



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN ECOSISTEMAS Y SUSTENTABILIDAD
BIOLOGÍA EVOLUTIVA

**FILOGEOGRAFÍA Y GENÉTICA DE POBLACIONES DE *Prosopis laevigata*
(FABACEAE) EN MÉXICO**

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

GONZALO CONTRERAS NEGRETE

TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: DR. ANTONIO GONZÁLEZ RODRÍGUEZ
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN ECOSISTEMAS Y
SUSTENTABILIDAD, UNAM

COMITÉ TUTOR: DR. ALEJANDRO CASAS FERNÁNDEZ
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN ECOSISTEMAS Y
SUSTENTABILIDAD, UNAM
DR. JUAN FRANCISCO ÓRNELAS RODRÍGUEZ
INSTITUTO DE ECOLOGÍA, A.C. XALAPA, VERACRUZ

MÉXICO, DF. NOVIEMBRE, 2015.



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN ECOSISTEMAS Y SUSTENTABILIDAD
BIOLOGÍA EVOLUTIVA

FILOGEOGRAFÍA Y GENÉTICA DE POBLACIONES DE *Prosopis laevigata*
(FABACEAE) EN MÉXICO

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

GONZALO CONTRERAS NEGRETE

TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: DR. ANTONIO GONZÁLEZ RODRÍGUEZ
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN ECOSISTEMAS Y
SUSTENTABILIDAD, UNAM

COMITÉ TUTOR: DR. ALEJANDRO CASAS FERNÁNDEZ
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN ECOSISTEMAS Y
SUSTENTABILIDAD, UNAM
DR. JUAN FRANCISCO ÓRNELAS RODRÍGUEZ
INSTITUTO DE ECOLOGÍA, A.C. XALAPA, VERACRUZ

MÉXICO, DF. NOVIEMBRE, 2015.

Dr. Isidro Ávila Martínez
Director General de Administración Escolar, UNAM
Presente.

Por medio de la presente, me permito informar a usted, que en reunión ordinaria del Subcomité por Campo de Conocimiento de (Ecología y Manejo Integral de Ecosistemas) del Posgrado en Ciencias Biológicas, se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de **Maestro en Ciencias Biológicas** del alumno **Contreras Negrete Gonzalo** con número de cuenta **514012685** con la tesis titulada "**Filogeografía y genética de poblaciones de *Prosopis laevigata* (Fabaceae) en México**" bajo la dirección de: **Dr. Antonio González Rodríguez**. Tutor principal.

- Presidente: Dr. Alejandro Casas Fernández
- Vocal: Dr. Luis Enrique Eguarte Fruns
- Secretario: Dr. Salvador Arias Montes
- Suplente: Dr. Eduardo Ruiz Sánchez
- Suplente: Dra. Danae Cabrera Toledo

Sin otro particular, quedo de usted.

Atentamente
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Cd. Universitaria, D.F., a 22 de octubre de 2015

M. del Coro Arizmendi Arriaga
Dra. Maria del Coro Arizmendi Arriaga
Coordinadora del Programa



AGRADECIMIENTOS

Al Posgrado en Ciencias Biológicas, UNAM.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) y al Programa Nacional de Posgrados de Calidad por la beca otorgada durante el periodo de Agosto de 2013 a Julio de 2015. Este proyecto fue financiado por el Instituto de Investigaciones en Ecosistemas UNAM (POAGR).

Al comité Tutorial integrado por:

Dr. Antonio González Rodríguez

Dr. Alejandro Casas Fernández

Dr. Juan Francisco Órnelas Rodríguez

Al Técnico del laboratorio de Ecología Molecular, Víctor Rocha

AGRADECIMIENTOS A TITULO PERSONAL

Faltarían líneas para agradecer a todos los personajes solidarios con este trabajo, a aquellas personas cruciales en cada una de las etapas de la investigación, en las buenas, en las malas y en las peores.

Merece mi sincero agradecimiento el Dr. Antonio González, Toño, por todo el apoyo y por creer en esta investigación aun sin haberla planeado en su línea de investigación, ni presupuesto, por esa calidez que lo caracteriza como investigador, como persona y como camarada... la función debe continuar.

A la Dr. Dánae Cabrera, por haber sido y ser un catalizador en mi incursión en esto!

Al Dr. Casas y al Dr. Ornelas por toda su paciencia, consejos e interés en mi trabajo, Gracias!

Así mismo, agradezco con mucho cariño al laboratorio de Genética de la Conservación: Marisa, Tamara, Mariana, Chucho, Kuku, Ingrid, Ricardos, Nandito por todo el apoyo, paciencia, viajes, desvelos, crudas... Gran equipo!

A todo ese gran equipo que siempre hace la vida más ligera, divertida y cálida: Leo, Mary, Jons, Jordi, Diegui, Flower y Cía., HMP... Desde las cavernas hasta nuestros días seguimos adelante y con todo el apoyo... Gracias!

A mi generación, sección 01, de la Fac. Bio. UMSNH. Por habernos contaminado juntos de esto y seguir buscando y emocionándonos en cada nueva experiencia, cada nuevo reto, sean ustedes mi ejemplo!!!

