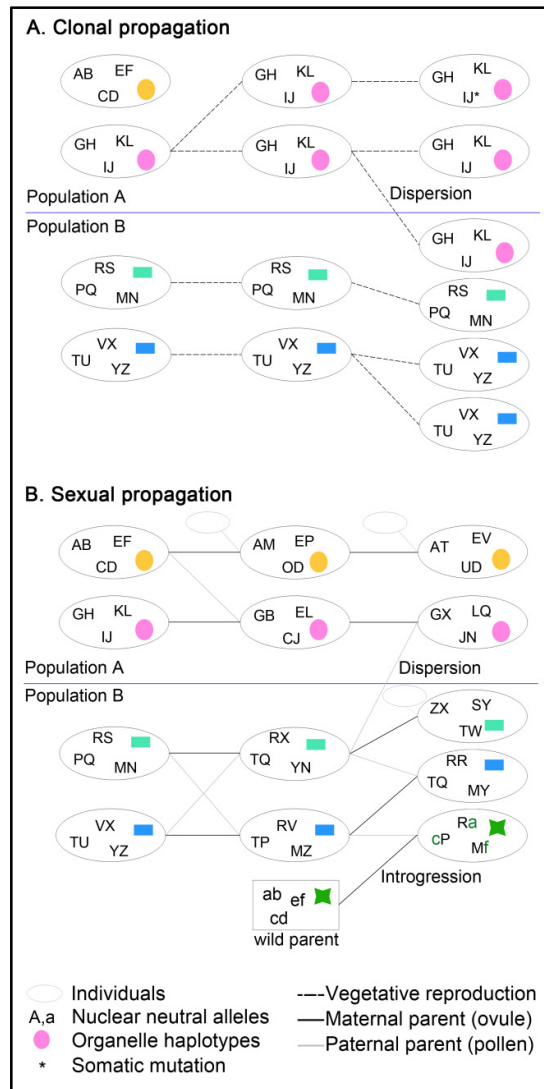


Fig. 2. Clonal and sexual propagation generate contrasting genetic outcomes. A) With clonal propagation, individuals retain their nuclear and organelle (mtDNA and cpDNA) genetic constitution, and diversity arises through somatic mutations. B) Sexual propagation leads to new nuclear genetic combinations, while organelle DNA is inherited as a unit (in angiosperms cpDNA and mtDNA are mainly maternally inherited). Dispersion and introgression events can be detected through nuclear (when foreign pollen and ovules are incorporated to the domesticated pool) and organelle DNA (only when foreign ovules –future seeds– are incorporated).

The first consequence of the adoption of clonal propagation is that the juvenile phase length that characterizes the natural life cycle of trees becomes greatly reduced, and the founder effects are no longer buffered. Additionally, many propagules can be

obtained from one individual in a small period of time in such a way that one genotype can quickly be dispersed, preventing the incorporation of new genotypes to the domesticated pool, just as in a short-lived plant. On the other hand, in order to ensure fruit production of clonally propagated trees despite their autoincompatibility systems, it has been necessary to select individuals with higher rates of autocompatibility (plums, almond), hermaphroditism and monoecy (in the case of naturally dioic species as grape) or partenocarpy (pear, fig).¹¹⁹ Taken together, clonal propagation and autogamous breeding systems are expected to produce lower amounts of gene flow and greater levels of genetic drift, leading to a higher differentiation among populations in domesticated perennial species.

From a long-term evolutionary perspective, selection and vegetative reproduction of high quality individuals (described as an act of *automatic domestication*¹¹⁹), signify that cultivars of clonally propagated species are not true lineages, but clonal replicates of exceptional individuals.¹²⁰ This would mean that they have experienced a small number of reproductive cycles since they were brought into cultivation, a strong reduction of genetic diversity and a small divergence from their wild progenitors (Fig. 2A).¹¹⁹ With the generation of a stronger founder signal and the increasing of population differentiation among clonal lineages, the adoption of asexual reproduction should make things easier for the identification of dispersal routes and centers of origin, even in the presence of a low structuration among wild populations.

However, it is worth noticing that there also are tree species that have been domesticated albeit their reproduction by seeds, especially in Mesoamerica and the Amazonian region. It has been proposed that fruit tree domestication can be achieved through the gradual transformation of the composition and structure of forests, from slightly modified forests where valued species are stimulated and non-valued species are removed, to human-controlled environments where tree crops entirely adapted (selected) for particular uses are incorporated.¹²¹ Between these two ends, intermediate agroforestry systems can be identified where trees are currently being domesticated.¹²² Among them, swidden agriculture has been proposed as an efficient setting for seed-propagated tree domestication as it favors small population sizes (promoting genetic drift and inbreeding), prevents overlapping generations and keeps the plot isolated from wild populations.¹²³ It has been proposed as well that seed-propagated tree domestication is the product of the elimination of undesired trees, together with *the* cultivation of high-quality individuals in homegardens and the subsequent selling of their fruits in markets, something that promotes the dispersal of their genotypes.¹²⁴

In these species, higher levels of gene flow among individuals and populations due to pollen and seed dispersal are expected to produce higher amounts of genetic diversity inside populations and a lesser structuring between them, together with a higher degree of interspecific hybridization with wild relatives (Fig. 2B). Their long juvenile phase and larger population sizes would allow, just as in wild populations, a mitigated founder effect. In the long term, propagation through seeds means that these species have experienced a higher number of reproductive cycles since the first stages of human selection. As a whole, reticulate processes associated to gene flow, the loss of alleles shared with the original progenitor due to successive backcrossing events, the low structuring between populations and larger population sizes that favor incomplete lineage sorting make the reconstruction of historical relationships between populations a difficult task. Still, differences can be found between species according to pollination ecology and seed dispersal syndromes.

Whether individuals have been clonally or sexually propagated, chloroplast data are particularly useful for tracking the phylogeographic history of domesticated tree species because, being maternally inherited, cpDNA can reveal the genetic affinities between populations. Analysis based on nDNA are also useful for assessing the degree of reduction of genetic diversity due to the domestication bottleneck and for revealing if there have been introgression events with other domesticated pools or with wild relatives (Fig. 2). Yet, interpretation of organelle or nuclear genes sharing between domesticated and wild pools is not straightforward mainly due to the difficulty of distinguishing introgression from ancestral polymorphism retention.¹²⁵ In the presence of clonal propagation it is expected that the domestication bottleneck will affect in a similar way both nuclear and organelle loci, while with seed propagation, diversity at organelle loci is expected to be more severely reduced (due to their smaller effective size) than nuclear loci.

In this section, we will portray a brief overview of the genetic and phylogeographic patterns found in selected domesticated tree species with contrasting reproductive and ecological characteristics. We have chosen, as representatives of the clonal propagation strategy: olive (*Olea europaea* L.), date palm (*Phoenix dactylifera* L.), fig (*Ficus carica* L.), apple (*Malus domestica* Borkh.), all from the Old World, as well as ciruela (*Spondias purpurea* L.) from Mesoamerica. As representatives of the seed propagation strategy: coconut (*Cocos nucifera* L.) from the tropical areas of the world, as well as pejibaye (*Bactris gasipaes* Kunth), cacao (*Theobroma cacao* L.), and avocado (*Persea americana* Mill.) from the Amazonian region and Mesoamerica. We have organized the information regarding their evolution under domestication on three main topics: levels of genetic variation and structuring

between populations; identification of centers of origin and, accordingly, dispersal routes to other geographical areas; and contribution of wild relatives to the domesticated pool through introgression events. Finally, by reviewing the methods followed by those who have looked for their origins it is also our purpose to provide a general outlook on the data analysis strategies of this dynamic and diversifying field.

Genetic diversity and structure

On their review regarding the consequences of domestication on genetic diversity, morphology and reproductive system of perennial fruit crops, Miller and Gross¹¹¹ found that domesticated tree species have undergone a limited reduction of genetic variation, keeping more than 60% of the genetic diversity found in their wild parents, even exceeding it in some cases (up to almost 130% in the case of *Leucaena esculenta* L.¹²⁶). Data from our set of domesticated trees are in accordance with these estimates (Table 2), suggesting that their genetic variation has undergone a weak bottleneck. Even in such cases where the wild parent is unknown or has not been studied, which prevents direct comparisons, domesticated trees show levels of variation that correspond to those observed in wild long lived perennial species with outcrossing mating systems (based on allozymes, observed heterozygosity $H_o=0.180$) and with animal-propagated seeds ($H_o=0.225$).¹¹³ Interestingly, clonally propagated species do not show lesser amounts of diversity when compared to seed-propagated ones. Even European grape, which suffered from a dramatic reduction in cultivar diversity due to mildew diseases and phylloxera in the second half of the nineteenth century, does not show evidences of additional bottlenecks.¹²⁷

In contrast, the distribution of this diversity among populations of wild and domesticated status shows clear differences between species. For example among clonally propagated species, domesticated grape and ciruela show a slightly higher structuring among populations than their wild counterparts, while cultivated olive has similar levels of structuring when compared to wild oleaster populations. On the other side, clonally propagated fig presents a surprisingly low proportion of genetic variance among domesticated populations. The expectation of a stronger genetic structure due to increased levels of genetic drift associated to vegetative propagation is therefore not observed in most of the cases. Moreover, species that have been cultivated through cuttings and those propagated through seeds do not seem to contrast as much as expected due to their mode of propagation. What causes, additional to the biological characteristics of perennial plants already described, can

be identified to account for the high genetic diversity and moderate levels of genetic structuring observed in the species revised?

Mating system can be signaled as an important factor in the cases of fig and date palm, which are clonally propagated species with very low levels of genetic structuring. Fig and date palm are dioecious, making necessary to plant, next to fruit-producing female individuals, pollen-producing males in order to bear fruit (although there also are parthenocarpic fig varieties). By enhancing the planting of more than one variety in the same plot, dioecy propitiates gene flow among cultivated individuals, and between cultivated and wild plants, producing genetically variable offspring that can be incorporated to the domesticated pool (see next section about introgression).

However, intraspecific diversity, expressed in a great number of cultivars and local forms, is probably the most striking aspect shared by the perennial species shown in Table 2. From an unknown number of varieties distinguished by their different fruit size, color and flavor in *Spondias purpurea* to the 5,000-8,000 formally described grape varieties, domesticated perennial species have been the object of distinct selection pressures in order to fulfill local gastronomic and aesthetic preferences, as well as for adapting cultivars to particular environmental conditions. The occurrence and selection of somatic mutations has been pointed out as an important mechanism behind the diversification of some cultivar groups or families.¹²⁸⁻¹³⁰ Still, somatic mutations cannot account for all of the intraspecific diversity observed in domesticated perennial species. It is more likely that such diversity is the product of several selection events, whether from separate and independent wild sources (in which case every cultivar is a different clone isolated from the others because of vegetative propagation) or from the available cultivated diversity (and a given cultivar can result from the crossing between two previously existing cultivars, or between a cultivar and a wild parent). This would mean that domesticated perennial species retain high levels of genetic diversity and a moderate structuring due in large measure to successive events of human selection that propitiate the incorporation of different genetic variants to the domesticated pool, and to the presence of intra and interspecific hybridization among cultivars, and between cultivars and their wild parents.

Centers of origin and geographical dispersal

The study of phylogeographic data provides interesting insights into the history of each perennial species, and allows for the identification of patterns that shed light on the processes that characterize the domestication of trees as a whole. On one hand, the geographical

distribution and relative frequency of organelle genetic variants (haplotypes) in populations and cultivar collections has been the main tool for the identification of dispersal routes of domesticated varieties, and, at the same time, for the location of their center of origin. This has been the case in olive and grape, probably the most studied domesticated perennial species, which share a pattern of East to West dispersal in the Mediterranean Basin, from the Near East up to Portugal (references in Table 2). The existence of a genetic structure in wild populations that predates their domestication has been most useful for the identification of such processes; it harbors great relevance as well for the design of conservation strategies oriented to safeguard genetic resources destined to breeding strategies.^{131,132} However, in some cases the domesticated lineage has not kept the trace of the structure observed in wild populations, hindering the reconstruction of its geographical history, as it is the case of fig¹³³; this can be caused by hybridization among cultivars, which creates reticulate relationships among nuclear loci, and by their dispersal to different regions, which propitiates gene flow and entangle haplotypes from different areas. Finally, the absence of a wild progenitor to be included in genetic analyses and to which compare the observed patterns is undoubtedly an important obstacle in the search for the center of origin and dispersal routes of domesticated species, such as in the case of date palm, which is found only as a cultivated plant or in anthropogenic areas.¹³⁴ Nevertheless, dispersal routes and the center of origin have not been easy to identify in certain cases mainly due to a lack of appropriate data, particularly from organelle loci. In cases such as pejobaye and cacao, cultivated pools have been found nested within different wild populations, either suggesting that wild and domesticated populations have exchanged genetic material (i.e., hybridization) or that domestication have occurred more than once. These two scenarios could be differentiated if organelle data were compared to nuclear patterns, but in the absence of cpDNA or mtDNA analyses, dispersal has been deduced to occur from the most genetically (based on nuclear data) and/or morphologically diverse area towards other regions where the domesticated species is found, following Vavilov's principles. But, as expected, debate takes place in the presence of biological and historical evidence in favor of contrasting hypothesis (as in cacao^{135,136}).

Overall, the cases described in Table 2 show that there exist a range of situations on the information about the history of domesticated perennial species that can be retrieved from genetic data. On one side, clearly structured genetic patterns from nuclear and organelle loci have allowed for the definition of particular regions as the center of origin of species as olive and grape (i.e., Eastern Mediterranean Basin), from where germplasm was dispersed to other areas whose local wild populations contributed to the domesticated gene pool (e.g. Italy,

Spain). Data therefore suggest a single origin for these species, although the presence of western organelle haplotypes with admixed nuclear alleles can also suggest domestication of western populations, followed by hybridization with introduced Eastern cultivars, which would mean multiple origins for these crops. A clear geographical pattern of mtDNA have also revealed at least two domestication events in the case of ciruela.¹³⁷ In contrast, most of the perennial species revised display complex patterns and/or have been studied with less detail, making difficult to pinpoint their center of origin and to know if they have been taken into cultivation one or many times.¹¹¹ Complex relationships lacking a geographical arrangement among cultivars have revealed an intricate history of human selection, dispersion and gene flow in the case of dioecious date palm and fig. Albeit being reproduced through cuttings, olive, grape, fig and date palm show contrasting genetic and phylogeographic patterns, due to their different mating systems as well as different particular histories (Table 2). Tropical species propagated by seeds as cacao and pejibaye show an intermediate situation: they display interesting patterns of geographically structured genetic diversity but these have been interpreted in contrasting ways. Complex relationships among coconut cultivars due to its long history of human management combined with its high capacity of water dispersal have also hampered the reconstruction of its domestication history at a regional scale, although the main patterns of its dispersal have been elucidated at the world scale.¹³⁸ In these three tropical species, whose history has been studied through nuclear markers only (Table 3), additional organelle data should help to identify their closer wild parents and to clarify their dispersal routes. Finally, although the main genetic pools of ciruela and avocado have been identified in Mexico and Central America^{137,139,140}, little is known about the history of their dispersal and domestication at a local scale. In the case of avocado, most studies have dealt with the origins of cultivars developed in the last two centuries from the main three avocado races, but the history of each race within its original area of distribution together with the historical relationships among these races predating modern breeding efforts remain to be addressed.

Introgression from wild parents

The comparison of nuclear and organelle markers has also allowed for the identification of introgression events with wild populations in different areas of the current distribution of many domesticated tree species. The detection of domesticated individuals or cultivars harboring haplotypes that are characteristic of sympatric wild populations suggests that wild plants were pollinated by domesticated forms and, subsequently, the resulting seeds were

incorporated into the cultivated pool. This phenomenon has been identified in grape¹⁴¹, where gene flow from cultivated forms into wild populations has been calculated to be from 4.2 to 26%.¹⁴² The pollination of domesticated individuals by wild pollen has also been documented in those cases where a given cultivar shares its cpDNA or mtDNA haplotype with other domesticated forms, but harbors nuclear alleles present in sympatric wild populations. In cases where organelle data are not available, the composite nature of hybrid cultivars or individuals has been detected through multivariate approximations, assignment methods and pedigree analysis, as in apple, ciruela, apple and avocado (refs. in Table 2). The high degree of phylogeographic blurring and complex relationships between female cultivars in dioecious species (fig and date palm) is most probably due to hybridization events. As previously mentioned, the almost essential presence of male individuals needed for pollination and fruit production has opened the door to pollen mediated gene flow from wild populations into the domesticated pool, leading to the development of new local cultivars, as it has been documented in fig from Morocco.¹⁴³

As a whole, these evidences are in agreement with the already well known potential of trees for intraspecific (e.g. olive, grape, fig, coconut, date palm and avocado) and interspecific gene flow (e.g. ciruela and apple). More importantly, these data show that seeds, which contain the new genetic variants produced by cross-pollination, have significantly contributed to the evolution of domesticated tree populations, even in those species that have been traditionally propagated through cuttings in the Old World. This phenomenon also accounts for their high levels of genetic diversity, as tree species with both sexual and asexual modes of reproduction may maintain higher levels of genetic variation.¹⁴⁴

Table 2. Main characteristics of ten selected perennial species domesticated in the Old and New Worlds.

| Species (family) | Propagation ¹ | Mating system ² | Pollination syndrome | Age at maturity (years) | Intraspecific domesticated diversity | Genetic diversity compared to wild parent (marker) | Cultivated pool structuring [wild pool structuring] (marker) | Refs. |
|--|--------------------------|---|--|-------------------------|--|--|--|------------------------------------|
| <i>Olea europaea</i> L. subsp. <i>europaea</i> (Oleaceae) | V | Andromonoecy, self-compatible to self-infertile | Wind | 5-6 | ~1200 recognized cultivars for the obtention of oil or olives | 57.5-64% (isozymes) | D=0.50-0.93 [0.51-0.87] (AFLPs) | 119,132, 148, 154–160 |
| <p>Main genetic and phylogeographic patterns: Differentiation among Western and Eastern Mediterranean Basin in cpDNA and mtDNA reveals selection of cultivars in the Near East followed by their dispersion to the West, as well as selection of germplasm of Western origin. Nuclear differentiation retains the East-West cline of wild populations and reveals affinities between cultivars and local wild forms, generated whether by local selection or by posterior hybridization with introduced cultivars.</p> | | | | | | | | |
| <i>Vitis vinifera</i> L. subsp. <i>sativa</i> (Vitaceae) | V | D (silv) H, A (dom) | Wind, autopolllination | 3 | ~5000 cultivars destined to wine, raisin or table grape production | 69-132% (SSRs) | D=0.769 [0.684] Gst=0.353 [0.169] (cpDNA SSRs) | 119,127, 128,131, 141,142, 161–164 |
| <p>Main genetic and phylogeographic patterns: Originated in the Near East, especially the genetically diverse Caucasus, cultivated grapevine was dispersed towards the West with the ‘wine culture’. Organelle and nuclear data suggest gene flow between Eastern cultivars and Western wild grapevines, with local selection events giving rise to Western cultivars, especially in the Iberian Peninsula and Italy which represent glacial refugia. Pedigree relationships have revealed crosses among elite cultivars and the diversification of cultivar families already documented in historical sources, together with a differentiation linked to fruit uses (wine/table grapes).</p> | | | | | | | | |
| <i>Ficus carica</i> L. (Moraceae) | V | D | Parthenocarpy (dom) Wasps (wild, dom) | 2-4 | ~700 cultivars | Ho=0.44-0.55 (SSRs) in cultivated varieties | Fst= 0.031-0.164 (mtDNA RFLPs) | 119,133, 143, 165–169 |
| <p>Main genetic and phylogeographic patterns: Probably originated in Transcaucasia and the Middle East, it was dispersed to the South and West. Three main wild gene pools predating domestication have been identified based on mtDNA: Balearic, East and West Mediterranean, with probable introgression among East and West populations due to human activities. Based on nuclear markers, cultivars (i.e. female trees) show complex relationships, with a weak genetic structure and mixed ancestry that lack the traces of colonization processes or of their geographic origin. At a local scale, old varieties coexist with more recent cultivars produced by hybridization with native wild male trees and, to a minor extent, by somatic mutations.</p> | | | | | | | | |
| <i>Phoenix dactylifera</i> | V, S | D | Wind, bees (wild, | 6-10 S | ~5000 (female), classified | Ho=0.81-0.99 | | 119,134, |

| | | | | | | | |
|---|---|----------------|------------------------------|----------------|--|--------------------------------------|-----------------------------|
| L. (Arecaceae) | | | dom) Manual (dom) | 4-5 V | as dry, semidry and soft | (SSRs) in cultivated varieties | 149,150, 165,170, 171 |
| <p>Main genetic and phylogeographic patterns: Its wild progenitor remains unknown. Based on historical evidences it was probably domesticated in the Persian Gulf region and later dispersed to North Africa. Nuclear markers have shown high levels of diversity and low levels of structuration, with genetic variability maintained locally within populations. Female cultivars show complex relationships, and are independently related to different male varieties.</p> | | | | | | | |
| <i>Malus domestica</i> Borkh. (Rosaceae) | I | | Insects | | 7000 cultivars | 105-108% (SSRs) | 95,125, 172–178 |
| <p>Main genetic and phylogeographic patterns: Based on morphological and cpDNA data, it has been recognized that apple was first domesticated from wild <i>M. sieversii</i> in Central Asia. Once introduced to Europe by Greeks and Romans, wild European <i>M. sylvestris</i> contributed to the domesticated genetic pool, as revealed by chloroplast and nuclear genetic analyses. However, relationships among cultivars are not well resolved according to pedigree, geographical origin nor kind of use (cider vs. dessert apples), probably due to the common occurrence of inter and intraspecific hybridization.</p> | | | | | | | |
| <i>Cocos nucifera</i> L. (Arecaceae) | S | M | Insects | ~600 varieties | Two main forms: self-pollinating dwarf with ‘niu kafa’ oblong fruits and cross-pollinated tall with ‘niu vai’ rounded fruit. | Fst=0.233 (SSRs) | 138, 180–186 |
| <p>Main genetic and phylogeographic patterns: Morphological diversity, local names, diversity of its uses and genetic variation suggest an origin in Southwest Asia, particularly the Malesian region, from where it was dispersed by ocean currents and human populations westwards to the Indian Ocean and Africa, and eastwards to America. Historical data and genetic analyses have confirmed that coconuts from the West and East coasts of the American continent have originated from introductions from the Philippines and Africa (via the Caribbean region), respectively. Although wild populations can be found in the Pacific islands and Central America, most populations include domesticated types or introgressed forms. Genetic markers have confirmed the distinction among tall and dwarf types.</p> | | | | | | | |
| <i>Bactris gasipaes</i> Kunth var. <i>gasipaes</i> (Arecaceae) | S | M, protogynous | Beetles, gravity and wind | 5-7 | 16 landraces | 93-116% (RAPDs, SSRs) | 123, 186–191 |
| <p>Main genetic and phylogeographic patterns: Probably domesticated in southwestern Amazon, where the greater diversity of landraces is found. Based on floral characters and a cline of nuclear genetic diversity, it has been proposed that the palm was later dispersed to the Northwest and Central America. However, other authors argue for multiple domestications within the species range based on fruit morphology and nuclear SSRs. Genetic closeness between cultivated and local wild palms has been interpreted by some as an indicator of gene flow, while others consider it as a trace of independent selection events.</p> | | | | | | | |