Y en especial, mi más grande agradecimiento a mis papás Gloria y Francisco, motor incansable de todo mi ser, refugio y apoyo incondicional, no alcanzaría ni lo material ni las palabras para agradecerles todo y todo es muy poco por lo recibido!

A mis hermanos, Irene, George, El Po, Goya y sus respectivas tribus, así como a mi tía Xochitl y toda la banda. Gracias por todo lo aprendido con ustedes, por todas sus enseñanzas, por todas las carcajadas y en especial por ese gran equipo incondicional que representan...Gracias Totales!!!

A los que se adelantaron... de todo corazón, se les extraña: Licho, el luchador incansable, el torbellino, donde estés, muchas gracias por todas las aventuras, momentos buenos y malos, crisis! Se te aprecia y extraña ampliamente!

Hugo, jamás tendría palabras suficientes para describir tú pérdida; tu repentina partida no nubló, ni lo hará, más de 20 años de momentos en la movida! Crecimos, vivimos, aprendimos, conocimos, fuimos vagos!... Físicamente te fuiste, por esos azares de la realidad que jamás comprenderé... y que cuesta mucho aceptar. Nos falta una mesa, pero mientras tanto... cada logro es tuyo también y a tu memoria, los mezquites que nos vieron crecer.

*En las cumbres de un verde
mezquite...*

A la memoria de HZM... Incondicional.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE FIGURAS	i.
ÍNDICE DE CUADROS	ii.
RESUMEN	iii.
ABSTRACT	v.
I. INTRODUCCIÓN	
1.1 Filogeografía y genética de poblaciones	1.
1.2 Zonas áridas	3.
1.3 Zonas áridas en México	5.
1.4 Género <i>Prosopis</i>	6.
1.5 <i>Prosopis laevigata</i>	8.
1.6 Descripción de <i>Prosopis laevigata</i>	9.
1.7 Biología reproductiva	10.
II. ANTECEDENTES	
2.1 Impacto de los cambios climáticos durante la transición Pleistoceno-Holoceno en la biota de México	11.
2.2 Estudios filogeográficos en zonas áridas de México	13.
III. HIPÓTESIS	17.
IV. OBJETIVOS	17.
V. MATERIALES Y MÉTODOS	
5.1 Colecta de material biológico	18.
5.2 Análisis de laboratorio	20.
5.3 Análisis de genética de poblaciones	22.
5.4 Estructura genética	23.
5.5 Análisis de secuencias del ADNcp	24.
5.6 Análisis de haplotipos	25.
5.7 Diferenciación poblacional	25.
	8

5.8 Estructura filogeográfica	26.
5.9 Demografía histórica	26.
5.10 Distribuciones <i>mismatch</i>	27.
5.11 Bayesian Skyline Plot	28.
5.12 Estimación de tiempos de divergencia	28.

VI. RESULTADOS

6.1 Diversidad genética	30.
6.2 Estructura genética	33.
6.3 Diferenciación genética entre poblaciones	33.
6.4 Patrones de estructura genética	34.
6.5 ADN de cloroplasto y red de haplotipos	39.
6.6 Diferenciación poblacional del cloroplasto	43.
6.7 Estructura filogeográfica del cloroplasto	45.
6.8 Demografía histórica del cloroplasto	45.
6.9 Bayesian Skyline Plot	46.
6.10 Estimación de tiempos de divergencia	48.

VII. DISCUSIÓN

7.1 Importancia de <i>Prosopis laevigata</i>	49.
7.2 Diversidad genética e índices de fijación	49.
7.3 Estructura genética	52.
7.4 Filogeografía	56.
7.5 Historia demográfica	56.
7.6 Estructura genética y filogeográfica del cloroplasto	58.
7.7 Refugios glaciales	61.
7.8 <i>P. juliflora</i> , <i>P. glandulosa</i> y <i>P. laevigata</i>	63.

VII. CONCLUSIONES

LITERATURA CITADA

ANEXOS

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.- Cronograma de diversificación del género <i>Prosopis</i> tomado de Catalano et al., (2008).	7.
Figura 2.- Distribución de <i>P. laevigata</i> en México con base en registros de los herbarios MEXU (UNAM) y del Centro Regional de Bajío (InEcol Pátzcuaro).	9.
Figura 3.- <i>P. laevigata</i> : a) pinna; b) foliolo; c) fruto; d) semilla (Tomado de Palacios, 2006).	10.
Figura 4.- Mapa de la ubicación geográfica de las poblaciones colectadas de <i>P. laevigata</i> en México.	18.
Figura 5.- Análisis de regresión entre valores de diversidad genética y latitud en poblaciones de <i>P. laevigata</i> en México.	32.
Figura 6.- Análisis de asignación bayesiana implementado en STRUCTURE.	36.
Figura 7.- Agrupamientos genéticos obtenidos para $K=3$.	37.
Figura 8.- Proporciones de los tres grupos genéticos en cada una de las poblaciones analizadas.	38.
Figura 9.- Distribución de haplotipos de cloroplasto de <i>P. laevigata</i> en México (izquierda) y red de haplotipos de parsimonia estadística (derecha).	42.
Figura 10.- Grupos genéticos arrojados por el análisis SAMOVA para las poblaciones de <i>P. laevigata</i> en México.	44.
Figura 11.- Distribución las diferencias pareadas arrojadas por el análisis s mismatch para los haplotipos de <i>P. laevigata</i> en México.	46.
Figura 12.- <i>Bayesian Skyline Plot</i> generalizado.	47.
Figura 13.- Cronograma de haplotipos de <i>P. laevigata</i> en México.	48.

ÍNDICE DE CUADROS

Tabla 1.- Datos geográficos de las poblaciones colectadas de <i>P. laevigata</i> en Mexico.	19.
Tabla 2.- Loci de microsatélites diseñados para <i>P. chilensis</i> y <i>P. flexuosa</i> (Mottura et al., 2005).	21.
Tabla 3.- Parámetros de diversidad genética en seis loci de microsatélites para 23 poblaciones de <i>P. laevigata</i> en México.	31.
Tabla 4.- Índices de fijación local y global y patrones de estructura genética para los estimadores F_{ST} y R_{ST} en seis loci de microsatélites utilizados para <i>P. laevigata</i> en México.	33.
Tabla 5.- Análisis de varianza molecular para los estimadores F_{ST} y R_{ST} .	34.
Tabla 6.- Diversidad genética y valores demográficos por población para <i>P. laevigata</i> en México.	41.
Tabla 7.- AMOVA obtenido con la secuencia <i>psbA3'/trnH</i> de las poblaciones de <i>P. laevigata</i> en México.	43.
Tabla 8.- Análisis SAMOVA. Se muestran los valores de maximización para $K = 7$.	44.

RESUMEN

Prosopis laevigata (Fabaceae) es la especie de más amplia distribución del género en México. Se distribuye en zonas áridas y semiáridas del país. Tiene valor ecológico y económico ya que forma islas de fertilidad además de ofrecer recursos naturales maderables, alimenticios y forrajeros, entre otros. Con el objetivo de evaluar la estructura filogeográfica y genética de *P. laevigata* así como reconstruir su historia poblacional reciente, se utilizaron secuencias del ADN de cloroplasto y 6 loci de microsatélites nucleares. Se colectaron de 10 a 12 individuos en cada una de 23 poblaciones cubriendo la distribución de la especie. Los valores de diversidad genética para los microsatélites nucleares fueron relativamente altos ($H_E = 0.573$; $N_{Ae} = 4.3$; $P = 94.4$). La diferenciación genética entre las poblaciones fue moderada ($F_{ST} = 0.15$). Se encontró una correlación positiva entre los estadísticos de diversidad genética (H_E , número efectivo de alelos) y la latitud, indicando mayor diversidad genética en las poblaciones del norte. Para llevar a cabo el análisis filogeográfico se utilizó la secuencia de la región *psbA3'/trnH* del ADN de cloroplasto. No se encontró estructura filogeográfica en las poblaciones de *P. laevigata* en su gradiente de distribución ($G_{ST} = 0.106$; $N_{ST} = 0.107$). Por otra parte, los estimadores de demografía histórica indicaron un proceso de expansión demográfica reciente, respaldada por la red de haplotipos en forma de estrella, la distribución unimodal de las diferencias pareadas entre haplotipos, los valores bajos de diversidad haplotípica y la distribución geográfica de los haplotipos encontrados. Los resultados a nivel de núcleo y cloroplasto evidencian un proceso de expansión poblacional reciente en las poblaciones de *P. laevigata* en México. Patrón congruente con la alta capacidad de colonización de áreas pobres en nutrientes, así como de germinación y resistencia al estrés hídrico en especies del género

Prosopis. Asimismo, cabe destacar el potencial efecto antrópico de las primeras fases de ocupación por grupos humanos en México, en la estructura genética y filogeográfica de las poblaciones de *Prosopis laevigata* en México, dado el aprovechamiento de sus frutos como alimento.

ABSTRACT

Prosopis laevigata is the most widely spread species of the genus in México. It is distributed in arid and semi arid zones in the country. Also, it has an ecological and economical value because it forms fertility islands and, in addition, it offers resources as timber, food, fodder etc. With the objective of evaluating the genetic and phylogeographic structure of *P. laevigata* and inferring its recent demographic history, we used the sequence of a chloroplast DNA fragment and six nuclear microsatellite loci. We collected 10 to 12 individuals in each of 23 populations covering the whole distribution area of the species. The genetic diversity values found in the nuclear microsatellite loci were relatively high ($H_E=0.573$; $A=4.3$; $P=94.4$). The genetic differentiation between populations was moderate ($F_{ST}=0.15$). We found a positive correlation between genetic diversity statistics (H_E , N_e) and latitude, indicating higher genetic diversity in the northern populations. For the phylogeographic analysis we used the sequence of the *psbA3'/trnH* chloroplast DNA region. There was no evidence of phylogeographic structure in the populations of *P. laevigata* across its whole distribution ($G_{ST}=0.106$; $N_{ST}=0.107$; $P>0.05$). On the other hand, the demographic history statistics indicated a recent demographic expansion process, supported by the star shaped haplotype network, the unimodal distribution of the pairwise differences between haplotypes, the low haplotype diversity values and the geographic distribution of the identified haplotypes. In general the results, both in terms of nuclear and chloroplast DNA variation, show a process of recent population growth in the populations of *P. laevigata* in Mexico. This pattern is consistent with the high capacity of colonization of nutrient-poor areas, as well as the high germination rates and high resistance to water stress in species of the *Prosopis* genus. Also, this pattern may have been influenced by a

potential anthropic effect during the first phase of occupation by human groups in Mexico, given the use of its fruits as food.