Low differentiation among populations (12-15%) and high within-population diversity. Nuclear markers have shown isolation by distance at a regional scale and significant gene flow at a local scale, following a metapopulation model linked to trade routes. Nuclear markers have also revealed inbreeding at a local scale and in varieties selected for spinelessness.

| | | | | | | | |
|--|---|-------|----------------------------------|-----|-----------------------------|-------------------------------------|---------------------|
| <i>Persea americana</i> Mill. (Lauraceae) | S | H, DS | Bees and other flying insects | 5-7 | 3 races/botanical varieties | 80-91% (nucleotide diversity) | 140,166, 193-197 |
|--|---|-------|----------------------------------|-----|-----------------------------|-------------------------------------|---------------------|

Main genetic and phylogeographic patterns: Races correspond to geographical ecotypes that were domesticated independently (highland Mexico, highland Guatemala and lowland Guatemala to Costa Rica). Races remain as distinct groups with nuclear markers, but many modern cultivars show hybrid (interracial) origins. Molecular markers have helped to identify the racial profile of the pollen donor of hybrid cultivars and to reclassify them.

| | | | | | | | |
|--|---|------|-------------|--|--|--|-----------------|
| <i>Theobroma cacao</i> L. (Sterculiaceae) | S | H, I | Moths, ants | | 3 morpho-geographical varieties (subspecies) (Criollo [Central America], Forastero [Upper and Lower Amazon], and Trinitario [hybrid of the other two]). | | 135, 197-202 |
|--|---|------|-------------|--|--|--|-----------------|

Main genetic and phylogeographic patterns: Nuclear and morphological data show Upper Amazonia (eastern flank of Andes in Peru, Ecuador and Colombia) as a center of diversity and possibly a center of origin. High homozygosity levels and low diversity in Criollo from Central America supports as well an origin in South America, from where cacao may have been spread by man northward to the South of Mexico. On the other hand, nuclear and uniparental markers show a clear discrimination between Criollo and Forastero types, suggesting that they diverged independently on both sides of the Andean barrier. In contrast, linguistic evidence suggests a northern origin (Central America), from where the primitive variety that gave rise to domesticated cacao may have disappeared.

| | | | | | | | | |
|--|---|------------------------|---------|--|--|----------------|--|-----------------|
| <i>Spondias purpurea</i> L. (Anacardiaceae) | V | Polygamo- dioecious | Insects | | Variation in fruit color, size, texture and taste | 90% (AFLPs) | $\theta_{st}=0.398$ [$\theta_{st}=0.302$] | 137,139, 204 |
|--|---|------------------------|---------|--|--|----------------|--|-----------------|

Main genetic and phylogeographic patterns: At least two origins have been proposed for this species based on uniparental markers: Western central Mexico and Central America. High diversity and unique haplotypes in cultivated populations suggest that agricultural habitats act as reservoirs of genetic variation. Ongoing hybridization or incomplete lineage sorting with *S. mombin*.

¹ V= Vegetative, S= Seeds

² H= Hermaphrodite, HD=Hermaphrodite dicogamous, D= Dioecious, M= Monoecious, DS= Dicogamous synchronized, A=Autocompatible, I=Autoincompatible
AFLPs: amplified fragment length polymorphisms; SSRs: simple sequence repeats; RAPDs: randomly amplified fragment length polymorphisms. D= Nei's genetic distance²⁰⁴; Ho= observed heterozygosity; Fst: Wright's population differentiation index²⁰⁵; θ_{st} : Stewart and Excoffier population genetic differentiation index²⁰⁶.

Towards richer models of evolution of domesticated perennial species

The incorporation of new genetic variants through seedling selection and the multiple selection of cultivars in different geographical areas reflect that the domestication of tree species (whether through cuttings or seeds) was not a rapid transition that occurred in a single area. On the contrary, genetic and phylogeographic patterns strongly suggest that the current composition of these species is the product of a range of processes including: 1) more than one starting point where some wild individuals were originally selected, 2) the dispersal of this primary domesticated pool to other areas and 3) the subsequent incorporation of new variants produced by cross-pollination among selected pools and between domesticates and local wild parents, which acted as female and male donors. Interestingly, this dynamic process seems to hold equally well for clonally and seed propagated species, as well as those distributed in temperate and tropical regions.

On one hand, this means that both nuclear and organelle data are needed for identifying routes of dispersal and patterns of gene flow. It means as well that it is necessary to enlarge our analytical toolkit with more powerful and adequate methods (Box 1 and Fig. 5) in order to disentangle the complex relationships among cultivars and populations. On the other hand, such a multifaceted scenario requires a closer collaboration between genetics and other disciplines such as ethnobotany for interpreting data, as well as for formulating new hypothesis and models (Fig. 3).

For example, a main issue where ethnobotany can play an important role is on the analysis of the mechanisms that are responsible for the incorporation of spontaneous hybrid seedlings to domesticated pools.¹⁴⁵ Fruit trade, followed by the sowing of the seeds contained in them, has undoubtedly acted as an important mechanism for the geographical dispersal of domesticates, as well as for the development of cross-bred individuals and, eventually, new varieties. Fruits are the main plant part selected in most tree species and are commonly transported to other regions for selling, away from their original area of cultivation. Although differences exist regarding the distance fruits can travel and the longevity of seeds within them (dates and coconuts are more easily transported than figs or avocados, for example), seeds are more resistant than clonal cuttings for such kind of journeys. Once made available in a new region, fruits can be acquired by a farmer that finds them appealing; he will then sow the seeds in order to have such an interesting variety in his orchard. Johannessen¹⁴⁶ documented this kind of process in the Amazonian region, where growers acquire high quality fruits of pejibaye palms from family members, friends and local markets for their own plantations, and then select the better individuals, incorporating introgressed individuals into the domesticated gene pool, which then becomes more diverse.¹²³

Aguirre-Dugua et al.¹⁴⁷ documented the transportation and cultivation of seeds and cuttings of preferred varieties of the gourd tree (*Crescentia cujete* L., Bignoniaceae) among Maya communities, which is in accordance with the genetic and morphological differentiation found between homegarden and wild populations; tolerance of spontaneous individuals harboring wild haplotypes and intermediate fruit morphologies is also in accordance with hybridization processes at a local scale (Fig. 4).

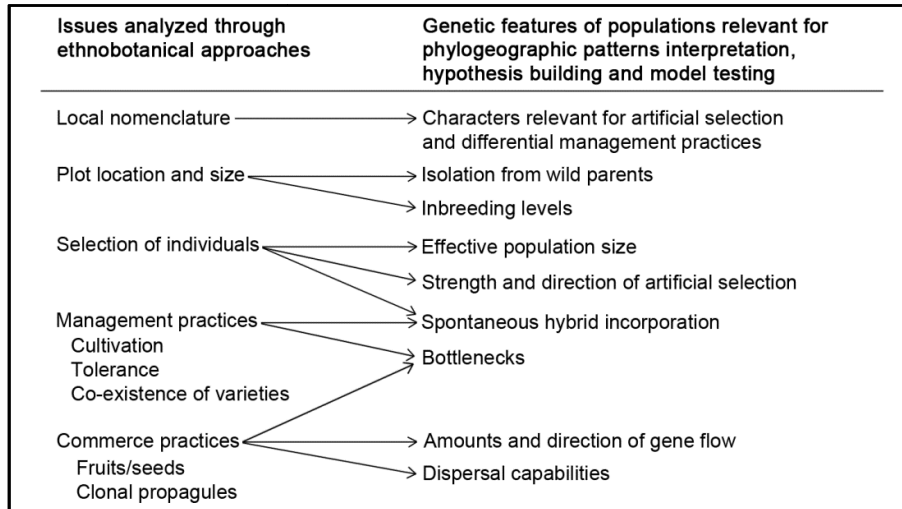


Fig. 3. Ethnobotanical studies represent a rich source of information on the genetic dynamics of populations under domestication. Information on human management practices of plant individuals and populations can be useful for interpreting phylogeographic patterns as well as guiding sampling strategies, proposing new hypothesis and testing models on the tempo and mode of tree domestication.



Fig. 4. Ethnobotanical information regarding the classification and management of *Crescentia cujete* varieties complements phylogeographic genetic data at a regional scale. A) Median joining haplotype network based on five cpDNA microsatellites, bars representing mutational steps; B) Distribution and frequency of haplotypes in trees from homegardens and wild populations in the Yucatan Peninsula, Mexico; C) Haplotypes found in trees from homegardens (populations marked Δ in B) recognized by the interviewees as belonging to domesticated and wild varieties based on fruit morphology. Note hybridization evidence (domesticated trees harboring green wild haplotype and wild trees with orange domesticated haplotype). Haplotype network and genetic data from Aguirre-Dugua et al.¹⁴⁷.

Similar evidence exist for the perennial species here reviewed which have been subject to a diverse array of human management practices that can account for genetic traces of hybridization. For example, in the island of Sardinia domesticated olives are grafted onto wild oleasters¹⁴⁸, a coexistence that should facilitate gene flow when wild shoots develop and flower. In the case of grape and apple, until the twentieth century plantations were constituted by many different varieties, and this likely gave rise to a naturally extensive hybridization.^{95,127} It is also known that common fig, if pollinated, produces better quality fruits than parthenocarpically developed figs¹³³, something that would favor human selection of sexually reproducing cultivars. It has also been documented that male figs used for pollination are collected and then hanged in the branches of female trees without taking into account their agronomical characteristics, allowing for the usage of any local male individuals.¹⁴³ In the case of date, seedlings are commonly grown for commercial propagation in Northern Africa and the Arabian Peninsula, where they receive a special name: “khalt” or “balady”.¹⁴⁹ Male date individuals, in contrast to fig, are strongly selected and used to hand pollinate female palms because of the favorable metaxenic effect of pollen on fruit size and quality¹³⁴; pollen grains are then usually stored and exchanged at a local and regional scale, as it is the case of offshoots, while seed dispersal takes place by travelers and traders across geographical borders.¹⁵⁰

Altogether, the documentation of management processes that involve selection and transportation of individuals, their fruits, seeds and clonal propagules, as well as practices that favor gene flow, are highly useful for interpreting and understanding population genetic data and phylogeographic patterns. Current farmer practices, commonly developed in traditional agroecosystems such as agricultural plots and homegardens, can be used to quantify and model the effects of artificial selection (whether conscious or unconscious) on the effective population size and inbreeding levels of tree populations, as well as for estimating the amounts and direction of gene flow among them. They can be used as “windows to the past” in order to unravel the genetic makeup of perennial species populations under domestication (Parra et al 2010)¹⁵¹; they also are “windows to the present” where valuable ongoing processes of domestication occur (Fig. 2).^{1,152}

Finally, if we consider the proposal of Wiersum¹²² on the co-domestication of forests and fruit trees, it is likely that different populations of the same tree species have been simultaneously managed and selected in a wide geographical area, exchanging

genes through fruit trade. Agroforestry systems where this management occurs could provide evidence for a protracted model of tree domestication; notwithstanding, they could also display stronger selection pressures and inbreeding dynamics in agreement with a rapid transition to domestication (as in pejibaye¹²³). These productive systems, analyzed from complementary genetic and ethnobotanical perspectives, could therefore be used for testing expected genetic patterns under different domestication models and provide new elements for the improvement of current proposals.

Conclusions and perspectives

Domesticated long lived perennial plants include a wide array of species with contrasting reproductive systems, ecological characteristics, and forms of propagation. Together with their particular histories, this diversity offers the opportunity to build a more comprehensive theory of plant evolution under domestication; it allows analyzing the relationship between particular features of trees and evolutionary facets such as bottleneck sensitivity, geographical dispersal capabilities, diversification and hybridization potential.

The majority of the analyses included in the literature revised in the present chapter have used descriptive phylogeographic approaches. Interestingly, despite the risks associated to the overinterpretation of data, descriptive studies using different data sets and methodological tools, from local to regional scales, have obtained consistent results in some widely studied species such as olive and grape. Yet, in other cases as in coconut, date palm, fig, pejibaye and cacao, the interpretation of genetic patterns has not been straightforward (mainly caused by complex reticulate relationships among populations and/or a lack of appropriate analytical methods) or has supported contrasting hypothesis about their origins. Nevertheless, a general picture emerges from the different phylogeographic, phylogenetic and population genetic studies developed on domesticated perennial species.

Domesticated perennial species present high genetic diversity levels (supporting the idea of their populations going through a weak bottleneck), dispersal over long distances, hybridization between domesticated pools and introgression with wild relatives in different areas of their current distribution. Tree domestication consists on a process that spans thousands of years where the initial steps of artificial selection took place in one or sometimes more than one geographical area, ensued by the dispersal of selected pools, the occurrence of gene flow with wild parents and other domesticated lines, and succeeding selection events in posterior historical periods. In this context, the testing of the two traditional opposite hypothesis (a single origin where a limited wild stock was selected at a particular period of

time vs. multiple origins with a large number of founders recruited along the distribution range of the wild progenitor) is replaced by the analysis of the assemblage of processes and mechanisms that have taken part in the molding of domesticated perennial plants as we know them today.^{89,98} The search for their precise botanical and geographic origins will remain, nevertheless, an active and important area of interest for researchers, breeders and conservationists.

The field of phylogeography and its tools (i.e., gene trees and the analysis of the spatial distribution of their branches) are particularly intended for some new promising areas of research on the evolution of domesticated perennial species. Among potential avenues of future inquiry there is, for example, the usage of palaeoclimatic models for estimating the historical distribution of wild parents and the coupling of such distribution with current patterns of genetic relatedness among domesticates and their wild relatives. Was the wild progenitor restricted to a particular area by the end of the Pleistocene or was it abundant and widespread? What is the probability of the domesticated pool having contact with a wild parent in a particular region at a given period of time and the likeliness of an introgression event? Is there any correspondence between the wild parent's historical distribution and the presence of archaeobotanical remains or documentary evidences? Can ancient DNA recovered from archaeobotanical samples^{94,153} be included in the genealogy of present populations?

Gene trees can also be used to address more general questions on perennial species domestication, such as the delimitation of their lineages. Zohary and Spiegel-Roy¹¹⁸ proposed that clonally-propagated trees do not represent true lineages because they are but clonal replicates of high-quality wild individuals and that they have undergone a reduced number of sexual cycles since they were first selected. However, data show that hybridization (and therefore sexual reproduction) has played an important role in the evolution of these species. On the other hand, seed-propagated species present a higher number of generations separating selected and wild individuals, but their important amounts of gene flow should hamper their differentiation. We may therefore ask if domesticated perennial species form true lineages (or a set of lineages) and, if so, which are the main evolutionary forces driving their differentiation (drift, artificial selection, reproductive or geographical isolation, etc.).

Finally, phylogeography can contribute to the natural history of these species and to the conservation of their genetic resources. Links can be drawn between the components of the gene tree and their geographical origin and provenance (i.e. homegarden, plantation, germplasm bank) for portraying a picture on the location of such resources, their diversity and

the genetic makeup of the different productive systems that harbor them. For example, we may ask whether traditional agroecosystems harbor varieties of old or recent origin, of wide or local distribution, of clonal or out-crossing origin.¹⁴³ Dioecious species merit special attention due to the differential contribution of male and female individuals, whose respective roles in the domestication process and the distribution of genetic resources have not yet been studied with enough detail. This information is essential in order to propose better conservation strategies coupled with productive practices.

As a whole, it is expected that future studies will enlarge the already available and well known set of descriptive analytical tools (population genetics descriptors, hierarchical clustering methods, multivariate analysis and assignation methods, see Box 1 and Fig. 5), for including tree methods that account for reticulate relationships and the testing of particular phylogenetic and demographic hypothesis through coalescent models under a statistical phylogeographic framework. The sampling of populations, additionally to the usage of individual accessions from germplasm banks, should also help building a richer picture of their evolution. Collecting wild populations becomes pressing as well because they are commonly under threat.^{95,131}

Finally, we hope for a richer exchange between ethnobotany and phylogeography. Documentation and analysis of plant management practices in traditional agroecosystems should provide a necessary frame of reference for interpreting genetic data obtained in phylogeographic studies. Relevant information provided by ethnobotanical studies includes the classification of local varieties, artificial selection practices, incorporation of spontaneous seedlings, management of clonal and sexual propagules, and commerce practices. They can act as a guide on artificial selection pressures, bottleneck events and gene flow mediated through seeds and pollen that can be useful for outlining better sampling schemes and formulating new questions and models on the processes that lie behind tree domestication.

Box 1.***On the methods used for studying the phylogeography of domesticated perennial species***

A brief overview of the methods employed in the literature on ten selected perennial species (Fig. 5) shows that most of these studies have relied on nuclear markers. Amplified fragment length polymorphisms (AFLPs) are recognized as a useful and reliable anonymous marker²⁹ and have been used in a variety of species such as olive, fig, date palm, coconut, pejobaye and ciruela. Simple sequence repeats (SSRs or microsatellites) have been widely used in the last decade and seem to be the marker of choice for future studies. In contrast, nuclear sequences have been used to a more limited extent. Surprisingly, there exists an important lack of data from uniparental markers in species such as avocado, pejobaye, coconut and fig. As for their statistical methods, they share similar approaches, mostly from descriptive phylogeography. Basic aspects of genetic data are displayed mainly by means of population genetic descriptors and analysis of molecular variance (AMOVA). Principal Coordinate Analysis (PCoA) is also a common approach, used in many studies next to clustering methods (UPGMA, NJ and parsimony trees) in order to contrast both non hierarchical and hierarchical approaches. Assignment methods have also been used in more recent studies and, as such, they will probably be used with more frequency in the future, especially when dealing with nuclear microsatellite data. Surprisingly, NCPA has seldom been used in these studies (only one example in ciruela¹³⁷) even during the decades when it was more widely used. Network approaches were seldom used in the studies revised, even when low bootstrap values in clustering methods were recognized by the authors as suggesting hybridization (for example in avocado and cacao^{195,201}). Finally, statistical phylogeography tools are not found among the sampled studies, excepting the analysis by Gunn et al.¹³⁸ in apple, who applied Approximate Bayesian Computation methods (ABC). This suggests that statistical phylogeography and coalescent analyses are starting to be used at a very slow pace. This can be explained, on one hand, by the fact that many of the studies are based on a population genetic perspective, dealing with a small number of populations at a time, commonly at a regional scale. They focus on the amounts and direction of gene flow among populations at an ecological timescale, and do not necessarily include an historical perspective. Nevertheless, population genetic studies have provided interesting data regarding introgression levels with wild relatives and among cultivars, and undoubtedly complement phylogeographic analyses of deeper timescales and wider geographical scope. On the other hand, many studies rely on the analysis of a small number of accessions from germplasm collections that do not allow for a population perspective on data analysis, even when samples from wild parents are included for analyzing clustering patterns. The analysis of relatedness and hybridization among domesticated lines and with their wild relatives based on germplasm collection samples have also been signaled as a limited approach for unraveling historical relationships, since a small number of individuals cannot be representative of a given variety or cultivar when there exists a high degree of naturally occurring gene flow, as in seed propagated outcrossing species¹⁸⁵.