I.- INTRODUCCIÓN

1.1 Filogeografía y Genética de Poblaciones

La filogeografía y la genética de poblaciones ofrecen herramientas para la inferencia de los procesos microevolutivos y los factores ecológicos e históricos relacionados con el origen y la distribución de la diversidad genética de las poblaciones. Dado que la mayoría de las especies muestra algún grado de estructura genética relacionada con la geografía, la estructura filogeográfica refleja la interacción entre demografía, genealogía y procesos históricos tanto geológicos como climáticos (Domínguez y Vázquez, 2009).

La filogeografía hace uso del análisis de las genealogías genéticas al estudio evolutivo de las poblaciones, permitiendo generar inferencias respecto a secuencias de colonización, diversificación y extinción de linajes en determinadas áreas (Avice et al., 1987; Avice, 1994, 2000). Específicamente, la filogeografía se define como el análisis espacial de los linajes genéticos, aplicado a niveles intraespecíficos, así como entre especies cercanamente emparentadas, enfatizando los aspectos históricos de la distribución geográfica actual de los linajes. La filogeografía se puede considerar una subdisciplina de la biogeografía histórica, que integra conceptos y técnicas de biología molecular, genética de poblaciones, demografía, sistemática filogenética y paleontología (Domínguez y Vázquez, 2009). La filogeografía ha sido ampliamente utilizada en la descripción de eventos históricos tales como fragmentación o expansión de poblaciones, migración, vicarianza y extinción de linajes genéticos, así como de otros eventos capaces de modificar la estructura genética de las poblaciones (Hewitt, 2001; Hardy et al., 2002; Domínguez y Vázquez, 2009).

Los estudios filogeográficos tradicionalmente se han basado en la utilización de secuencias de ADN no recombinante, principalmente ADN de los organelos celulares (ADNmt y ADNcp), así como marcadores nucleares de los cuales se tenga certeza de que no muestran recombinación (Lantieri y Canfalonieri, 2003). Adicionalmente, los marcadores moleculares utilizados en estudios filogeográficos deben cumplir con características tales como ser neutrales, polimórficos al nivel intraespecífico, así como tener la capacidad de permitir la inferencia de relaciones de ancestría-descendencia, esto, con el objetivo de reconstruir la historia de los procesos demográficos históricos de las especies (Avise et al., 1987; Posada y Crandall, 2001).

En este sentido, la filogeografía en años recientes se ha basado en el modelo de coalescencia para el estudio de los procesos que influyeron históricamente en las poblaciones y que dieron lugar a la distribución y diversidad genética actual (Lantieri y Canfalonieri, 2003; Harding, 1996). La coalescencia para el caso de genes con herencia uniparental se formuló tomando como base el modelo de evolución para árboles de genes neutrales (Tajima, 1983; Avise et al., 1998).

Por su parte, la genética de poblaciones trata de explicar en términos cuantitativos los procesos microevolutivos que ocurren en las poblaciones (Eguiarte, 1999). Uno de los objetivos principales de la genética de poblaciones es la evaluación de la diversidad genética y su estructuración dentro y entre poblaciones (Hedrick, 2005). La genética de poblaciones contribuye a la inferencia de procesos microevolutivos que moldean la diversidad de las poblaciones naturales (Freeland, 2005). Estos procesos son la *mutación*, que es la fuente primaria de la variabilidad genética de las poblaciones y la fuente principal de material para la evolución; la *selección natural*, que se define como la reproducción

diferencial de genotipos, resultado de la interacción de los organismos individuales con su medio ambiente; y la *deriva génica*, que es una fuerza evolutiva que produce cambios aleatorios en las frecuencias alélicas; su magnitud está inversamente relacionada con el tamaño poblacional (Eguiarte, 1999; Futuyma, 2004). Otra de las fuerzas evolutivas fundamentales es el *flujo génico*, que se define como el movimiento de genes entre las poblaciones de una especie. El flujo génico puede introducir nuevos alelos a las poblaciones o modificar las frecuencias alélicas existentes. Frecuentemente el flujo génico tiende a contrarrestar el efecto de las presiones locales de selección natural en las poblaciones (Freeland, 2005; Curtis y Schnek, 2008).

Las características biológicas y ecológicas de las especies tales como la forma de vida, el sistema reproductivo, la capacidad de dispersión y colonización, así como el tamaño del área de distribución, son factores de crucial importancia para mediar el efecto de los procesos microevolutivos que experimentan las poblaciones. En este sentido, las poblaciones con un tamaño efectivo bajo son más susceptibles a los efectos de la deriva génica, mientras que en poblaciones con grandes tamaños poblacionales la variación genética aumenta como consecuencia de la mutación y se incrementa la efectividad de la selección natural. Asimismo, los niveles de flujo génico entre poblaciones determinan los niveles de estructura genética entre las éstas, donde a mayor flujo génico la diferenciación genética se reduce (Hamrick et al., 1992; Futuyma, 2004; Freeland, 2005).