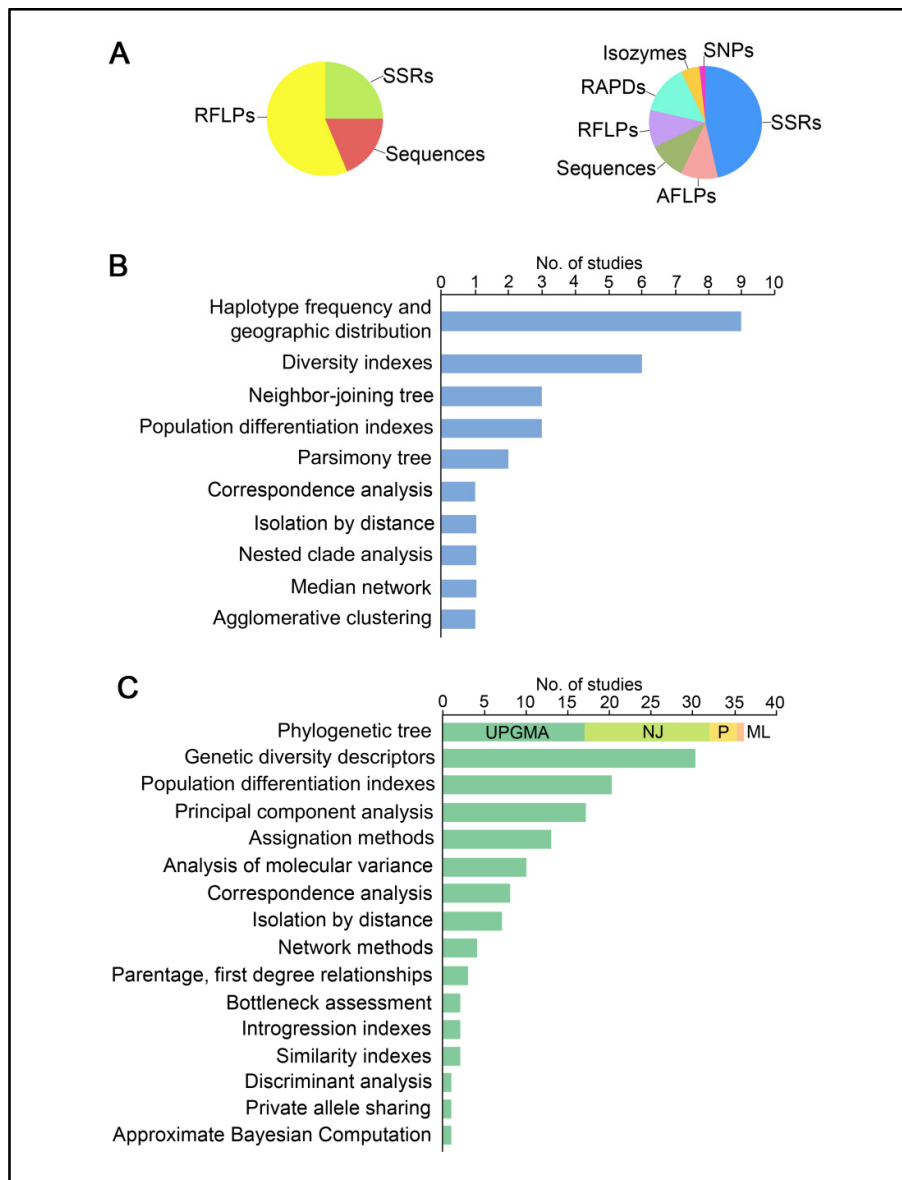


Fig. 5. Main methods employed by studies dealing with the history of ten selected domesticated perennial species (species and references in Table 2). From all the studies revised (n=59), eight used only organelle DNA (cpDNA and mtDNA), 45 utilized nuclear DNA and six used both organelle and nuclear DNA. A) Markers employed with organelle DNA (left, n=14 studies) and nuclear DNA (right, n=51). RFLPs: restriction fragment length polymorphisms; SSRs: simple sequence repeats or microsatellites; RAPDs: randomly amplified polymorphic DNA; AFLPs: amplified fragment length polymorphisms, SNPs: single nucleotide polymorphisms. B) Number of studies that employed different analytical methods with organelle DNA. C) Number of studies where diverse analytical methods with nuclear DNA were used. UPGMA: Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean; NJ: Neighbor-Joining; P: Parsimony; ML: Maximum Likelihood.

References

1. Casas A, Otero-Arnaiz A, Pérez-Negrón E, Valiente-Banuet A. In situ management and domestication of plants in Mesoamerica. *Ann Bot.* 2007;100(5):1101–15.
2. Pickersgill B. Domestication of plants in the Americas: insights from Mendelian and molecular genetics. *Ann Bot.* 2007;100(5):925–40.
3. Ladizinski G. *Plant evolution under domestication*. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers; 1998:254.
4. MacNeish RS. A summary of the subsistence. In: Byers DS, ed. *The Prehistory of the Tehuacan Valley. Volume 1: Environment and Subsistence*. Austin: University of Texas Press; 1967:290–309.
5. De Candolle A. *Origins of Cultivated Plants*. Ithaca: Cornell University Library; 1886:492.
6. Vavilov NI. Centers of origin of cultivated plants. In: Dorofeyev VF, ed. *Origin and Geography of Cultivated Plants*. Cambridge University Press; 1926:22–135.
7. Harlan JR. *Crops and Man*. Madison: American Society of Agronomy. Crop Science Society of America; 1975:284.
8. Wilson HD, Heiser CBJ. The origin and evolutionary relationships of “huauzontle” (*Chenopodium nutalliae* Safford), domesticated chenopod of Mexico. *Am J Bot.* 1979;76(2):198–206.
9. Matsuoka Y. Origin Matters: lessons from the search for the wild ancestor of maize. *Breed Sci.* 2005;55(4):383–390.
10. Gregory TR. Artificial Selection and Domestication: Modern Lessons from Darwin’s Enduring Analogy. *Evol Educ Outreach.* 2009;2(1):5–27.
11. Ross-Ibarra J, Morrell PL, Gaut BS. Plant domestication, a unique opportunity to identify the genetic basis of adaptation. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2007;104 Suppl :8641–8.
12. Mayr E. *Populations, species and evolution*. Cambridge: The Belknap Press of Harvard University Press; 1970:453.
13. Templeton AR. Using phylogeographic analyses of gene trees to test species status and processes. *Mol Ecol.* 2001;10(3):779–91.
14. Avise JC. *Phylogeography: the history and formation of species*. Cambridge: Harvard University Press; 2000:447.
15. Avise JC. Phylogeography: retrospect and prospect. *J Biogeogr.* 2009;36(1):3–15.
16. Schaal BA. Phylogeographic studies in plants: problems and prospects. *Mol Ecol.* 1998;7:465–474.
17. Hickerson MJ, Carstens BC, Cavender-Bares J, et al. Phylogeography’s past, present, and future: 10 years after Avise, 2000. *Mol Phylogenet Evol.* 2010;54(1):291–301.
18. Avise JC, Arnold J, Ball RM, et al. Intraspecific Phylogeography: Mitochondrial DNA Bridge Between Population Genetics and Systematics. *Annu Rev Ecol Syst.* 1987;18:489–522.
19. Palmer JD. Mitochondrial DNA in plant systematics: applications and limitations. In: Soltis PS, Soltis DE, Doyle JJ, eds. *Molecular Systematics of Plants*. London: Chapman and Hall; 1992:36–39.

20. Petit RJ, Vendramin GG. Plant phylogeography based on organelle genes: an introduction. In: Weiss S, Ferrand N, eds. *Phylogeography of Southern European Refugia*. The Netherlands: Springer; 2006:23–97.
21. Hare MP. Prospects for nuclear gene phylogeography. *Trends Ecol Evol*. 2001;16:700–706.
22. Knowles LL. Statistical Phylogeography. *Annu Rev Ecol Evol Syst*. 2009;40(1):593–612.
23. Strand AE, Leebens-Mack J, Milligan BG. Nuclear DNA-based markers for plant evolutionary biology. *Mol Ecol*. 1997;6:113–118.
24. Posada D, Crandall KA. Intraspecific gene genealogies: trees grafting into networks. *Trends Ecol Evol*. 2001;16(1):37–45.
25. Grivet D, Heinze B, Vendramin GG. Genome walking with consensus primers: application to the large single copy region of chloroplast DNA. *Mol Ecol Notes*. 2001;1:345–349.
26. Shaw J, Lickey EB, Beck JT, et al. The tortoise and the hare II; relative utility of 21 noncoding chloroplast DNA sequences for phylogenetic analysis. *Am J Bot*. 2005;92(1):142–166.
27. Weising K, Gardner RC. A set of conserved PCR primers for the analysis of simple sequence repeat polymorphisms in chloroplast genomes of dicotyledonous angiosperms. *Genome*. 1999;42(1):9–19.
28. Muller UG, Wolfenbarger LL. AFLP genotyping and fingerprinting. *Trends Ecol Syst*. 1999;14:389–394.
29. Bonin A, Ehrlich D, Manel S. Statistical analysis of amplified fragment length polymorphism data: a toolbox for molecular ecologists and evolutionists. *Mol Ecol*. 2007;16(18):3737–58.
30. Morin PA, Luikart G, Wayne RK, Group SW. SNPs in ecology, evolution and conservation. *Trends Ecol Evol*. 2004;19:208–216.
31. Brumfield RT, Beerli P, Nickerson DA, Edwards S V. The utility of single nucleotide polymorphisms in inferences of population history. *Trends Ecol Evol*. 2003;18:249–256.
32. Brito PH, Edwards S V. Multilocus phylogeography and phylogenetics using sequence-based markers. *Genetics*. 2009;135:239–455.
33. Pritchard JK, Stephens M, Donnelly P. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*. 2000;155(2):945–59.
34. Martínez-Castilla L. Reconstrucción de la historia de cambio de los caracteres. In: Eguiarte LE, Souza V, Aguirre X, eds. *Ecología Molecular*. México: Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, Instituto Nacional de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México, Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad; 2007:87–160.
35. Rutschmann F. Molecular dating of phylogenetic trees: A brief review of current methods that estimate divergence times. *Divers Distrib*. 2006;12(1):35–48.
36. Hennig W. *Phylogenetic systematics*. Urbana: University of Illinois Press; 1966:280.
37. Bandelt HJ, Forster P, Röhl A. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Mol Biol Evol*. 1999;16(1):37–48.

38. Ohta T, Kimura M. A model of mutation appropriate to estimate the number of electrophoretically detectable alleles in a finite population. *Genet Res.* 1973;22(2):201–204.
39. Di Rienzo A, Peterson AC, Garza JC, Valdes AM, Slatkin M, Freimer NB. Mutational processes of simple sequence repeat loci in human populations. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1994;91:3166–3170.
40. Crandall KA, Templeton AR. Empirical Tests of Some Predictions From Coalescent Theory With Applications to Intraspecific Phylogeny Reconstruction. *Genetics.* 1993;134(3):959–969.
41. Templeton AR, Routman E, Phillips CA. Separating population structure from population history: a cladistic analysis of the geographical distribution of mitochondrial DNA haplotypes in the tiger salamander, *Ambystoma tigrinum*. *Genetics.* 1995;140(2):767–782.
42. Templeton AR. Nested clade analyses of phylogeographic data: testing hypotheses about gene flow and population history. *Mol Ecol.* 1998;7(4):381–97.
43. Templeton AR. Out of Africa again and again. *Nature.* 2002;416:45–51.
44. Templeton AR. Statistical phylogeography: methods of evaluating and minimizing inference errors. *Mol Ecol.* 2004;13(4):789–809.
45. Templeton AR. A maximum likelihood framework for cross validation of phylogeographic hypotheses. In: Wasser SP, ed. *Evolutionary Theory and Processes: Modern Horizons*. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers; 2004:209–230.
46. Templeton AR. Coalescent-based, maximum likelihood inference in phylogeography. *Mol Ecol.* 2010;19(3):431–5.
47. Gifford ME, Larson A. In situ genetic differentiation in a Hispaniolan lizard (*Ameiva chrysolaeama*): a multilocus perspective. *Mol Phylogenet Evol.* 2008;49(1):277–91.
48. Knowles LL, Maddison WP. Statistical phylogeography. *Mol Ecol.* 2002;11:2623–2635.
49. Panchal M, Beaumont MA. The automation and evaluation of nested clade phylogeographic analysis. *Evolution (N Y).* 2007;61(6):1466–80.
50. Beaumont MA, Panchal M. On the validity of nested clade phylogeographical analysis. *Mol Ecol.* 2008;17(11):2563–5.
51. Nielsen R, Beaumont MA. Statistical inferences in phylogeography. *Mol Ecol.* 2009;18(6):1034–47.
52. Garrick RC, Dyer RJ, Beheregaray LB, Sunnucks P. Babies and bathwater: a comment on the premature obituary for nested clade phylogeographical analysis. *Mol Ecol.* 2008;17(6):1401–3; discussion 1404.
53. Knowles LL. Why does a method that fails continue to be used? *Evolution (N Y).* 2008;62(11):2713–7.
54. Petit RJ. On the falsifiability of the nested clade phylogeographic analysis method. *Mol Ecol.* 2008;17(2):1404.
55. Petit RJ. The coup de grâce for the nested clade phylogeographic analysis? *Mol Ecol.* 2008;17(2):516–518.
56. Templeton AR. Nested clade analysis: an extensively validated method for strong phylogeographic inference. *Mol Ecol.* 2008;17(8):1877–80.

57. Templeton AR. Why does a method that fails continue to be used? The answer. *Evolution (N Y)*. 2009;63(4):807–12.
58. Templeton AR. Statistical hypothesis testing in intraspecific phylogeography: nested clade phylogeographical analysis vs. approximate Bayesian computation. *Mol Ecol*. 2009;18(2):319–31.
59. Templeton AR. Coherent and incoherent inference in phylogeography and human evolution. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010;107(14):6376–81.
60. Panchal M, Beaumont M a. Evaluating nested clade phylogeographic analysis under models of restricted gene flow. *Syst Biol*. 2010;59(4):415–32.
61. Beaumont MA, Nielsen R, Robert C, et al. In defence of model-based inference in phylogeography. *Mol Ecol*. 2010;19(3):436–446.
62. Camargo A, Heyer WR, de Sá RO. Phylogeography of the frog *Leptodactylus validus* (Amphibia: Anura): patterns and timing of colonization events in the Lesser Antilles. *Mol Phylogenet Evol*. 2009;53(2):571–9.
63. Phillipsen IC, Metcalf AE. Phylogeography of a stream-dwelling frog (*Pseudacris cadaverina*) in southern California. *Mol Phylogenet Evol*. 2009;53(1):152–70.
64. Honda M, Matsui M, Tominaga A, Ota H, Tanaka S. Phylogeny and biogeography of the Anderson's crocodile newt, *Echinotriton andersoni* (Amphibia: Caudata), as revealed by mitochondrial DNA sequences. *Mol Phylogenet Evol*. 2012;65(2):642–53.
65. Bloomquist EW, Lemey P, Suchard MA. Three roads diverged? Routes to phylogeographic inference. *Trends Ecol Evol*. 2010;25(11):626–32.
66. Rosenberg NA, Nordborg M. Genealogical trees, coalescent theory and the analysis of genetic polymorphisms. *Nat Rev Genet*. 2002;3(5):380–90.
67. Kuhner MK. Coalescent genealogy samplers: windows into population history. *Trends Ecol Evol*. 2009;24(2):86–93.
68. Nielsen R, Wakeley J. Distinguishing migration from isolation: a Markov chain Monte Carlo approach. *Genetics*. 2001;158(2):885–96.
69. Hey J, Nielsen R. Multilocus methods for estimating population sizes, migration rates and divergence time, with applications to the divergence of *Drosophila pseudoobscura* and *D. persimilis*. *Genetics*. 2004;167(2):747–60.
70. Hey J, Nielsen R. Integration within the Felsenstein equation for improved Markov chain Monte Carlo methods in population genetics. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2007;104(8):2785–90.
71. Drummond AJ, Rambaut A, Shapiro B, Pybus OG. Bayesian coalescent inference of past population dynamics from molecular sequences. *Mol Biol Evol*. 2005;22(5):1185–92.
72. Ho SYW, Shapiro B. Skyline-plot methods for estimating demographic history from nucleotide sequences. *Mol Ecol Resour*. 2011;11(3):423–34.
73. Knowles LL. The burgeoning field of statistical phylogeography. *J Evol Biol*. 2004;17(1):1–10.
74. Smith BD. Documenting plant domestication: the consilience of biological and archaeological approaches. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2001;98:1324–1326.
75. Kaplan L, Lynch TF. Phaseolus (Fabaceae) in archaeology: AMS radiocarbon dates and their significance for pre-columbian agriculture. *Econ Bot*. 1999;53:261–272.

76. Piperno DR, Flannery K V. The earliest archaeological maize (*Zea mays* L.) from highland Mexico: new accelerator mass spectrometry dates and their implications. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2001;98:2101–2103.
77. Smith BD. Reassessing Coxcatlan Cave and the early history of domesticated plants in Mesoamerica. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005;102(27):9438–45.
78. Dickau R, Ranere AJ, Cooke RG. Starch grain evidence for the preceramic dispersals of maize and root crops into tropical dry and humid forests of Panama. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2007;104:3651–3656.
79. Doebley JF. Molecular systematics and crop evolution. In: Soltis PS, Soltis DE, Doyle JJ, eds. *Molecular Systematics of Plants*. New York: Chapman and Hall; 1992:202–222.
80. Doebley JF, Gaut BS, Smith BD. The molecular genetics of crop domestication. *Cell*. 2006;127:1309–1321.
81. Sonnante G, Stockton T, Nodarir O, Becerra-Velásquez VL, Gepts P. Evolution of genetic diversity during domestication of the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Theor Appl Genet*. 1994;89:629–635.
82. Zohary D. Monophyletic vs . polyphyletic origin of the crops on which agriculture was founded in the Near East. *Genet Resour Crop Evol*. 1999;46:133–142.
83. Gross BL, Olsen KM. Genetic perspectives on crop domestication. *Trends Plant Sci*. 2010;15(9):529–37.
84. Matsuoka Y, Vigouroux Y, Goodman MM, Sanchez G J, Buckler ES, Doebley JF. A single domestication for maize shown by multilocus microsatellite genotyping. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2002;99(9):6080–4.
85. Krell F-T, Cranston PS. Which side of the tree is more basal? *Syst Entomol*. 2004;29:279–281.
86. Crisp MD, Cook LG. Do early branching lineages signify ancestral traits? *Trends Ecol Evol*. 2005;20(3):122–8.
87. Nichols R. Gene trees and species trees are not the same. *Trends Ecol Evol*. 2001;16(7):358–364.
88. Maddison WP, Knowles LL. Inferring phylogeny despite incomplete lineage sorting. *Syst Biol*. 2006;55(1):21–30.
89. Larson G. Genetics and Domestication. *Curr Anthropol*. 2011;52(S4):S485–S495.
90. Emshwiller E. Genetic data and plant domestication. In: Zeder MA, Bradley DG, Emshwiller E, Smith BD, eds. *Documenting domestication: new genetic and archaeological paradigms*. Berkeley: University of California Press; 2006:99–122.
91. Meyer RS, Karol KG, Little DP, Nee MH, Litt A. Phylogeographic relationships among Asian eggplants and new perspectives on eggplant domestication. *Mol Phylogenet Evol*. 2012;63(3):685–701.
92. Fuller DQ, Willcox G, Allaby RG. Early agricultural pathways: moving outside the “core area” hypothesis in Southwest Asia. *J Exp Bot*. 2012;63(2):617–33.
93. Lister DL, Bower MA, Jones MK. Herbarium specimens expand the geographical and temporal range of germplasm data in phylogeographic studies. *Taxon*. 2010;59:1321–1323.
94. Elbaum R, Melamed-Bessudo C, Boaretto E, et al. Ancient olive DNA in pits: preservation, amplification and sequence analysis. *J Archaeol Sci*. 2006;33(1):77–88.

95. Hokanson SC, Lamboy WF, McFerson JR. Microsatellite (SSR) variation in a collection of *Malus* (apple) species and hybrids. *Euphytica*. 2001;118:281–294.
96. Ho SYW, Larson G. Molecular clocks: when times are a-changin'. *Trends Genet*. 2006;22(2):79–83.
97. Allaby RG, Fuller DQ, Brown T a. The genetic expectations of a protracted model for the origins of domesticated crops. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008;105(37):13982–6.
98. Allaby RG. Integrating the processes in the evolutionary system of domestication. *J Exp Bot*. 2010;61(4):935–44.
99. Ross-Ibarra J, Gaut BS. Multiple domestications do not appear monophyletic. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008;105(49):E105.
100. Heun M, Abbo S, Lev-Yadun S, Gopher A. A critical review of the protracted domestication model for Near-Eastern founder crops: linear regression, long-distance gene flow, archaeological, and archaeobotanical evidence. *J Exp Bot*. 2012;63(12):4333–4341.
101. Huson DH, Bryant D. Application of phylogenetic networks in evolutionary studies. *Mol Biol Evol*. 2006;23(2):254–67.
102. Reeves PA, Richards CM. Distinguishing terminal monophyletic groups from reticulate taxa: performance of phenetic, tree-based, and network procedures. *Syst Biol*. 2007;56(2):302–20.
103. Morrison DA. Networks in phylogenetic analysis: new tools for population biology. *Int J Parasitol*. 2005;35(5):567–582.
104. McBreen K, Lockhart PJ. Reconstructing reticulate evolutionary histories of plants. *Trends Plant Sci*. 2006;11(8):398–404.
105. Heun M, Haldorsen S, Vollan K. Reassessing domestication events in the Near East: Einkorn and *Triticum urartu*. *Genome*. 2008;51(6):444–51.
106. Waltari E, Hijmans RJ, Peterson AT, Nyári AS, Perkins SL, Guralnick RP. Locating pleistocene refugia: comparing phylogeographic and ecological niche model predictions. *PLoS One*. 2007;2(6):e563.
107. Kidd DM, Ritchie MG. Phylogeographic information systems: putting the geography into phylogeography. *J Biogeogr*. 2006;33(11):1851–1865.
108. Swenson NG. The past and future influence of geographic information systems on hybrid zone, phylogeographic and speciation research. *J Evol Biol*. 2008;21(2):421–34.
109. Richards CL, Carstens BC, Knowles LL. Distribution modelling and statistical phylogeography: an integrative framework for generating and testing alternative biogeographical hypotheses. *J Biogeogr*. 2007;34(11):1833–1845.
110. Chan LM, Brown JL, Yoder AD. Integrating statistical genetic and geospatial methods brings new power to phylogeography. *Mol Phylogenet Evol*. 2011;59(2):523–37.
111. Miller AJ, Gross BL. From forest to field: perennial fruit crop domestication. *Am J Bot*. 2011;98(9):1389–414.
112. Zeven AC, de Wet MJM. *Dictionary of cultivated plants and their regions of origin*. Wageningen: Pudoc; 1982:263.
113. Hamrick JL, Godt JW. Effects of life history traits on genetic diversity in plant species. *Philos Trans R Soc London Biol Sci*. 1996;351:1291–1298.
114. Petit RJ, Hampe A. Some Evolutionary Consequences of Being a Tree. *Annu Rev Ecol Evol Syst*. 2006;37(1):187–214.

115. Meyer RS, DuVal AE, Jensen HR. Patterns and processes in crop domestication: an historical review and quantitative analysis of 203 global food crops. *New Phytol.* 2012;196(1):29–48.
116. Austerlitz F, Mariette S, Machon N, Gouyon P-H, Godelle B. Effects of colonization processes on genetic diversity: differences between annual plants and tree species. *Genetics.* 2000;154:1309–1321.
117. Duminil J, Hardy OJ, Petit RJ. Plant traits correlated with generation time directly affect inbreeding depression and mating system and indirectly genetic structure. *BMC Evol Biol.* 2009;9:177.
118. Zohary D, Spiegel-Roy P. Beginnings of fruit growing in the old world. *Science (80-)*. 1975;187(4174):319–27.
119. Zohary D, Hopf M. *Domestication of plants in the Old World*. 2nd ed. Oxford: Clarendon Press; 1994:279.
120. Zohary D. Unconscious selection and the evolution of domesticated plants. *Econ Bot.* 2004;58(1):5–10.
121. Wiersum KF. From natural forest to tree crops, co-domestication of forests and tree species, an overview. *Netherlands J Agric Sci.* 1997;45:425–438.
122. Wiersum KF. Forest gardens as an “intermediate” land-use system in the nature–culture continuum: Characteristics and future potential. *Agrofor Syst.* 2004;61-62(1-3):123–134.
123. Clement CR. Domestication of the pejibaye palm (*Bactris gasipaes*): past and present. *Adv Econ Bot.* 1988;6:155–174.
124. Popenoe W. The avocado in Guatemala. *USDA Bull.* 1919;743.
125. Harrison N, Harrison RJ. On the evolutionary history of the domesticated apple. *Nat Genet.* 2011;43(11):1043–1044.
126. Zárate S. Ethnobotany and domestication process of *Leucaena* in Mexico. *J Ethnobiol.* 1999;19(1):1–23.
127. Cipriani G, Spadotto A, Jurman I, et al. The SSR-based molecular profile of 1005 grapevine (*Vitis vinifera* L.) accessions uncovers new synonymy and parentages, and reveals a large admixture amongst varieties of different geographic origin. *Theor Appl Genet.* 2010;121(8):1569–85.
128. Franks T, Botta R, Thomas MR. Chimerism in grapevines: implications for cultivar identity, ancestry and genetic improvement. *Theor Appl Genet.* 2002;104(2-3):192–199.
129. Hocquigny S, Pelsy F, Dumas V, Kindt S, Heloir MC, Merdinoglu D. Diversification within grapevine cultivars goes through chimeric states. *Genome.* 2004;47:579–589.
130. Pelsy F. Molecular and cellular mechanisms of diversity within grapevine varieties. *Heredity (Edinb).* 2010;104(4):331–340.
131. Grassi F, Labra M, Imazio S, et al. Phylogeographical structure and conservation genetics of wild grapevine. *Conserv Genet.* 2006;7(6):837–845.
132. Breton C, Tersac M, Bervillé A. Genetic diversity and gene flow between the wild olive (oleaster, *Olea europaea* L.) and the olive: several Plio-Pleistocene refuge zones in the Mediterranean basin suggested by simple sequence repeats analysis. *J Biogeogr.* 2006;33(11):1916–1928.
133. Aradhya MK, Stover E, Velasco D, Koehmstedt A. Genetic structure and differentiation in cultivated fig (*Ficus carica* L.). *Genetica.* 2010;138(6):681–94.

134. Sedra MH, Lashermes P, Trouslot P, Combes M. Identification and genetic diversity analysis of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) varieties from Morocco using RAPD markers. *Euphytica*. 1998;103:75–82.
135. Motamayor JC, Risterucci A-M, Lopez PA, Ortiz CF, Moreno A, Lanaud C. Cacao domestication I: the origin of the cacao cultivated by the Mayas. *Heredity (Edinb)*. 2002;89(5):380–386.
136. Sánchez P, Jaffe K. Rutas de migraciones humanas precolombinas a la Amazonia sugeridas por la distribución del cacao. *Interciencia*. 1992;17(1):28–34.
137. Miller AJ, Schaal BA. Domestication of a Mesoamerican cultivated fruit tree, *Spondias purpurea*. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005;102(36):12801–6.
138. Gunn BF, Baudouin L, Olsen KM. Independent origins of cultivated coconut (*Cocos nucifera* L.) in the old world tropics. *PLoS One*. 2011;6(6):e21143.
139. Miller AJ. Characterization of a domesticated tree lineage (*Spondias purpurea*, Anacardiaceae) based on nuclear and chloroplast sequence data. *J Torrey Bot Soc*. 2008;135(8):463–474.
140. Chen H, Morrell PL, Ashworth VETM, de la Cruz M, Clegg MT. Tracing the geographic origins of major avocado cultivars. *J Hered*. 2009;100(1):56–65.
141. Lopes MS, Mendonca D, Rodrigues Dos Santos M, Eiras-Dias JE, Da Camara Machado A. New insights on the genetic basis of Portuguese grapevine and on grapevine domestication. *Genome*. 2009;52:790–800.
142. Di Vecchi-Staraz M, Laucou V, Bruno G, et al. Low level of pollen-mediated gene flow from cultivated to wild grapevine: consequences for the evolution of the endangered subspecies *Vitis vinifera* L. subsp. *silvestris*. *J Hered*. 2009;100(1):66–75.
143. Achtak H, Ater M, Oukabli A, Santoni S, Kjellberg F, Khadari B. Traditional agroecosystems as conservatories and incubators of cultivated plant varietal diversity: the case of fig (*Ficus carica* L.) in Morocco. *BMC Plant Biol*. 2010;10:28.
144. Hamrick JL, Godt MJW, Sherman-Broyles SL. Factors influencing levels of genetic diversity in woody plant species. *New For*. 1992;6:95–124.
145. Jarvis DI, Hodgkin T. Wild relatives and crop cultivars: detecting natural introgression and farmer selection of new genetic combinations in agroecosystems. *Mol Ecol*. 1999;8:S159–S174.
146. Johannessen CL. The domestication process in trees reproduces by seed: the pejibaye palm in Costa Rica. *Geogr Rev*. 1966;56(3):363–376.
147. Aguirre-Dugua X, Eguiarte LE, González-Rodríguez A, Casas A. Round and large: morphological and genetic consequences of artificial selection on the gourd tree *Crescentia cujete* by the Maya of the Yucatan Peninsula, Mexico. *Ann Bot*. 2012;109(7):1297–306.
148. Baldoni L, Tosti N, Ricciolini C, et al. Genetic structure of wild and cultivated olives in the central Mediterranean basin. *Ann Bot*. 2006;98(5):935–42.
149. El-Assar AM, Krueger RR, Devanand PS, Chao C-CT. Genetic analysis of Egyptian date (*Phoenix dactylifera* L.) accessions using AFLP markers. *Genet Resour Crop Evol*. 2005;52(5):601–607.
150. Elshibli S, Korpelainen H. Excess heterozygosity and scarce genetic differentiation in the populations of *Phoenix dactylifera* L.: human impact or ecological determinants. *Plant Genet Resour*. 2008;7(2):95.

151. Parra F, Casas A, Peñaloza-Ramírez JM, Cortés-Palomec AC, Rocha-Ramírez V, González-Rodríguez A. Evolution under domestication: ongoing artificial selection and divergence of wild and managed *Stenocereus pruinosus* (Cactaceae) populations in the Tehuacan Valley, Mexico. *Ann Bot.* 2010;106(3):483–96.
152. Miller RP, Nair PKR. Indigenous agroforestry systems in Amazonia: from prehistory to today. *Agrofor Syst.* 2006;66(2):151–164.
153. Schlumbaum A, van Glabeke S, Roldán-Ruiz I. Towards the onset of fruit tree growing north of the Alps: ancient DNA from waterlogged apple (*Malus* sp.) seed fragments. *Ann Anat.* 2012;194(1):157–62.
154. Lumaret R, Ouazzani N, Michaud H, Vivier G, Deguilloux M-F, Di Giusto F. Allozyme variation of oleaster populations (wild olive tree) (*Olea europaea* L.) in the Mediterranean Basin. *Heredity (Edinb).* 2004;92(4):343–51.
155. Kaniewski D, Van Campo E, Boiy T, Terral J-F, Khadari B, Besnard G. Primary domestication and early uses of the emblematic olive tree: palaeobotanical, historical and molecular evidence from the Middle East. *Biol Rev Camb Philos Soc.* 2012;87(4):885–99.
156. Besnard G, Baradat P, Bervillé A. Genetic relationships in the olive (*Olea europaea* L.) reflect multilocal selection of cultivars. *Theor Appl Genet.* 2001;102:251–258.
157. Besnard G, Bervillé A. Multiple origins for Mediterranean olive (*Olea europaea* L. ssp. *europaea*) based upon mitochondrial DNA polymorphisms. *C R Acad Sci III.* 2000;323(2):173–81.
158. Besnard G, Khadari B, Baradat P, Bervillé A. *Olea europaea* (Oleaceae) phylogeography based on chloroplast DNA polymorphism. *Theor Appl Genet.* 2002;104(8):1353–1361.
159. De Caraffa VB, Maury J, Gambotti C, Breton C, Bervillé A, Giannettini J. Mitochondrial DNA variation and RAPD mark oleasters, olive and feral olive from Western and Eastern Mediterranean. *Theor Appl Genet.* 2002;104(6-7):1209–1216.
160. Belaj A, Muñoz-Diez C, Baldoni L, Porceddu A, Barranco D, Satovic Z. Genetic diversity and population structure of wild olives from the North-Western Mediterranean assessed by SSR markers. *Ann Bot.* 2007;100(3):449–58.
161. Grassi F, Labra M, Imazio S, et al. Evidence of a secondary grapevine domestication centre detected by SSR analysis. *Theor Appl Genet.* 2003;107(7):1315–20.
162. Imazio S, Labra M, Grassi F, Scienza A, Failla O. Chloroplast microsatellites to investigate the origin of grapevine. *Genet Resour Crop Evol.* 2006;53(5):1003–1011.
163. Arroyo-García R, Ruiz-García L, Bolling L, et al. Multiple origins of cultivated grapevine (*Vitis vinifera* L. ssp. *sativa*) based on chloroplast DNA polymorphisms. *Mol Ecol.* 2006;15(12):3707–14.
164. Myles S, Boyko AR, Owens CL, et al. Genetic structure and domestication history of the grape. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2011;108(9):3530–3535.
165. Morton JF. *Fruits of warm climates*. Miami: J.F. Morton; 1987:517.
166. Khadari B, Grout C, Santoni S, Kjellberg F. Contrasted genetic diversity and differentiation among Mediterranean populations of *Ficus carica* L. : A study using mtDNA RFLP. *Genet Resour Crop Evol.* 2005;52:97–109.
167. Ikegami H, Nogata H, Hirashima K, Awamura M, Nakahara T. Analysis of genetic diversity among European and Asian fig varieties (*Ficus carica* L.) using ISSR, RAPD, and SSR markers. *Genet Resour Crop Evol.* 2009;56(2):201–209.

168. Papadopoulou K, Ehaliotis C, Tourna M, Kastanis P, Karydis I, Zervakis G. Genetic relatedness among dioecious *Ficus carica* L. cultivars by random amplified polymorphic DNA analysis, and evaluation of agronomic and morphological characters. *Genetica*. 2002;114(2):183–94.
169. Baraket G, Chatti K, Saddoud O, et al. Comparative assessment of SSR and AFLP markers for evaluation of genetic diversity and conservation of fig, *Ficus carica* L., genetic Resources in Tunisia. *Plant Mol Biol Report*. 2010;29(1):171–184.
170. Tengberg M. Beginnings and early history of date palm garden cultivation in the Middle East. *J Arid Environ*. 2012;86:139–147.
171. Elshibli S, Korpelainen H. Biodiversity of date palms (*Phoenix dactylifera* L.) in Sudan: chemical, morphological and DNA polymorphisms of selected cultivars. *Plant Genet Resour*. 2009;7(2):194–203.
172. Robinson JP, Harris SA, Juniper BE. Taxonomy of the genus *Malus* Mill. (Rosaceae) with emphasis on the cultivated apple, *Malus domestica* Borkh. *Plant Syst Evol*. 2001;226(1-2):35–58.
173. Harris SA, Robinson JP, Juniper BE. Genetic clues to the origin of the apple. *Trends Genet*. 2002;18(8):426–30.
174. Coart E, Van Glabeke S, De Loose M, Larsen AS, Roldán-Ruiz I. Chloroplast diversity in the genus *Malus*: new insights into the relationship between the European wild apple (*Malus sylvestris* (L.) Mill.) and the domesticated apple (*Malus domestica* Borkh.). *Mol Ecol*. 2006;15(8):2171–82.
175. Velasco R, Zharkikh A, Affourtit J, et al. The genome of the domesticated apple (*Malus × domestica* Borkh.). *Nat Genet*. 2010;42(10):833–9.
176. Micheletti D, Troglio M, Salamini F, et al. Reply: On the evolutionary history of the domesticated apple. *Nat Genet*. 2011;43(11):1044–5.
177. Cornille A, Gladieux P, Smulders MJM, et al. New insight into the history of domesticated apple: secondary contribution of the European wild apple to the genome of cultivated varieties. *PLoS Genet*. 2012;8(5):e1002703.
178. Patzak J, Paprstein F, Henychová A, Sedlak J. Comparison of genetic diversity structure analyses of SSR molecular marker data within apple (*Malus × domestica*) genetic resources. *Genome*. 2012;55:647–665.
179. Zizumbo-Villarreal D. History of coconut (*Cocos nucifera* L.) in Mexico: 1539-1810. *Genet Resour Crop Evol*. 1996;43:505–515.
180. Lebrun P, N'cho YP, Seguin M, Grivet L, Baudouin L. Genetic diversity in coconut (*Cocos nucifera* L.) revealed by restriction fragment length polymorphism (RFLP) markers. *Euphytica*. 1998;101:103–108.
181. Teulat B, Aldam C, Trehin R, et al. An analysis of genetic diversity in coconut (*Cocos nucifera*) populations from across the geographic range using sequence-tagged microsatellites (SSRs) and AFLPs. *Theor Appl Genet*. 2000;100(5):764–771.
182. Perera L, Russell JR, Provan J, Powell W. Studying genetic relationships among coconut varieties/populations using microsatellite markers. *Euphytica*. 2003;132:121–128.
183. Harries H, Baudouin L, Cardeña R. Floating , boating and introgression: molecular techniques and the ancestry of coconut palm populations on Pacific islands. *Ethnobot Res Appl*. 2004;2:37–53.

184. Baudouin L, Lebrun P. Coconut (*Cocos nucifera* L.) DNA studies support the hypothesis of an ancient Austronesian migration from Southeast Asia to America. *Genet Resour Crop Evol.* 2009;56(2):257–262.
185. Mauro-Herrera M, Meerow AW, Perera L, Russell J, Schnell RJ. Ambiguous genetic relationships among coconut (*Cocos nucifera* L.) cultivars: the effects of outcrossing, sample source and size, and method of analysis. *Genet Resour Crop Evol.* 2010;57(2):203–217.
186. Clement CR, Aradhya MK, Manshardt RM. Allozyme variation in spineless pejobaye (*Bactris gasipaes* Palmae). *Econ Bot.* 1997;51(2):149–157.
187. Rodrigues DP, Filho SA, Clement CR. Molecular marker-mediated validation of morphologically defined landraces of Pejibaye (*Bactris gasipaes*) and their phylogenetic relationships. *Genet Resour Crop Evol.* 2004;51:871–882.
188. Adin A, Weber JC, Sotelo Montes C, Vidaurre H, Vosman B, Smulders MJM. Genetic differentiation and trade among populations of peach palm (*Bactris gasipaes* Kunth) in the Peruvian Amazon-implications for genetic resource management. *Theor Appl Genet.* 2004;108(8):1564–73.
189. Couvreur TLP, Billotte N, Risterucci A-M, et al. Close genetic proximity between cultivated and wild *Bactris gasipaes* Kunth revealed by microsatellite markers in Western Ecuador. *Genet Resour Crop Evol.* 2006;53(7):1361–1373.
190. Cole DM, White TL, Nair PKR. Maintaining genetic resources of peach palm (*Bactris gasipaes* Kunth): the role of seed migration and swidden-fallow management in Northeastern Peru. *Genet Resour Crop Evol.* 2007;54(1):189–204.
191. Hernández-Ugalde JA, Mora-Urpí J, Rocha OJ. Genetic relationships among wild and cultivated populations of peach palm (*Bactris gasipaes* Kunth, Palmae): evidence for multiple independent domestication events. *Genet Resour Crop Evol.* 2011;58(4):571–583.
192. Davenport TL. Avocado flowering. *Hortic Rev (Am Soc Hortic Sci).* 1986;8:257–289.
193. Smartt J, Simmonds N. *Evolution of crop plants.* 2nd ed. Harlow: Longman Scientific and Technical; 1995:496.
194. Davis J, Henderson D, Kobayashi M, Clegg MT, Clegg MT. Genealogical relationships among cultivated avocado as revealed through RFLP analyses. *J Hered.* 1998;89(4):319–323.
195. Ashworth VETM, Clegg MT. Microsatellite markers in avocado (*Persea americana* Mill.): Genealogical relationships among cultivated avocado genotypes. *J Hered.* 2003;94(5):407–415.
196. Schnell RJ, Brown JS, Olano CT, Power EJ, Krol CA. Evaluation of avocado germplasm using microsatellite markers. *J Am Soc Hortic Sci.* 2003;128(6):881–889.
197. Warren JM. Isozyme variation in a number of populations of *Theobroma cacao* L. obtained through various sampling regimes. *Euphytica.* 1994;72:121–126.
198. Laurent V, Risterucci A-M, Lanaud C. Chloroplast and mitochondrial DNA diversity in *Theobroma cacao*. *Theor Appl Genet.* 1993;87(1-2):81–8.
199. Laurent V, Risterucci A-M, Lanaud C. Genetic diversity in cocoa revealed by cDNA probes. *Theor Appl Genet.* 1994;88(2):193–8.
200. Lerceteau E, Robert T, Pétiard V, Crouzillat D. Evaluation of the extent of genetic variability among *Theobroma cacao* accessions using RAPD and RFLP markers. *Theor Appl Genet.* 1997;95:10–19.