1.2 Zonas áridas

México es un país cuyo territorio presenta extensas regiones áridas que cubren aproximadamente el 54% del territorio nacional. A nivel mundial, las zonas áridas son los

ecosistemas más extendidos, cubriendo aproximadamente el 26% de la superficie continental (McGinnies, 1979). En los ecosistemas áridos, la disponibilidad de agua, así como los patrones de precipitación tienden a ser altamente variables. Esto es una limitante que controla ampliamente las interacciones bióticas de dichos ecosistemas.

Las zonas áridas tienen un origen multivariado, relacionado con los sistemas de circulación atmosférica global (Ziegler et al., 2003), así como con condiciones particulares, tales como la distancia geográfica con respecto a las de fuentes de humedad o con el efecto de sombras orográficas que modifiquen los patrones de precipitación en áreas específicas (Taibuk y Lutgens, 1999; Ziegler et al., 2003).

El origen puntual de las zonas áridas contemporáneas es un tema de debate. Los registros sedimentarios, palinológicos y fósiles muestran evidencia de un fuerte proceso de aridificación y una marcada estacionalidad en los patrones de precipitación a finales del Cretácico (Aprox. 65 Ma) en África y Sudamérica (Ziegler et al., 2003; Lefranc y Guirad, 1990; Buson y Cornee, 1999). Sin embargo, no existe evidencia fósil de flora en dicho periodo (Ziegler et al., 2003). Por otra parte, algunos estudios muestran que el origen de los biomas desérticos actuales es más reciente, proponiendo su aparición durante la transición Mioceno Tardío-Plioceno (15-10 Ma) (Van Devender, 2000; Moore y Jansen, 2006). Esta última datación es congruente con los periodos de radiación adaptativa de grupos vegetales de biomas áridos tales como la familia Ruchoideae (Klak, et al., 2003) o los géneros *Phyllica* (Richardson et al., 2001) y *Ehrharta* (Verboom et al., 2003) en Sudáfrica; *Rheum* (Wang, et al., 2005) en el este de Asia, y en Norte y Sur América la familia Cactaceae (Arakaki et al., 2011; Hernandez-Hernandez et al., 2014) y los géneros *Agave* (Good-Avila et al., 2006), *Tiquilia* (Moore y Jansen, 2006) y *Prosopis* (Fig. 1; Catalano et al., 2008).

1.3 Zonas áridas en México

La mayor extensión de zonas áridas en México se ubica en el cinturón mundial de aridez, que en el país corresponde a los desiertos Sonorense y Chihuahuense (Cervantes-Ramírez, 2002). Sin embargo, también existen pequeñas zonas áridas repartidas por todo el país, producto de condiciones climáticas locales (Medrano, 2012).

La diversidad fisionómica y florística de las comunidades vegetales en las zonas áridas en México pueden considerarse como moderadas, ya que existen alrededor de 6,000 especies vegetales descritas en estas regiones (Rzedowski et al., 1993; Cervantes-Ramírez, 2002). Sin embargo, las zonas áridas concentran una parte importante de la biodiversidad mexicana así como un gran número de endemismos, y poseen un importante caudal biótico que ofrece un conjunto de recursos naturales catalogados como forestales, ofreciendo múltiples alternativas de apropiación de recursos maderables, alimenticios y forrajeros, entre otros (Valiente-Banuet, 1996; Cervantes- Ramírez, 2002).

Entre los géneros arbóreos más importantes en las zonas áridas de México destacan los mezquites, leguminosas del género *Prosopis*. Este género representa un grupo ancestral de la subfamilia Mimosoideae. El género probablemente tuvo su origen en la región tropical de África (Burkart, 1976), dada la existencia y persistencia de *P. africana*, la más basal de las especies (Raven y Pophill, 1981).

A nivel mundial, las especies del género muestran una distribución disyunta: en el viejo mundo se encuentran tres especies, las cuales habitan en el norte de África, el Cáucaso y la India. Para el continente Americano, se ha documentado la existencia de 43 especies, donde Sudamérica (34 especies) y particularmente Argentina (29 spp.; 14

endémicas) destacan como el mayor centro de diversidad del género. Por su parte, para Norteamérica se ha documentado la existencia de 10 especies, principalmente las que forman parte del llamado complejo México-Texas (Palacios, 2006). Cabe destacar que *Prosopis*, no es un grupo monofilético, dado que las especies de América muestran mayor cercanía con *Xerocladia viridiramis* (Fabaceae; subfamilia Mimosoideae) que con especies del viejo mundo como *P. africana* y *P. cineraria* (Bessega et al., 2006; Catalano et al., 2008)

1.4 Género *Prosopis*

Las especies del género *Prosopis* constituyen recursos naturales de gran importancia en las zonas áridas y semiáridas. Dada su condición de recursos con aprovechamiento multipropósito, muestran el potencial de proveer una gran variedad de productos, así como una gran capacidad para desarrollarse en suelos pobres en nutrientes (Golubov et al., 2001).