201. Whitkus R, de la Cruz M, Mota-Bravo L, Gómez-Pompa A. Genetic diversity and relationships of cacao (*Theobroma cacao* L.) in southern Mexico. *Theor Appl Genet.* 1998;96:621–627.
202. N’Goran JAK, Laurent V, Risterucci A-M, Lanaud C. The genetic structure of cocoa populations (*Theobroma cacao* L.) revealed by RFLP analysis. *Euphytica.* 2000;115:83–90.
203. Miller AJ, Schaal BA. Domestication and the distribution of genetic variation in wild and cultivated populations of the Mesoamerican fruit tree *Spondias purpurea* L. (Anacardiaceae). *Mol Ecol.* 2006;15(6):1467–80.
204. Nei M. Genetic distance between populations. *Am Nat.* 1972;106(949):283–292.
205. Wright S. The interpretation of population structure by F statistics with special regard to systems of mating. *Evolution (NY).* 1965;19:395–420.
206. Stewart CN, Excoffier L. Assessing population genetic structure and variability with RAPD data; application to *Vaccinium macrocarpon* (American Cranberry). *J Evol Biol.* 1996;9:153–171.

ANEXO II.

Referencias históricas relativas a los árboles de *Crescentia* y sus frutos en la Nueva España y otras regiones conquistadas por los españoles

1526. Gonzalo Fernández de Oviedo y Valdes. *Sumario de la Natural Historia de las Indias*.

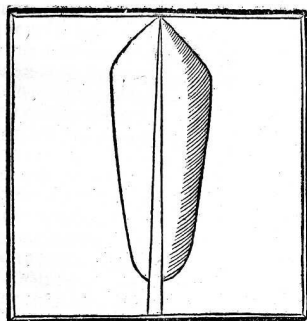
“El Higuero es un árbol mediano, y algunos grandes, según donde nacen, y echan unas calabazas redondas que se llaman higueras, de las cuales hacen vasos para beber, como tazas, y en algunas partes de Tierra-Firme las hacen tan gentiles y tan bien labradas y de tan lindo lustre, que puede beber de ellas cualquier gran príncipe; y les ponen sus asideros de oro, y son muy limpias, y sabe muy bien en ellas el agua, y son muy necesarias y útiles para beber, porque los indios en la mayor parte de Tierra-Firme no tienen otros vasos.”

(*Capítulo LXXIII*)

Fernández de Oviedo y Valdés, Gonzalo. 1526, ed. 1950. Sumario de la Natural Historia de las Indias. Edición, introducción y notas de José Miranda. Fondo de Cultura Económica. México.

1535. Gonzalo Fernández de Oviedo y Valdés. *Historia General y Natural de las Indias*.

“Del árbol llamado Higüero, el acento de la ‘u’ ha de ser luengo, o de espacio dicho de manera que no se pronuncien brevemente ni juntas estas tres letras ‘gue’ sino que se detenga poquita cosa en la ‘u’ y la ‘e’ y diga hi...gu...ero. Digo esto porque el lector no entienda higuero o higuera de higos. Higüero es árbol grande como los morales de Castilla y más o menos. La fruta que llevan son unas calabazas redondas y algunas prolongadas; y las redondas son muy redondas; de las cuales los indios hacen tazas y otras vasijas para beber e otros servicios; y el palo de este árbol es recio y bueno para sillas de caderas y donlas pequeñas y para fustes de sillas jinetas y otras cosas.



Es correoso y fuerte y parece en el pelo después de labrado granado o espino. La hoja deste árbol es luenga y estrecha e lo más ancho della es en el extremo o en la punta, e desde ella va disminuyendo para abajo al pezón, donde está asida como aquí esta dibujada. Comen los indios a necesidad desta fruta, digo lo de dentro de la cual es de la misma manera que la calabaza cuajada cuando está verde. Cuando las curan y sacan lo de dentro para hacer algún vaso de ella, le queda al tal vaso el lustre y manera de calabaza, y no son otra cosa sino calabazas de la forma que he dicho. Esta fruta o calabazas son tan grandes las

mayores como una olla que quepa dos azumbres e más agua y de allí para abajo, hasta no ser mayores que un puño cerrado; y así, hacen de ella sus vasos del tamaño que quieren. Estos árboles son comunes e ordinarios en esta y en todas las islas e Tierra Firme destas Indias: pero porque en algunas provincias los vasos que desta fruta se hacen son preciosos y lindos; y demás desto ay otra diferencia misteriosa en las hojas y aquella no la ay en los higueros de aca mas de lo que he dicho. Quedar fe a lo demás para en su lugar cuando se trate de la tierra firme en la segunda parte de la historia general de Indias”.

(*Libro Octavo, Cap. iiij.*)

Fernández de Oviedo y Valdés, Gonzalo. 1535, ed. 1979. Historia General y Natural de las Indias. Reimpresión de la edición facsimilar de México. Grupo Condumex S.A. México.

“Mas hay otros higüeros en Tierra Firme diferenciados, no en el fruto, ni en otra cosa de lo que es dicho, sino solamente en la hoja desta manera... hecha cruz cada hoja... Estos árboles higüeros tienen todas las hojas fechas cruces, he visto yo en la provincia de Nicaragua, e señaladamente en Negrande, donde está la cibdad de León, e otras partes de aquella tierra... y los vasos preciosos de las higueras se hallan en el Darien y en el golfo de Urabá, son sus asideros o asas de oro en estas higueras y ellas tan lindas, que sin duda ni reproche se podía dar a beber con tales higueras a cualquier poderoso”.

Fernández de Oviedo y Valdés, Gonzalo. 1535, ed. 1959. Historia General y Natural de las Indias. Biblioteca de Autores Españoles desde la Formación del Lenguaje hasta Nuestros Días. Madrid. Citado por Medina-González, 1996.

1542. *El Libro de las Tasaciones de Pueblos de la Nueva España.*

“QUATEPEQUE, en la mar del sur, Obispado de Oaxaca. En once de diciembre de mil y quinientos y cuarenta y dos años, se tasaron estos indios de Quatepeque, que tiene en encomienda Gaspar de Avila (...) se tasaron en lo siguiente: que den cada ochenta días: un peso de oro en polvo del oro que solían dar, y un cántaro de miel de abejas, y dos cargas de pescado, de sesenta pescados, y sesenta jícaras labradas y dos cargas de plátanos, y esto han de traer a esta ciudad, más han de criar un cacaguetal de ocho mil pies y dar cuenta del cacao que se cogiere y traerlo a esta ciudad (...)”.

(p. 298)

s/a. El Libro de las Tasaciones de Pueblos de la Nueva España. Siglo XVI, ed. 1952. Archivo General de la Nación. México.

1566. Fray Diego de Landa. *Relación de las Cosas de Yucatán.*

“Que el mantenimiento principal es el maíz, del cual hacen diversos manjares y bebidas (...) y que de aquello [masa de maíz] toman una pella y deslienla en un vaso de la cáscara de una fruta que cría un árbol con el cual les proveyó Dios de vasos; y que se beben aquella substancia y se comen lo demás y que es sabroso y de gran mantenimiento.” (p. 36)

“Hay un árbol de cuya fruta, que es como una calabaza redonda, hacen los indios sus vasos, y son muy buenos y hácenlos ellos muy pintados y galanos. De esta misma casta hay otro que lleva la fruta más pequeña y muy dura y hacen de ella otros vasillos para unguentos y otros servicios.” (p. 129)

De Landa, Diego. 1566, ed. 1973. Relación de las Cosas de Yucatán. 10ª edición. Editorial Porrúa. México.

1571-1576. Francisco Hernández. *Historia Natural de Nueva España.*

“Del *Ayacachtecomatl*¹ o tecómatl de sonaja - Es árbol grande que nace casi siempre en lugares montuosos y áridos y es propio de regiones muy cálidas; tiene hojas como de olivo, pero dispuestas en cruz y redondas; fruto con forma de membrillo, pero más grande, adherido al tronco y a los tallos como el del sicomoro, y lleno de una médula compacta, blanca primero y negra después, muy parecida a la de cañafistula, extraída la cual suele servir el fruto a los indios para guardar en él resinas, aceites y otras cosas, y para fabricar sonajas, de donde le viene el nombre. Las hojas son frías, astringentes y un tanto glutinosas, por lo que contienen las diarreas, detienen la caída de los cabellos y hacen salir otros nuevos. El fruto cura las hernias inguinales, calentando al fuego una mitad y aplicándola con una venda al lugar enfermo. Hay otro género llamado *quauhatecomatl*, de fruto mucho más grande, igual a nuestros melones, y lleno de médula negra muy parecida a la de nuestra cañafistula en aspecto, semilla, sabor y propiedades laxantes cuando se toma; las hojas son largas y angostas, pero gradualmente dilatadas hacia la punta. Hay otras dos especies diferentes sólo por la dureza del fruto, que entre los indios adorna grandemente la vajilla, y llamadas *ichcatecomatl* y *tecomatl*, las cuales suelen producirse en las mismas regiones que el *ayacachtecomatl*.”

¹ Itálicas en el original.

(v.1, libro tercero, cap. CLVIII; p. 140-141).

Hernández, Francisco. 1571-1576. Ed. 1959. Historia Natural de Nueva España. Vol. 1. Universidad Nacional Autónoma de México. México.

Nota: Es posible que la palabra ayatecomatl hay derivado en las castellanizaciones ayal, ayacastle, jayacaste (Medina-González 1996).

1581-1589. Antonio de Ciudad Real. *Tratado curioso y docto de las grandezas de la Nueva España.*

“Había en aquél pueblo muchos árboles de xícaras, los cuales son medianos, de hojas pequeñas que cubren mal las ramas, la fruta que llevan es a manera de calabazas medianas, muy redondas y pegadas por el pezón al mismo tronco y grueso de las ramas, como las mazorcas del cacao; a éstas las curan, y aserradas por medio, como de ordinario se corta una naranja, hacen de cada una dos que sirven de escudillas, cazuelas y tazas y de otros vasos en que beben el chocolate y otras bebidas de cacao; éste es el servicio común de los indios y de los negros y aún de españoles pobres; llámanse en la lengua mexicana xicalli, y corrupto el vocablo se dice xícara; hácese algunas destas muy curiosas, raídas y pintadas, las cuales tienen en mucho en lo de México, también las aderezan sin partirlas, a manera de frascos, con su boca y respiradero para echar agua, vino, vinagre y otros licores; sin éstas se hacen en la Nueva España, especial en lo de Michoacán, otras xícaras muy grandes como fuentes y platos grandes, las cuales no son de árboles, sino cierto género de calabazas muy grandes, que cogidas de sus matas y cortadas por medio y curadas les dan un barniz y las pintan y venden muy caras, y llévanlas a México y a otras partes de la Nueva España.”

(p. 199).

Ciudad Real, Antonio de. 1581-1589. Tratado curioso y docto de las grandezas de la Nueva España: Relación breve y verdadera de algunas cosas de las muchas que sucedieron al padre Fray Alonso Ponce de las provincias de la Nueva España siendo comisario general de aquellas partes . Tomo I. México : Instituto de Investigaciones Históricas. UNAM, Dirección General de Publicaciones, 1976.

1615. Fray Francisco Ximénez. *Cuatro libros de la Naturaleza y virtudes de las plantas y animales que están recibiendo en el uso de la medicina de la Nueva España.*

“Del árbol de los thecomates que llaman higuero. El árbol que llaman higuero, es grande, que tiene hojas casi como las del moral de España, y avn todo el árbol tiene la misma forma y grandeza, el qual tiene la fruta como calabazas redondas, y algunas prolongadas, de las quales los indios hacen taças y otras vasixas para beuer, los quales llaman thecomates, y siruen en particular para la beuida del cacao, la medula que esta dentro del fruto suelen comerla los indios en tiempos de necesidad, la qual es la misma de las calabazas.”

Citado por Medina-González, 1996.

1625. Antonio Vázquez de Espinosa. *Compendio y Descripción de las Indias Occidentales.*

“...hallaban por la costa muchas calabazas, o xícaras de los árboles, que ay muchos en aquellas provincias¹”.

¹El autor hace referencia a Honduras.

*Vásquez de Espinosa, Antonio. 1625. Ed. 1948. Compendio y Descripción de las Indias Occidentales. Transcrito por Charles Upson Clark. The Smithsonian Institute, Washington. Disponible (febrero 2014) en <
http://www.archive.org/stream/smithsonianmisce1081948smit/smithsonianmisce1081948smit_djvu.txt>*

1635. Martín Alfonso Tovilla. *Relación Histórica Descriptiva de las Provincias de la Verapaz y de la del Manché.*

“Entierran el difunto vestido, y todos sus trastos, como son hachas, machetes, ollas, jícaras en que beben, y todo lo demás que tienen, y así en tierra de oro como es en el Perú y en otras partes, se han hallado en estas sepulturas grandes tesoros (...)” (p. 184)

Tovilla, Martín Alfonso. 1635. Ed. 1960. Relaciones Histórico-descriptivas de la Verapaz, el Manché y Lacandón, en Guatemala. Paleografía de France V. Scholes y Eleanor B. Adams. Editorial Universitaria. Guatemala.

1722. Fray Francisco Ximénez. *Historia Natural del Reino de Guatemala.*

“Xícaro – Éste es un árbol, muy común en tierras calientes, y muy útil, y de que sacan los indios mucha utilidad. Porque su fruto, que son como unas calabazas redondas, y las hay grandes, como sandías, y pequeñas, y largas, y sacado lo que dentro tiene, que son tripas como de sandía verde, la cáscara que no es muy gruesa pero muy dura, la curan y la pintan de muchos modos, y de ellas hacen platos, y escudillas y tembladeras, y xícaras para bebidas, y para mil cosas, de modo que en especial entre indios todo su servicio, y axuar, suelen ser hícaras para varios ministerios. Y aún a los españoles les sirve para muchas cosas, y pintándolas las hermocean de modo que se dedigna ninguna señora usar de ella, como si fuera de un plato de plata, o tembladera.” (p. 255-256)

Ximénez, Francisco. 1722. Ed. 1967. Historia Natural del Reino de Guatemala. Editorial José de Pineda Ibarra. Guatemala.

1780. Fray Francisco Javier Clavijero. *Historia Antigua de México.*

“Los vasos de que usaban los mejicanos para beber eran de ciertas frutas semejantes á las calabazas que se dan en los países calientes en árboles de un mediano tamaño. Los unos son grandes, perfectamente redondos, que llaman xicalli,² y los otros más pequeños y cilíndricos, á los cuales dan el nombre de tecomatl. Unos y otros son sólidos y pesados, su corteza es dura, leñosa y de un color verde oscuro, y sus semillas semejantes á las de la calabaza. El xicalli tiene cerca de ocho pulgadas de diámetro y el tecomatl un poco menos de longitud y cerca de cuatro dedos de grueso. Cada fruto dividido por la mitad daba dos vasos iguales; les sacaban todas las semillas, y le daban con ciertas tierras minerales un barniz permanente de buen olor y de varios colores, principalmente de un bello rojo. En el día suelen platearlos y dorarlos.

² Los españoles de Méjico llamaron al *xicalli jicara*. Los españoles de Europa adoptaron este nombre para significar el pozuelo en que se toma el chocolate, y de aquí tuvo el origen el italiano chichera. El señor de Bomare hace mención del árbol del xicalli bajo el nombre de calebaccier d'Amérique, y dice que en la Nueva España es conocido con los nombres de choyne, cujete é higuero; pero no es cierto. El nombre de hibuelo (no higuero) era el que daban á este árbol los indios de la isla Española: lo usaron antes los españoles conquistadores; pero ningún otro lo usó después en la Nueva España. Los otros nombres jamás los he oido en aquellos países.”

(p. 194)

Clavijero, Francisco Xavier. 1780. Ed. 1853. Historia Antigua de Méjico. Juan R. Navarro (ed.). Méjico.

1791. José Antonio Alzate y Ramírez. *Gacetas Literarias de México.*

“La pintura por medio de tierras y otros ingredientes de los vasos que llaman jicaras (1)¹ y tecomates (2) es propio de este pueblo² (...) Es la jicara el fruto de un árbol de tamaño y grueso regular, cuya corteza del tronco áspera y bronca tiene la superficie terminada en unos picos o puntas, sus hojas son algo parecidas a las del laurel, de un verde oscuro, y de un tejido y testura suave, hallándose comprendidas o unidas dos, tres y mas también en el bástago que las produce, y se llama *xicalquahuit*³ [1]: produce en las costas, y no en este pueblo, ni en sus inmediaciones, como se suele creer y decir vulgarmente. La figura de este fruto es redonda y se aprocsima à esférica, se encuentra de varios tamaños y es parecido à la sandía, el que despojado de su simiente y pulpa interior, dividiéndolo antes, se dispone para trabajarlo, resultando de la diversidad de sus córtes, la de sus clases y nombres, que se conocerán por las siguientes prevenciones. Dividida la jicara por el diámetro paralelo al botón de que pende el árbol, se llama su parte inferior *jicara flor*, y la superior *jicara botón*, pero si forma su corte el círculo de división sobre el botón y el punto diametralmente opuesto, las dos piezas que salgan se denominan cada una de ellas *jicara barba*. Asimismo, el árbol que produce el tecomate se llama *quautecomatl*, [2] que es en todo semejante al de la jicara, con la sola diferencia de ser el fruto más pequeño, del que se disponen otras diversas piezas como son *atotoniles*, *zacatecomates*, *cubiletos* y *cocos*.

(1) xicale, casa ù oquedad que termina en un punto a semejanza de ombliigo.

(2) tecomatl, vaso en que se sirve el chocolate u otro licor.

[1] Árbol de jicara. Véase la descripción de este árbol en Hernández.

[2] Árbol de tecomate.”

¹ Notas al pie en el original.

² El autor hace referencia a la localidad de Olinalan, de la jurisdicción de Tlapan. Hoy día Olinalá, Gro.

³ Las itálicas provienen del texto original.

(p. 213-214)

José Antonio Alzate y Ramírez. 1791. Gacetas literarias de México. Gaceta del 28 de junio de 1791. Manuel Buen Abad, 1831. Puebla.

Disponible en (febrero 2014)

<<http://books.google.com.mx/books?id=rP24AAAAIAAJ&pg=PA53&lpg=PA53&dq=gacetas+literarias+de+M%C3%A9xico&source=bl&ots=bqcRcDEVju&sig=eKolDuVqG-LZaWHIqlxdyDMwQho&hl=en&sa=X&ei=m1sfU96eF-6E2wXDzYgGcQ&ved=0CEUQ6AEwBA#v=onepage&q=gacetas%20literarias%20de%20M%C3%A9xico&f=false>>

ANEXO III.

Protocolo de extracción de DNA aplicado a las muestras de *Crescentia*.

1. Cortar el tejido con la tijera en pedazos pequeños. Moler con nitrógeno líquido.
2. Agregar 1 ml de buffer 1 ---> microtubo de 1.5 ml
3. Centrifugar 9000 rpm 8min ---> eliminar sobrenadante
4. Repetir los pasos 2 y 3.
5. Agregar 600 ul de buffer no. 2 (Prender el termoblock a 65°C).
6. Centrifugar 9000 rpm 8min ---> eliminar sobrenadante
7. Agregar 600 ul de buffer no. 2
8. Incubar a 65°C 20 min ---> Invertir tubos 2 o 3 veces ---> Hielo 5min
9. Agregar 600 ul de cloroformo:isoamyl 24:1
10. Centrifugar 9000 rpm 15min ---> Recuperar 400 ul de sobrenadante en tubo nuevo con mucho cuidado de no tomar partículas de debris
11. Agregar 800 ul de Isopropanol frío a -20°C
12. Reposar 2 hrs. a -20°C (o toda la noche)
13. Centrifugar 9000g 5min ---> Eliminar sobrenadante con cuidado de no perder la pastilla.
14. Agregar 800 ul de etanol 70% frío -20°C, invertir dos a tres veces ---> 5min temp. ambiente.
15. Centrifugar 7000 rpm 5min ---> Eliminar sobrenadante
16. Secar en la secadora de vacío
17. Rehidratar con 75ul de TE.

Buffer 1

Tris HCl 100 mM ph8

NaCl 0.45 M

EDTA 17 mM ph8

CTAB 1%

+ 0.3% beta mercaptoethanol justo antes de usar el buffer.

Buffer 2

Tris HCl 100 mM ph8

NaCl 1.4 M

EDTA 20 mM ph8

CTAB 2%

+ 0.3% beta mercaptoethanol justo antes de usar el buffer.

ANEXO IV.

Datos asociados al análisis filogeográfico.

Tabla 1. Muestras analizadas de *C. cujete*. H=individuos de huertos, S=individuos silvestres.

| Código | Sitio | Estado | País | Individuos analizados | | Latitud | Longitud | Vía de propagación ¹ |
|--------|------------------------------|-----------|--------|-----------------------|----|---------|-----------|---------------------------------|
| | | | | H | S | | | |
| TIH | Tihuatlán, Castillo de Teavo | Veracruz | México | 1 | | 20.6611 | -97.5575 | V(1) |
| Cho | El Chote | Veracruz | México | 11 | | 20.3727 | -97.3343 | V(1), S(2), T(1) |
| CAT | Catemaco | Veracruz | México | 9 | | 18.4209 | -95.1107 | S(2) |
| TCPS | Tlacotalpan silvestre | Veracruz | México | | 11 | 18.5865 | -95.7277 | |
| TCPH | Tlacotalpan huerto | Veracruz | México | 1 | | 18.6116 | -95.6611 | |
| Pue | El Puente | Tabasco | México | 10 | | 17.8602 | -93.4174 | T(2), S(1) |
| Cop | Copainalá | Chiapas | México | 9 | | 17.1226 | -93.2108 | V(4), S(2) |
| Can | San Juan Cancuc | Chiapas | México | 4 | | 16.9152 | -92.4183 | - |
| EZ | E. Zapata Tabasco | Chiapas | México | | 11 | 17.6703 | -92.0327 | |
| Esc | Escárcega | Campeche | México | | 16 | 18.6080 | -90.7445 | |
| Vic | Vicente Guerrero | Campeche | México | | 16 | 19.2026 | -90.7307 | |
| Tan | Tankuché | Campeche | México | | 17 | 20.5197 | -90.2812 | |
| Pro | Progreso | Yucatán | México | | 14 | 21.2447 | -89.6582 | |
| Ix | Ixil | Yucatán | México | 9 | | 21.1522 | -89.4822 | V(4), S(1), T(1) |
| Yax | Yaxcabá | Yucatán | México | 10 | | 20.5481 | -88.8272 | V(2) |
| Man | Maní | Yucatán | México | 32 | | 20.3864 | -89.3903 | V(5), T(2) |
| Pet | Peto | Yucatán | México | 10 | | 20.1256 | -88.9214 | V(1),S(2),T(1) |
| DziH | Dzibalchén huerto | Campeche | México | 21 | | 19.4583 | -89.7314 | |
| DziS | Dzibalchén sabana | Campeche | México | | 21 | 19.4267 | -89.6465 | |
| Chu | Chunchintok | Campeche | México | 2 | | 19.3594 | -89.5808 | V(2) |
| Chan | Chanchén | Campeche | México | 9 | | 19.2089 | -89.2631 | V(1), S(1) |
| Pa | Pachuitz | Campeche | México | 11 | | 19.1458 | -89.2489 | V(1), S(2) |
| CE | Chun Ek sabana | Campeche | México | | 22 | 19.1756 | -89.1626 | S(2) |
| Ek | Chun Ek pueblo | Campeche | México | 12 | | 19.1756 | -89.1626 | V(1), S(2) |
| Sta | Sta. Ma. Poniente | Q. Roo | México | | 11 | 19.3667 | -88.4056 | |
| Lim | Limones | Q. Roo | México | 10 | | 19.0242 | -88.1083 | V(1),S(1) |
| Che | Chetumal | Q. Roo | México | | 9 | 18.5771 | -88.4159 | |
| Xpu | Xpujil | Campeche | México | | 10 | 18.5009 | -89.3387 | |
| SNJ | Nuevo San Juan Chamula | Chiapas | México | 6 | | 16.1451 | -91.4459 | V(1) |
| ZAP | E. Zapata Chamela | Jalisco | México | 1 | | 19.3822 | -104.9650 | V(1) |
| Coa | Coahuayana | Michoacán | México | 2 | | 18.6961 | -103.6619 | |
| Sis | Tequisistlán | Oaxaca | México | 1 | | 16.3992 | -95.6033 | V(1) |
| Tec | Tecomavaca | Oaxaca | México | 5 | | 17.9556 | -97.0236 | S(1), T(1) |
| Zan | Zanatepec | Oaxaca | México | 15 | | 16.4792 | -94.3517 | S(1), T(4) |
| Mat | San Mateo del Mar | Oaxaca | México | 3 | | 16.2100 | -94.9817 | V(1), S(1) |
| Mor | El Morrito | Oaxaca | México | 2 | | 16.7258 | -94.9800 | S(2) |
| Ari | Puerto Arista | Chiapas | México | 5 | | 15.9333 | -93.8100 | |
| Cao | Los Cacaos | Chiapas | México | 3 | | 15.3894 | -92.6567 | S(1) |
| Coy | Acacoyagua | Chiapas | México | 10 | | 15.3394 | -92.6742 | S(2), T(1) |
| Peru | Jardín botánico La Molina | | Perú | 1 | | | | |

| | | | |
|--------------|---------------------------------|-------------|----------------|
| Cu | Jardín botánico La Habana | Cuba | 1 |
| JCB | Costa Rica Jeannine Cavender | Costa Rica | 1 |
| MEXU1 | | El Salvador | 1 |
| MEXU2 | | Nicaragua | 1 |
| MEXU3 | | Belice | 1 |
| MEXU9 | | Venezuela | 1 |
| MEXU10 | | Nicaragua | 1 |
| Total | | | 226 164 |

¹ Sólo para los individuos de huertos y cuando fue posible obtener la información. Se señala entre paréntesis el número de individuos en cuestión. T= tolerado (nació solo o ya estaba en el terreno), V=sembrado por esqueje, S=sembrado por semilla.

Tabla 2. Muestras analizadas de *C. alata*. H=individuos de huertos, S=individuos silvestres.

| Código | Sitio | Estado | País | Individuos analizados | | Latitud | Longitud | Vía de propagación ¹ |
|--------------|------------------------------|-----------------|------------|-----------------------|------------|---------|-----------|---------------------------------|
| | | | | H | S | | | |
| Aca | Acala | Chiapas | México | | 11 | 16.5097 | -92.8726 | |
| Ant | Antiguo Morelos | San Luis Potosí | México | | 10 | 22.5318 | -99.0768 | |
| AO | Agua del Obispo | Michoacán | México | | 14 | 18.6758 | -100.9136 | |
| Cha | Chamela | Jalisco | México | | 13 | 19.4974 | -105.0390 | |
| CiuH | Ciudad Valles huerto | San Luis Potosí | México | 4 | | 21.0119 | -99.0859 | T (1) |
| CiuS | Ciudad Valles silvestre | San Luis Potosí | México | | 6 | 22.0415 | -99.1103 | |
| CoaH | Coahuayana huerto | Michoacán | México | | 9 | 18.6961 | -103.6619 | T(3) |
| CoaS | Coahuayana silvestre | Michoacán | México | 2 | | 18.7000 | -103.6900 | |
| Con | Concá | Querétaro | México | | 10 | 21.4450 | -99.6356 | |
| Lia | Culiacán | Sinaloa | México | | 5 | 25.0185 | -107.5318 | |
| MatH | San Mateo del Mar huerto | Oaxaca | México | 8 | | 16.2100 | -94.9817 | T(3), S(3) |
| MatS | San Mateo del Mar silvestre | Oaxaca | México | | 2 | 16.2100 | -94.9800 | |
| Mor | El Morrito | Oaxaca | México | | 8 | 16.7258 | -94.9800 | |
| Nap | Chinapa | Michoacán | México | | 18 | 19.3957 | -100.8751 | |
| Noc | Nocupétaro | Michoacán | México | | 14 | 19.0969 | -101.2070 | |
| PNH | Puente Nacional huerto | Veracruz | México | 4 | | 19.3139 | -96.5176 | - |
| PNS | Puente Nacional silvestre | Veracruz | México | | 6 | 19.3066 | -96.5011 | |
| Pon | Acaponeta | Sinaloa | México | | 7 | 22.5386 | -105.4632 | |
| SI | San Ignacio | Morelos | México | 2 | | 18.8232 | -99.0934 | - |
| Sis | Tequisistlán | Oaxaca | México | 7 | | 16.3992 | -95.6033 | T(2) |
| SR | San Rafael | Morelos | México | 2 | | 18.6406 | -99.0041 | - |
| Ten | Tenango | Morelos | México | | 10 | 18.7100 | -98.7500 | |
| Teq | Tequilita | Sinaloa | México | | 6 | 21.1184 | -104.8247 | |
| Tiz | Tlaltizapán | Morelos | México | 2 | | 18.6953 | -99.1142 | T (2) |
| Tom | Tomatlán | Jalisco | México | | 9 | 19.9960 | -105.3148 | |
| Tri | Trinitaria | Chiapas | México | | 11 | 15.9749 | -92.0073 | |
| Ver | Vergel | Morelos | México | | 9 | 18.5675 | -99.0384 | |
| VU | Villa Unión | Sinaloa | México | | 8 | 23.4782 | -107.0648 | |
| GuaTec | Teculután | | Guatemala | | 1 | 14.9949 | -89.7288 | |
| GuaAZ | Azacualpilla | | Guatemala | | 3 | 14.7228 | -90.3616 | |
| HonC | Honduras C | | Honduras | 5 | | 14.7633 | -87.9581 | - |
| HonJ | Honduras J | | Honduras | 7 | | 14.4869 | -87.9872 | - |
| CRPV | Costa Rica Palo Verde | | Costa Rica | | 5 | 10.3834 | -85.3342 | |
| JCB | Costa Rica Jeannine Cavender | | Costa Rica | | 4 | | | |
| MEXU13 | | | Guatemala | | 1 | | | |
| Total | | | | 43 | 200 | | | |

¹ Sólo para los individuos de huertos y cuando fue posible obtener la información. Se señala entre paréntesis el número de individuos en cuestión. T= tolerado (nació solo o ya estaba en el terreno), V=sembrado por esqueje, S=sembrado por semilla.

Tabla 3. Muestras de ejemplares herborizados provistos por el Herbario Nacional de México (MEXU).

| Código | Especie | Localidad y descripción | Colector | Fecha | Coordenadas |
|--------|------------------|---|--|------------|---|
| MEXU1 | <i>C. kujete</i> | Depto. Ahuachapán, A.P. Santa Rita, Ruta 3. El Salvador. 20 msnm. "Morro de Guacal". Árbol de aprox. 5m., flores verdes. | J.M. Rosales | 24/02/2004 | 13°48' N -90° 04' W ¹ |
| MEXU2 | <i>C. kujete</i> | En la Isla del Maíz Grande, Departamento Zelaya. Nicaragua. Alt. 40 msnm, árbol de 6m con flor blanca. Vegetación alterada de selva media perenifolia. | E. Martínez S. y Russ Riviere | 20/08/1982 | 12.18 N -83.06 W ² |
| MEXU3 | <i>C. kujete</i> | Western Highway, near mangrove swamp. 5 mi. W of Belize. Habitat: pine ridge, savannah | J. R. Wiley | 11/08/1970 | 17.47 N 88.31 W ² |
| MEXU9 | <i>C. kujete</i> | Zulia: Distrito Perijá, 2 km W of the intersection of the Río Aricuaisá and the Maracaibo-La Fria Hwy. (Hwy 6). Venezuela. 10 msnm. Tall ever green forest on hummocky soil subject to inundation. Tree 8m tall, fruit cauliflorous, nearly spherical, green. | G. Davidse, A.C. González y R.A. León | 19/06/1980 | 9° 25' N -72° 37' W ¹ |
| MEXU10 | <i>C. kujete</i> | Departamento de Chontales, ca. 6.9 km S of Hwy 7 (from ca. 3.6 km E of La Gateada) on road to Nueva Guinea, ca. 0.3km S of Quebrada El Areño. Nicaragua. 210 msnm, roadside. Small spreading densely branched trees, fruits on distinct peduncles, elliptic or obovate in outline, pulp white, sweet, juicy, seeds white, fruit relatively thin-walled. | Warren Douglas Stevens | 01/11/1977 | 11° 56' N -84° 45' W ¹ |
| MEXU13 | <i>C. alata</i> | Zacapa, Guatemala. 200-300 msnm. | A. Cobar, M. García, M. Reyes | 08/07/2003 | 14°56' 39" N -89°31'43" W ¹ |

¹ Coordenadas señaladas en el ejemplar.

² Coordenadas aproximadas deducidas con base en la descripción de la localidad.

Tabla 4. Haplotipos identificados en las muestras analizadas de *C. kujete*, *C. alata*, *C. mirabilis* y *Parmentiera aculeata*. Las siglas de los microsatélites corresponden a Weising & Gardner (1999).

| Haplotipo | Ccmp1 | Ccmp6 | Ccmp10 | Ccmp2 | Ccmp4 | Ccmp5 |
|-----------|-------|-------|--------|-------|-------|-------|
| I | 128 | 72 | 108 | 181 | 141 | 107 |
| II | 128 | 72 | 108 | 181 | 141 | 108 |
| III | 129 | 72 | 108 | 181 | 141 | 107 |
| IV | 129 | 72 | 108 | 182 | 141 | 107 |
| V | 129 | 72 | 108 | 181 | 141 | 111 |
| VI | 129 | 72 | 111 | 182 | 141 | 107 |
| VII | 129 | 72 | 111 | 182 | 141 | 106 |
| VIII | 129 | 72 | 111 | 182 | 140 | 106 |
| IX | 128 | 72 | 111 | 182 | 141 | 106 |
| X | 129 | 72 | 111 | 183 | 141 | 106 |
| XI | 129 | 72 | 111 | 182 | 141 | 105 |
| XII | 129 | 71 | 111 | 182 | 141 | 106 |
| XIII | 129 | 72 | 111 | 182 | 142 | 106 |
| XIV | 129 | 72 | 110 | 182 | 142 | 106 |
| XV | 128 | 72 | 109 | 182 | 142 | 104 |
| XVI | 129 | 72 | 111 | 182 | 142 | 107 |
| XVII | 129 | 72 | 111 | 183 | 142 | 107 |
| XVIII | 129 | 72 | 111 | 183 | 142 | 108 |
| XIX | 129 | 72 | 111 | 182 | 142 | 108 |
| XX | 129 | 72 | 111 | 182 | 141 | 108 |
| XXI | 129 | 72 | 111 | 182 | 142 | 109 |
| XXII | 129 | 71 | 111 | 182 | 142 | 109 |
| XXIII | 129 | 71 | 111 | 182 | 142 | 110 |
| XXIV | 129 | 71 | 111 | 182 | 142 | 108 |
| XXV | 129 | 70 | 111 | 182 | 142 | 108 |
| XXVI | 129 | 71 | 111 | 181 | 142 | 108 |
| XXVII | 129 | 71 | 112 | 182 | 142 | 108 |
| XXVIII | 129 | 71 | 112 | 182 | 142 | 107 |
| XXIX | 129 | 71 | 111 | 182 | 142 | 107 |
| XXX | 129 | 71 | 111 | 183 | 142 | 107 |
| XXXI | 129 | 71 | 111 | 183 | 142 | 106 |
| XXXII | 129 | 71 | 111 | 183 | 141 | 107 |

Tabla 5. Distribución de los haplotipos de cpDNA en las localidades analizadas de *C. kujete*.

| | I | II | III | IV | V | VI | VII | VIII | IX | X | XI | XII | XIII | XIV | XV | XVI | XVII | XVIII | XIX | XX | XXI | XXII | XXIII | XXIV | XXV | XXVI | XXVII | XXVIII | XXIX | XXX | XXXI | XXXII | | | |
|--------|----|----|-----|----|---|----|-----|------|----|---|----|-----|------|-----|----|-----|------|-------|-----|----|-----|------|-------|------|-----|------|-------|--------|------|-----|------|-------|--|--|--|
| Ari | | | 3 | 1 | 1 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Can | | | 4 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Cao | | | 2 | 1 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| CAT | 9 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| CE | | | | | | | 21 | | | | | 1 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Chan | 9 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Che | | | | | | | | | | | | | | | | 7 | | | 1 | | 1 | | | | | | | | | | | | | | |
| Cho | 9 | | | | | | | | | | | | | | | 2 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Chun | 2 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Coa | 1 | | | | | | | | | | | | | | | | | | 1 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Cop | | | 2 | 2 | | | | | | | | | 5 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Coy | | | 7 | 1 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 1 | | | | | | 1 | | | | |
| Cu | 1 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| DziH | 15 | | | | | 1 | | | | | | | | | | 5 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| DziS | | | | | | 2 | 11 | | | 5 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| EKH | 3 | | | | | | 9 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Esc | | | | | | | 5 | | | | | | 7 | | | 4 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| EZ | | | | | | | | | | | | | 5 | | | 5 | | 1 | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Ix | 8 | | | | | | 1 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| JCB | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 1 | | | |
| Lim | 7 | | | | | | | | | | | | | 2 | | 1 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Man | 32 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Mat | 2 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 1 | | | | | | | | | | |
| MEXU1 | | | | | | | | | | | | | | | | 1 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| MEXU2 | | | | | | | | | | | | | | | | 1 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| MEXU3 | | | | | | | | | | | | | | | | 1 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| MEXU9 | | | | | | | | | | | | | | | 1 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| MEXU10 | 1 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Mor | 1 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Pa | 6 | | | | | | 5 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Peru | | 1 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

Tabla 6. Distribución de los haplotipos de cpDNA en las localidades analizadas de *C. alata*.

| | I | II | III | IV | V | VI | VII | VIII | IX | X | XI | XII | XIII | XIV | XV | XVI | XVII | XVIII | XIX | XX | XXI | XXII | XXIII | XXIV | XXV | XXVI | XXVII | XXVIII | XXIX | XXX | XXXI | XXXII | | |
|--------|---|----|-----|----|---|----|-----|------|----|---|----|-----|------|-----|----|-----|------|-------|-----|----|-----|------|-------|------|-----|------|-------|--------|------|-----|------|-------|---|--|
| Aca | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 8 | | | 3 | | | | | | | |
| Ant | | | | | | | | | | | | | | | | 10 | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| AO | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 12 | 1 | 1 | | | | | | | | | | | | | |
| Cha | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 10 | | | | | 3 | | | | | | | | | | |
| Ciu-S | | | | | | | | | | | | | | | | 6 | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Ciu-H | | | | | | | | | | | | | | | | 3 | | | 1 | | | | | | | | | | | | | | | |
| Coa-S | | | | | | | | | | | | | | | | | | 1 | 7 | | 1 | | | | | | | | | | | | | |
| Coa-H | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 2 | | | | | | | | | | | | | | | |
| Con | | | | | | | | | | | | | | | | 3 | | | 7 | | | | | | | | | | | | | | | |
| CRPV | 1 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 4 | | | | |
| GuaAz | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 1 | | 1 | | | 1 | |
| GuaTec | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 1 | | | | |
| HonC | 1 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 4 | | | | |
| HonJ | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 7 | | | | |
| JCB | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 4 | | | | |
| Lia | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 5 | | |
| Mat-S | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 1 | 1 | | | | | | | | | | |
| Mat-H | 8 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| MEXU13 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 1 | | | | |
| Mor | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 6 | 2 | | | | | | | | | |
| Nap | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 14 | | 4 | | | | | | | | | | | | | |
| Noc | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 14 | | | | | | | | | | | | | | | |
| PN-S | | | | | | | | | | | | | | | | 6 | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| PN-H | | | | | | | | | | | | | | | | 4 | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Pon | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 2 | | 5 | | |
| SI | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 2 | | | | | | | | | | | | | | | |
| Sis | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 2 | | 4 | | 1 | | | | | | | | |
| SR | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 1 | | | | | 1 | | | | | | | | | | |
| Ten | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 10 | | | | | | | | | | | | | | | |
| Teq | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 6 | | | | | | | | | | | | | | | |
| Tiz | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 2 | | | | | | | | | | |