Las especies de *Prosopis* son aprovechables de diversas formas, incluyendo la explotación de madera como combustible, y el consumo de sus frutos, que son utilizados como forrajes, así como para la obtención de compuestos medicinales. Sumado a esto, se ha reportado el uso de algunas especies como estabilizadores de suelos y como protección en sistemas productivos de zonas áridas y semiáridas a lo largo de su distribución (Pasiiecznik et al., 2001).

Destaca también su importancia a nivel de ecosistema. Las especies del género *Prosopis* son aprovechadas como alimento y protección por un gran número de organismos. Por ejemplo, la diversidad de especies de aves en los mezquiales es incluso mayor que la que se encuentra en bosques de *Quercus* (Corcuera y Butterfield, 1999) y en matorrales y

pastizales (Germano y Hungerfer, 1981; Golubov et al., 2001). Por otra parte, se ha reportado la asociación de las especies de *Prosopis* con al menos 200 especies de herbívoros invertebrados (Cates y Rhodes, 1977; Wisdom, 1991) y alrededor de 150 especies de abejas solitarias (Simpson et al., 1977). Adicionalmente, las especies del género *Prosopis* funcionan como nodrizas para el establecimiento de otras plantas y forman islas de diversidad y fertilidad dado el potencial de fijar nitrógeno atmosférico (Tiedeman y Klemmedson, 1973; Steinbergh y Lowe, 1977; Fulbright et al., 1995).

Dada la gran cantidad de interacciones de las especies de *Prosopis* con otras especies animales y vegetales, los mezquites se pueden considerar especies clave desde una perspectiva ecológica en las zonas áridas y semiáridas a lo largo de su distribución (Golubov et al., 2001).

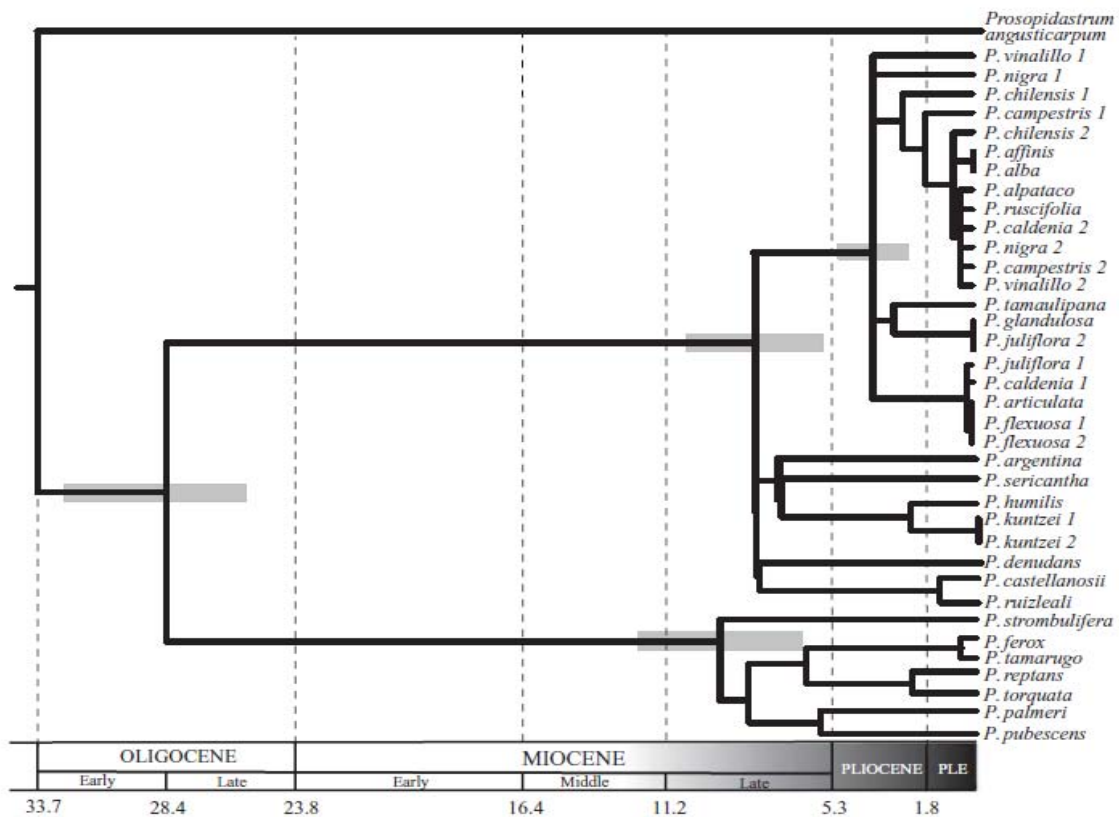


Figura. 1.- Cronograma de diversificación del género *Prosopis*. *P. laevigata* se presenta como *P. tamaulipana*. Tomado de Catalano et al. (2008).

1.5 *Prosopis laevigata*

Entre las especies del complejo norteamericano destaca *Prosopis laevigata*, el cual es el “mezquite” típico del centro de México (Burkart 1976; Rzedowski 1988) (Fig. 2; Apéndice 1). *P. laevigata* es la especie de más amplia distribución en las zonas áridas del país. Presenta una considerable variación morfológica dependiendo del tipo de hábitat en que se encuentra, ya que la especie puede encontrarse en climas semi-húmedos, selva baja o en matorrales xerófilos en altitudes cercanas a los 2500 msnm en áreas más al norte del país (Rzedowski, 1988).