Tom
Tri
Ver
VU

2

9

5

2

6

3

2

2

6

Tabla 7. Diversidad haplotípica detectada en los sitios muestreados de *C. kujete*. N= tamaño de muestra; *h*=índice de diversidad haplotípica de Nei (1987).

| Sitio | N | No. haplotipos | <i>h</i> ± <i>sd</i> |
|--------------------------|----|----------------|----------------------|
| <i>Huertos</i> | | | |
| Ari | 5 | 3 | 0.7000 +/- 0.2184 |
| Can | 4 | 1 | 0.0000 +/- 0.0000 |
| Cao | 3 | 2 | 0.6667 +/- 0.3143 |
| CAT | 9 | 1 | 0.0000 +/- 0.0000 |
| Chan | 9 | 1 | 0.0000 +/- 0.0000 |
| Cho | 11 | 2 | 0.3273 +/- 0.1533 |
| Chun | 2 | 1 | 0.0000 +/- 0.0000 |
| Coa | 2 | 2 | 1.0000 +/- 0.5000 |
| Cop | 9 | 3 | 0.6667 +/- 0.1318 |
| Coy | 10 | 4 | 0.5333 +/- 0.1801 |
| DziH | 21 | 3 | 0.4524 +/- 0.1047 |
| EkH | 12 | 2 | 0.4091 +/- 0.1333 |
| Ix | 9 | 2 | 0.2222 +/- 0.1662 |
| Lim | 10 | 3 | 0.5111 +/- 0.1643 |
| Man | 32 | 1 | 0.0000 +/- 0.0000 |
| Mat | 3 | 2 | 0.6667 +/- 0.3143 |
| Mor | 2 | 2 | 1.0000 +/- 0.5000 |
| Pa | 11 | 2 | 0.5455 +/- 0.0722 |
| Pet | 10 | 2 | 0.2000 +/- 0.1541 |
| Pue | 10 | 1 | 0.0000 +/- 0.0000 |
| Sis | 1 | 1 | - |
| SNJ | 6 | 1 | 0.0000 +/- 0.0000 |
| TCP-H | 1 | 1 | - |
| Tec | 5 | 1 | 0.0000 +/- 0.0000 |
| TIH | 1 | 1 | - |
| Yax | 10 | 2 | 0.2000 +/- 0.1541 |
| Zan | 15 | 2 | 0.2476 +/- 0.1307 |
| ZAP | 1 | 1 | - |
| Cu | 1 | 1 | - |
| Peru | 1 | 1 | - |
| <i>Silvestres</i> | | | |
| CE | 22 | 2 | 0.0909 +/- 0.0809 |
| Vic | 16 | 5 | 0.5333 +/- 0.1421 |
| Xpu | 10 | 2 | 0.2000 +/- 0.1541 |
| Sta | 11 | 3 | 0.5636 +/- 0.1340 |
| Tan | 17 | 4 | 0.3309 +/- 0.1426 |
| TCP-S | 11 | 2 | 0.5091 +/- 0.1008 |
| Pro | 14 | 2 | 0.4396 +/- 0.1120 |
| Esc | 16 | 3 | 0.6917 +/- 0.0580 |
| EZ | 11 | 3 | 0.6364 +/- 0.0895 |
| Che | 9 | 3 | 0.4167 +/- 0.1907 |
| DziS | 21 | 4 | 0.6714 +/- 0.0819 |
| JCB | 1 | 1 | - |
| MEXU1 | 1 | 1 | - |
| MEXU2 | 1 | 1 | - |
| MEXU3 | 1 | 1 | - |
| MEXU9 | 1 | 1 | - |
| MEXU10 | 1 | 1 | - |

Tabla 8. Diversidad haplotípica detectada en los sitios muestreados de *C. alata*. N= tamaño de muestra; *h*=índice de diversidad haplotípica de Nei (1987).

| Sitio | N | No. haplotipos | <i>h</i>±sd |
|--------------------------|----------|-----------------------|--------------------|
| <i>Huertos</i> | | | |
| Ciu H | 4 | 2 | 0.5000 +/- 0.2652 |
| Tiz | 2 | 1 | 0.0000 +/- 0.0000 |
| SR | 2 | 2 | 1.0000 +/- 0.5000 |
| SI | 2 | 1 | 0.0000 +/- 0.0000 |
| PN H | 4 | 1 | 0.0000 +/- 0.0000 |
| Hon C | 5 | 2 | 0.4000 +/- 0.2373 |
| Hon J | 7 | 1 | 0.0000 +/- 0.0000 |
| Coa H | 2 | 1 | 0.0000 +/- 0.0000 |
| Mat H | 8 | 1 | 0.0000 +/- 0.0000 |
| Sis | 7 | 3 | 0.6667 +/- 0.1598 |
| <i>Silvestres</i> | | | |
| Aca | 11 | 2 | 0.4364 +/- 0.1333 |
| Ant | 10 | 1 | 0.0000 +/- 0.0000 |
| AO | 14 | 3 | 0.2747 +/- 0.1484 |
| Cha | 13 | 2 | 0.3846 +/- 0.1321 |
| Ciu S | 6 | 1 | 0.0000 +/- 0.0000 |
| Coa S | 9 | 3 | 0.4167 +/- 0.1907 |
| Con | 10 | 2 | 0.4667 +/- 0.1318 |
| Lia | 5 | 1 | 0.0000 +/- 0.0000 |
| Mat S | 2 | 2 | 1.0000 +/- 0.5000 |
| Mor | 8 | 2 | 0.4286 +/- 0.1687 |
| Nap | 18 | 2 | 0.3660 +/- 0.1124 |
| Noc | 14 | 1 | 0.0000 +/- 0.0000 |
| PN S | 6 | 1 | 0.0000 +/- 0.0000 |
| Pon | 7 | 2 | 0.4762 +/- 0.1713 |
| Ten | 10 | 1 | 0.0000 +/- 0.0000 |
| Teq | 10 | 1 | 0.0000 +/- 0.0000 |
| Tom | 9 | 1 | 0.0000 +/- 0.0000 |
| Tri | 11 | 3 | 0.6545 +/- 0.1115 |
| Ver | 9 | 3 | 0.6667 +/- 0.1318 |
| VU | 8 | 2 | 0.4286 +/- 0.1687 |
| GuaAZ | 3 | 3 | 1.0000 +/- 0.2722 |
| GuaTec | 1 | 1 | - |
| CRPV | 5 | 2 | 0.4000 +/- 0.2373 |
| MEXU13 | 1 | 1 | - |
| JCB | 4 | 1 | 0.0000 +/- 0.0000 |

Tabla 9. Valores del índice FCT generados en el análisis espacial de varianza molecular (SAMOVA) para distinto número de grupos (k) en *Crescentia cujete*. La significancia estadística de FCT (p) se basa en 1000 permutaciones de los datos (Dupanloup et al. 2002). Se marcan en negritas los valores más altos del índice FCT.

| Juego de datos | k | FCT | p |
|------------------|--------------------------------|----------------|----------------|
| Todos los sitios | 2 | 0.43105 | 0.02053 |
| | 3 | 0.65297 | 0 |
| | 4 | 0.75393 | 0 |
| | 5 | 0.48337 | 0 |
| | 6 | 0.75902 | 0 |
| | 7 | 0.75455 | 0 |
| | 8 | 0.73491 | 0 |
| | 9 | 0.73464 | 0 |
| | 10 | 0.75620 | 0 |
| | 11 | 0.74758 | 0 |
| | 12 | 0.73942 | 0 |
| | 13 | 0.73179 | 0 |
| | 14 | 0.72978 | 0 |
| | 15 | 0.73843 | 0 |
| | 16 | 0.75316 | 0 |
| | 17 | 0.72952 | 0 |
| | 18 | 0.73823 | 0 |
| | 19 | 0.74533 | 0 |
| | 20 | 0.74121 | 0 |
| | Sitios silvestres ¹ | 2 | 0.88129 |
| 3 | | 0.60176 | 0 |
| 4 | | 0.60627 | 0 |
| 5 | | 0.80148 | 0.00196 |
| 6 | | 0.62666 | 0 |
| 7 | | 0.67307 | 0 |
| 8 | | 0.64935 | 0 |
| 9 | | 0.62951 | 0 |
| 10 | | 0.65211 | 0 |
| 11 | | 0.64689 | 0 |
| 12 | 0.65379 | 0 | |
| 13 | 0.83379 | 0 | |
| 14 | 0.62287 | 0.0176 | |
| 15 | 1 | 0.00293 | |

¹ Se calculó hasta $k=15$ debido a que son en total 16 sitios silvestres.

Fig. 1. Representación gráfica de los valores de FCT para $k=2$ hasta $k=20$ en *C. cujete* para A) todos los sitios; B) sitios silvestres.

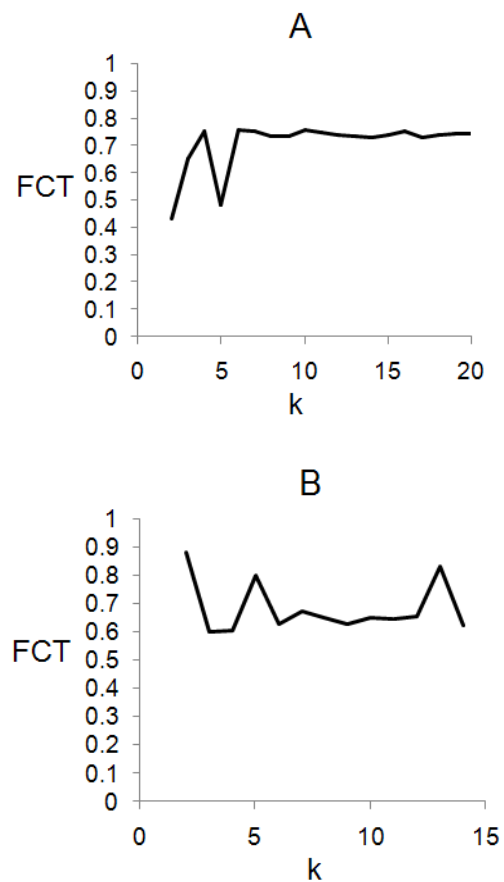
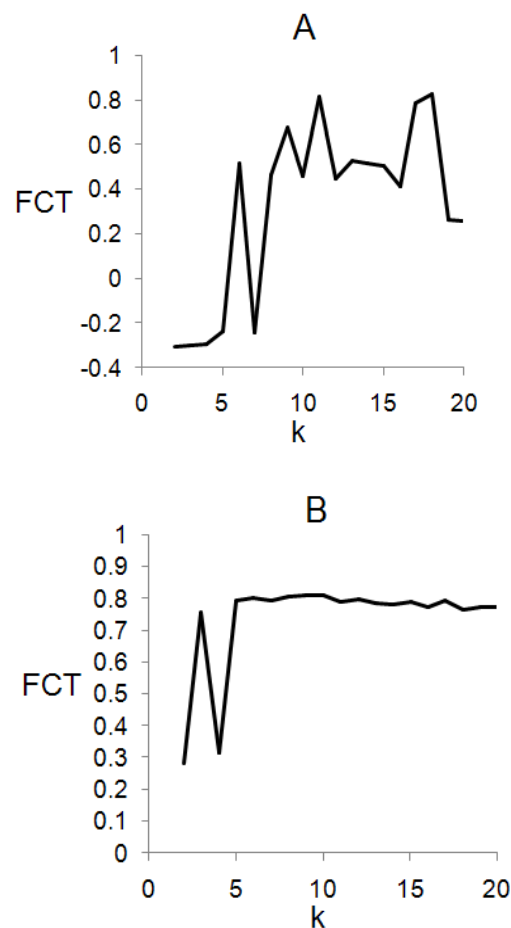


Tabla 10. Valores del índice FCT generados en el análisis espacial de varianza molecular (SAMOVA) para distinto número de grupos (k) en *Crescentia alata*. La significancia estadística del valor de FCT (p) está basada en 1000 permutaciones de los datos (Dupanloup et al. 2002). Se marcan en negritas los valores más altos del índice FCT.

| Juego de datos | k | FCT | p |
|------------------|-------------------|----------------|----------|
| Todos los sitios | 2 | -0.30432 | 0.52199 |
| | 3 | -0.30233 | 0.54057 |
| | 4 | -0.29634 | 0.55523 |
| | 5 | -0.23594 | 0.50538 |
| | 6 | 0.515 | 0.0391 |
| | 7 | -0.24409 | 0.57576 |
| | 8 | 0.46469 | 0 |
| | 9 | 0.67477 | 0 |
| | 10 | 0.45683 | 0 |
| | 11 | 0.81268 | 0 |
| | 12 | 0.44626 | 0.00489 |
| | 13 | 0.52891 | 0 |
| | 14 | 0.51419 | 0.00293 |
| | 15 | 0.50493 | 0.00098 |
| | 16 | 0.41497 | 0.02151 |
| | 17 | 0.78864 | 0 |
| | 18 | 0.82792 | 0 |
| | 19 | 0.26478 | 0.22287 |
| | 20 | 0.25519 | 0.22581 |
| | Sitios silvestres | 2 | 0.27994 |
| 3 | | 0.75744 | 0 |
| 4 | | 0.315 | 0.00978 |
| 5 | | 0.79433 | 0 |
| 6 | | 0.80304 | 0 |
| 7 | | 0.7941 | 0 |
| 8 | | 0.80444 | 0 |
| 9 | | 0.80981 | 0 |
| 10 | | 0.80969 | 0 |
| 11 | | 0.78997 | 0 |
| 12 | | 0.79779 | 0 |
| 13 | | 0.7847 | 0 |
| 14 | | 0.77994 | 0 |
| 15 | | 0.78911 | 0 |
| 16 | | 0.77336 | 0 |
| 17 | | 0.79269 | 0 |
| 18 | | 0.76479 | 0 |
| 19 | | 0.77391 | 0 |
| 20 | | 0.77127 | 0 |

Fig. 2. Representación gráfica de los valores de FCT para $k=2$ hasta $k=20$ en *C. alata* para A) todos los sitios; B) sitios silvestres.



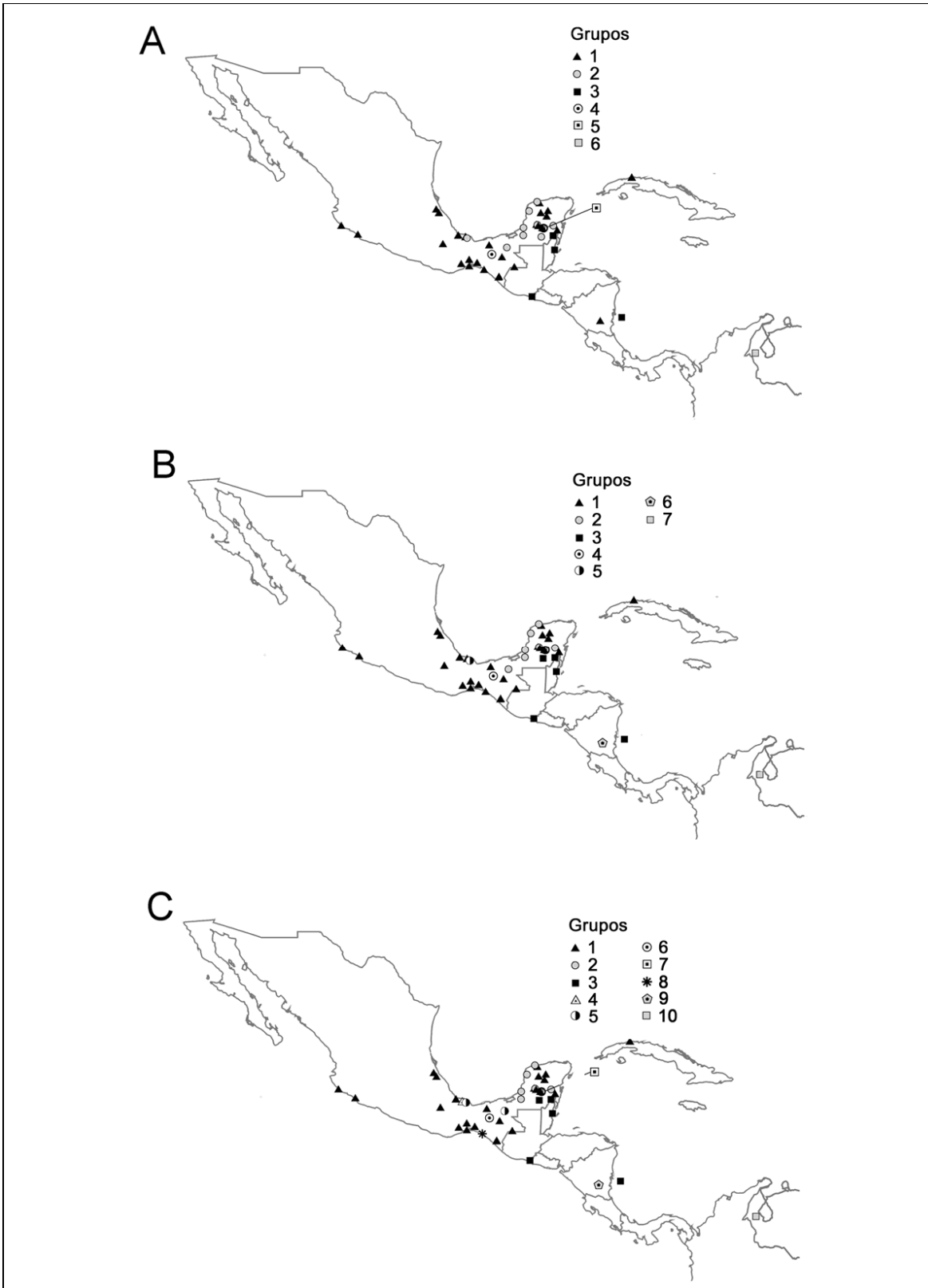


Fig. 3. Grupos identificados con el análisis de SAMOVA en todas las poblaciones de *C. kujete*. A) Seis grupos; B) Siete grupos; C) Diez grupos.