La distribución geográfica de *P. laevigata* incluye las zonas áridas del centro y nororiente del país, así como zonas semiáridas del sur como los valles centrales de Oaxaca y el Valle de Tehuacán-Cuicatlán (Rzedowski, 1988; Palacios, 2006). Tal distribución se encuentra fraccionada por la Faja Volcánica Transmexicana (FVTM), cadena montañosa que divide las porciones Norte y Sur de México, y por la Sierra Madre Oriental, que divide a las poblaciones del centro-norte de aquellas de la Planicie Tamaulipeca. A pesar de las disyunciones en su distribución, no existen particularidades morfológicas asociadas a las áreas de distribución, por lo tanto se acepta que es la misma especie (Fig. 2) (Rzedowski, 1988).

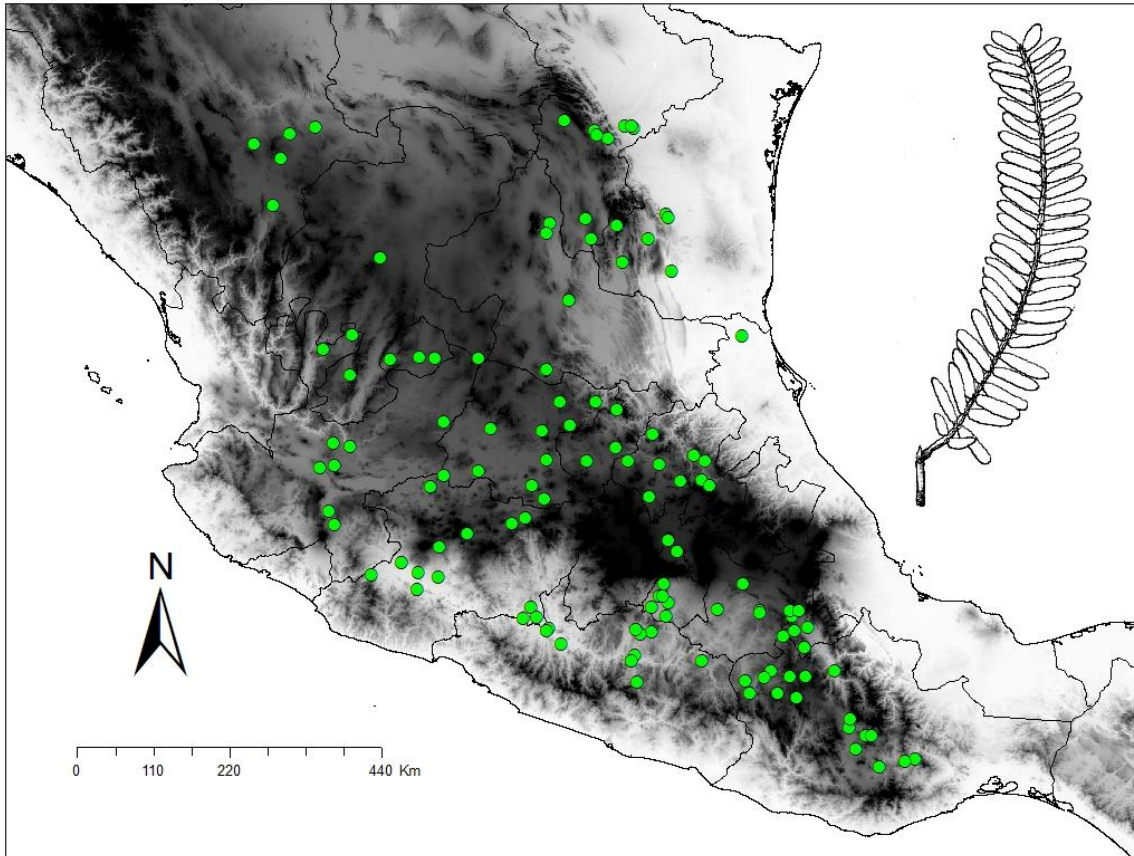


Figura 2. Distribución de *P. laevigata* en México con base en registros de los herbarios MEXU (UNAM) y del Centro Regional de Bajío (InEcol Pátzcuaro).

1.6 Descripción de *Prosopis laevigata*

Prosopis laevigata (Willd.) M. C. Johnst. es un árbol o arbusto, de hasta de 12 m de altura, tronco de 30 cm a 1 m de diámetro, corteza gruesa, de color café negruzco, fisurada, armada de espinas estipulares de 1 a 4 cm de largo; hojas pecioladas, con 1 a 3 pares de pinnas, cada una con 10 a 20 pares de folíolos sésiles, linear-oblongos, de 5 a 15 mm de largo por 1 a 2 mm de ancho, flores dispuestas en espigas densas de 5 a 10 cm de largo; flores blanco amarillentas, sésiles o casi sésiles; cáliz de 1 mm de largo, glabro o puberulento; corola de 2 a 3 mm de largo, pétalos agudos, tomentulosos en el margen y en el interior; estambres de 4 a 5 mm de largo. Fruto, legumbre linear de 7 a 20 cm de largo por 8 a 15 mm de ancho, comprimida, glabra, de color café-amarillento, a veces rojizo, algo

constreñida entre las semillas; éstas oblongas, comprimidas, de 8 a 10 mm de largo, de color blanco amarillento (Fig. 3) (Rzedowski, 2001).