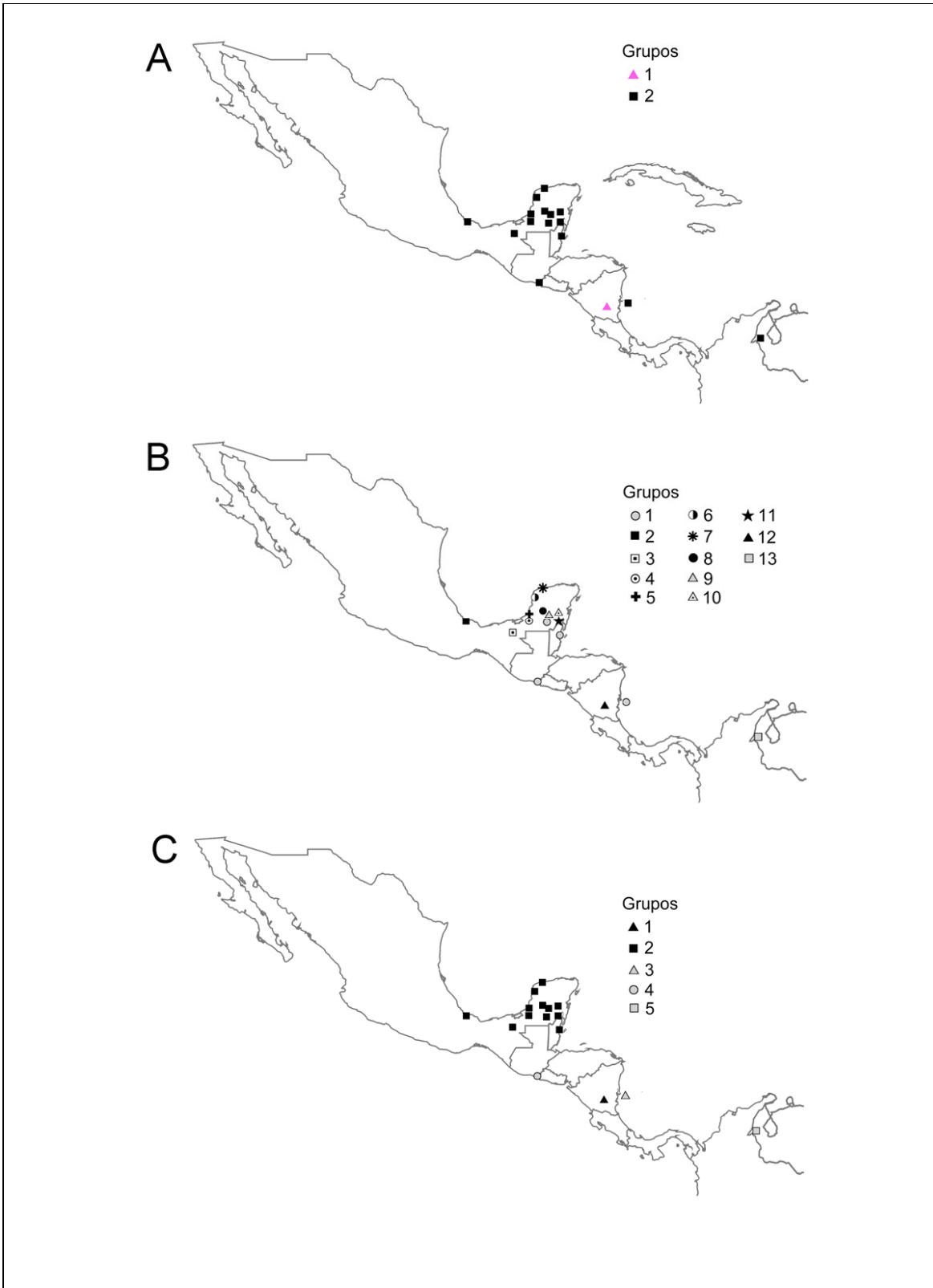


Fig. 4. Grupos identificados con el análisis de SAMOVA en las poblaciones silvestres de *C. cujete*. A) Dos grupos; B) Trece grupos; C) Cinco grupos.

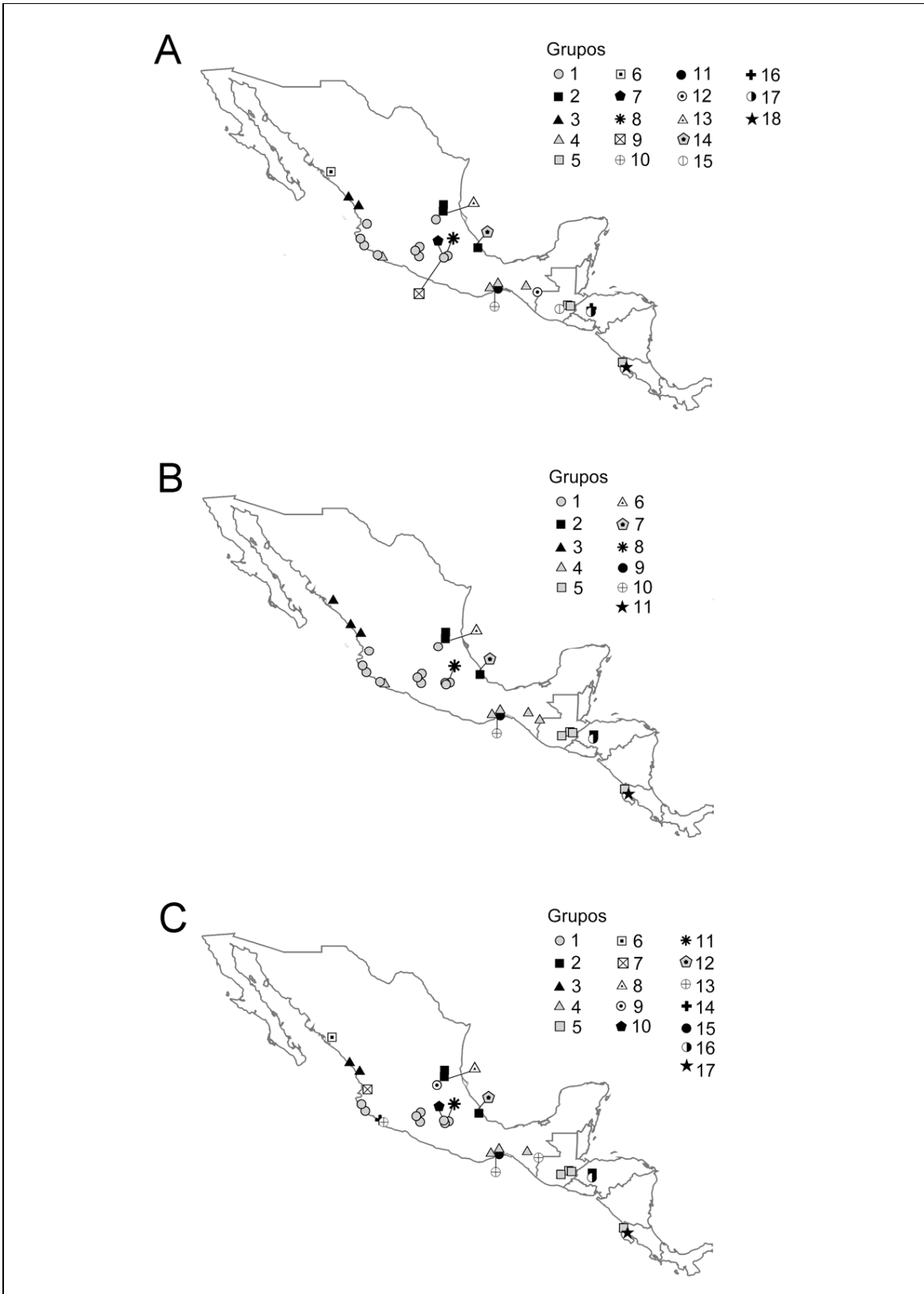


Fig. 5. Grupos identificados con el análisis de SAMOVA en todas las poblaciones de *C. alata*. A) Dieciocho grupos; B) Once grupos; C) Diecisiete grupos.

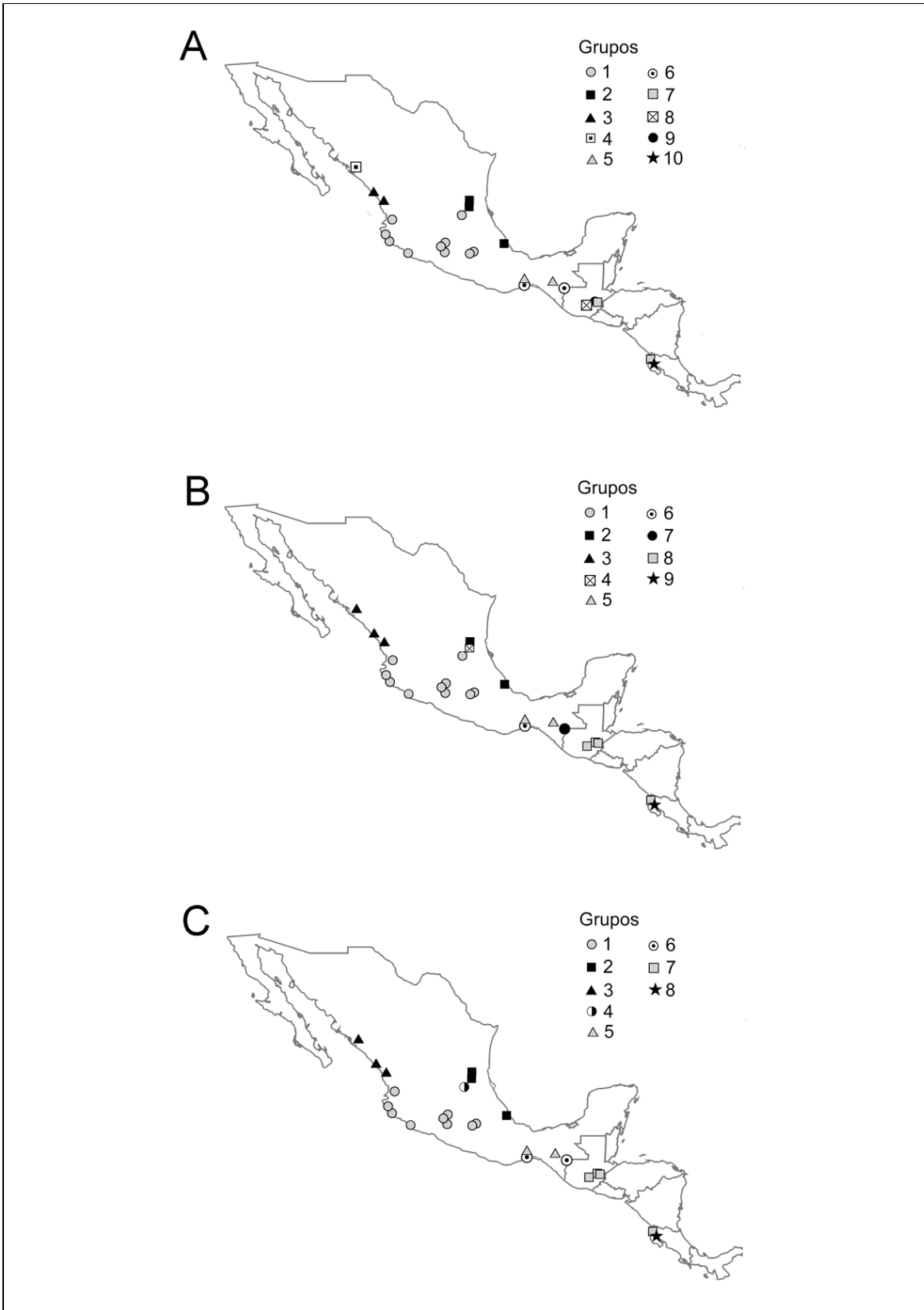
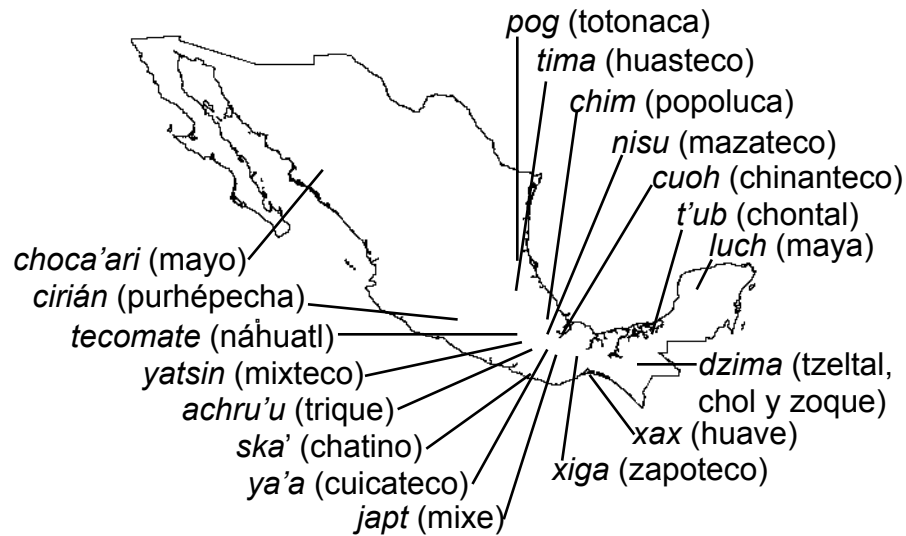


Fig. 6. Grupos identificados con el análisis de SAMOVA en las poblaciones silvestres de *C. alata*. A) Diez grupos; B) Nueve grupos; C) Ocho grupos.

ANEXO V.

Folleto distribuido en las comunidades mayas donde se realizó la investigación etnobotánica.

NOMBRES DE LA JÍCARA EN LENGUAS INDÍGENAS DE MÉXICO



La jícara que se conoce en la vertiente al Océano Pacífico pertenece a otra especie: *Crescentia alata*, cuyas hojas están divididas en tres partes.



Ilustraciones y textos: Xitlali Aguirre Dugua
 Centro de Investigaciones en Ecosistemas UNAM

AGRADECIMIENTOS

A los habitantes de las comunidades de Chun Ek, Chanchén, Pachuitz, Dzibalchén y Chunchintok (Campeche), Maní y Yaxcabá (Yucatán). A la Escuela de Agricultura Ecológica U Yits Ka'an (Maní.). A Lisandro Cocom, Israel Noh, Marcela Morales y Héctor León.

luch

La jícara en la Península de Yucatán

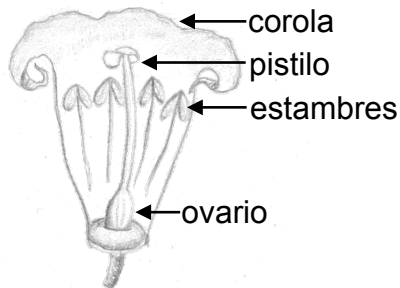


LA MATA

El árbol de la jícara crece en los patios de las casas, donde la gente lo siembra de gajo (rama o esqueje) y a veces de semilla.

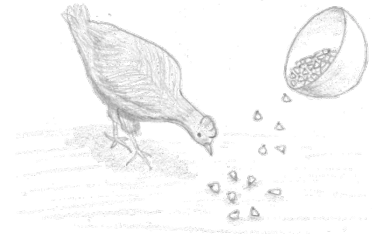
Existe una asociación entre la jícara y la muerte, pues se considera que si se siembra un gajo y éste vive, la persona que lo sembró muere.

Su nombre científico es *Crescentia cujete*.



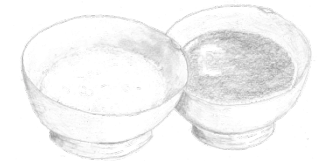
La flor es verde. Al caer la corola significa que ya se fecundó, y el ovario empieza a crecer hasta convertirse en fruto.

EN LAS COMUNIDADES DE CAMPECHE, QUINTANA ROO Y YUCATÁN LAS JÍCARAS SE USAN PARA:



Sacar agua y maíz

Tomar pozol, atole, café, agua y otras bebidas.



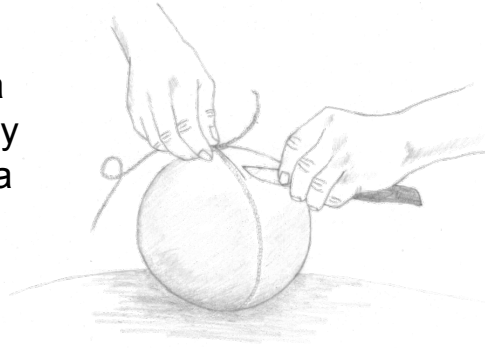
Ofrecer sacab a los vientos. También para el baalché y para la ceremonia de ch'aachak,

Ofrecer agua y chocolate a los difuntos.

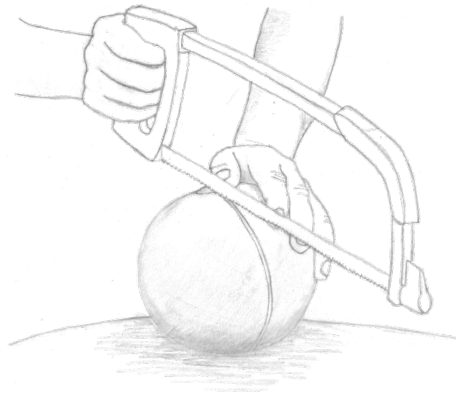


¿CÓMO SE PREPARA LA JÍCARA?

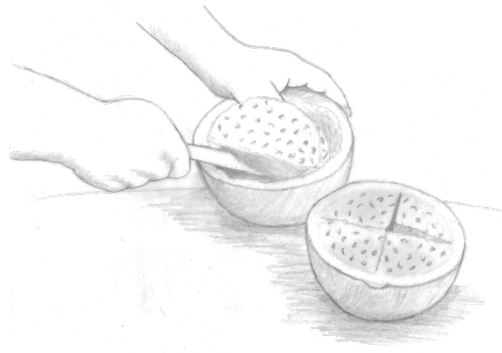
- 1.** Se pasa un hilo por la mitad del fruto sazón y se marca la línea para que salgan derechas las dos mitades.



- 2.** Se corta el fruto con la segueta, siguiendo la línea marcada.



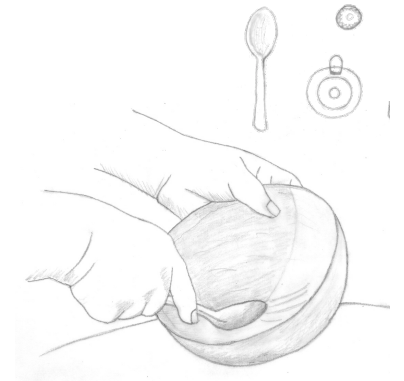
- 3.** Se saca la pulpa y la semilla de adentro, dejando un poco de pulpa pegada en la orilla.



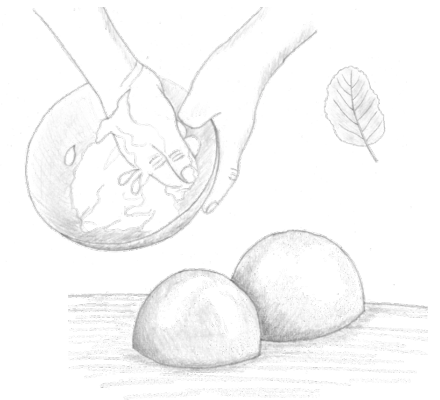
- 4.** Se hiere en agua con cal, durante un rato. No debe pasar más de 5 minutos hirviendo, porque la jícara se pone negra.



- 5.** Se raspa la pulpa que quedó con una cuchara (se le puede sacar filo), una tapa de lata o una corcholata aplanada.



- 6.** Se lava bien con hoja de siricote o fibra. Se deja secar boca abajo al sol de 3 a 5 días.



LAS JÍCARAS EN LA HISTORIA MAYA

En el libro del Popol Vuh se relata que los gemelos Hun-Hunahpú y Vucub-Hunahpú perdieron el juego de pelota ante los señores del inframundo. Como castigo, decapitan a Hun-Hunahpú y su cabeza es colocada en el tronco del árbol del jícaro.



En este antiguo jarrón maya se observa del lado izquierdo un árbol de jícaro, donde se encuentra Itzam Ye, que es un vanidoso dios representado como guacamayo al que Hun Ajah, hijo de Hun-Hunahpú, le tira con su cerbatana.

Fray Diego de Landa escribió en 1566 en su libro *Relación de las Cosas de Yucatán*:

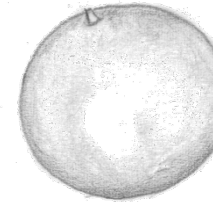
“Hay un arbol de cuya fruta, que es como una calabaza redonda, hacen los indios sus vasos, y son muy buenos y hácenlos ellos muy pintados y galanos. De esta misma casta hay otro que lleva la fruta más pequeña, y muy dura y hacen de ella otros vasillos para ungüentos y otros servicios”.

VARIEDADES DE JÍCARA

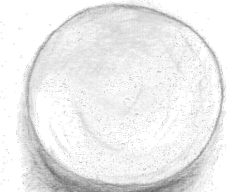
En algunas comunidades mayas la gente reconoce 2 tipos de luch:

Sac luch
jícara blanca

La jícara es más delgada,
se ve más blanca.

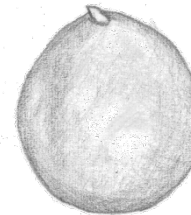


El fruto es más
redondo, su
color es verde
claro.

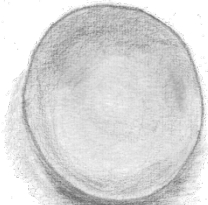


Yaax luch
jícara verde

La jícara es más gruesa
y de tono café.

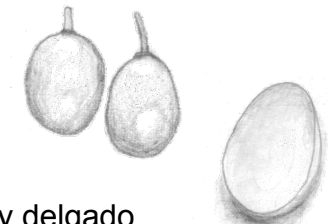


El fruto no es
muy redondo y
es de color verde
oscuro.



EL UAS

Crece silvestre en sabanas y
zonas abiertas. También es
tolerado en algunos huertos.



Su fruto es pequeño, alargado y delgado.
Algunas personas lo usan para sacar jícaras;
también puede servir como cuchara.