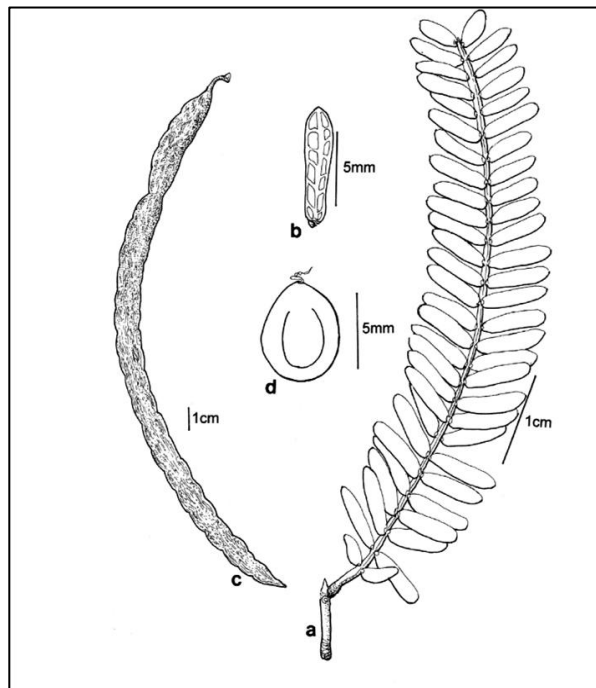


Figura. 3.- *P. laevigata*: a) pinna; b) foliolo; c) fruto; d) semilla (Tomado de Palacios, 2006)

1.7 Biología reproductiva

Varias especies del género *Prosopis* se han caracterizado como autoincompatibles (Simpson y Solbrig, 1977; Massuelli y Balboa, 1989; Genise et al., 1990). Sin embargo, Galindo-Almanza et al., (1992), en un experimento de cruzamientos autógamos en *P. laevigata*, registró porcentajes de autofecundación de entre 65 y 85%, evidenciando que la especie es parcialmente autocompatible. Su principal forma de polinización es la entomofilia, particularmente por himenópteros de los géneros *Ahsmadiella* y *Calicodoma* (Megachillidae); *Coletes* (Colletidae) así como *Apis mellifera* (Apidae) (Galindo-Almanza et al., 1992). Por otra parte, se ha reportado a la dispersión por mamíferos, (mamalocoria) e hidrocoria como las principales formas de dispersión de semillas en el género (Campos y Ojeda, 1997; Pasiecznik et al., 2001; de Noir et al., 2002).

II. ANTECEDENTES

2.1 Impacto de los cambios climáticos durante la transición Pleistoceno-Holoceno en la biota de México

Durante la transición Pleistoceno-Holoceno una gran cantidad de territorios sufrieron los efectos de la inestabilidad climática y ecológica producida por el avance y retracción de los glaciares, provocando cambios drásticos sobre las comunidades vegetales (Metcalfé et al., 2000; Metcalfé, 2006). El Cuaternario tardío trajo consigo la transición del clima glacial, con el Último Glacial Máximo (UGM) ocurrido hace entre 24 y 18 ka AP, a los climas más cálidos que caracterizan al moderno periodo interglacial, establecido hace alrededor de 10 ka (Metcalfé, 2006). En general se considera que el periodo glacial fue más seco que los interglaciares, sin embargo existen variaciones regionales a dicho patrón (Metcalfé et al., 2006). El UGM y la transición al Holoceno se han reconocido como dos de los principales factores que influenciaron la distribución, las dinámicas poblacionales y los patrones de diversidad genética actuales de las especies (Ramírez-Barahona y Eguiarte, 2013).

Durante los periodos de cambio climático en las áreas tropicales y subtropicales hubo cambios importantes en la disponibilidad de humedad, así como en los cursos y cuerpos de agua, resultando en cambios importante en la distribución de la vegetación (Metcalfé, 2006). Para los neotrópicos, los registros paleoecológicos muestran la migración de los bosques templados hacia menores latitudes y altitudes en respuesta al avance de las capas glaciares de norte a sur, así como en picos elevados (Colinvaux et al., 1996; Urrego et al., 2005; Caballero et al., 2010).

El territorio mexicano no quedó exento de los efectos de los cambios climáticos ocurridos durante este periodo. Se hipotetiza el establecimiento de una flora con mayor

afinidad a los climas fríos, mientras que las especies tropicales desaparecieron en algunas áreas de su distribución, y quedaron restringidas a zonas de refugio donde las condiciones les permitieron persistir (Luna-Vega, 2008).

Sin embargo, para México los registros fósiles de estos efectos son relativamente escasos. Los registros paleoecológicos, así como las paleomadrigueras de roedores han representado las principales fuentes de información sobre los patrones climáticos y las secuencias en los cambios de vegetación durante las glaciaciones del Pleistoceno tardío y el Holoceno temprano (Metcalfé et al., 2000; Metcalfe, 2006). Se ha reportado que el cambio en los patrones de circulación atmosférica incidió de manera directa en el norte del país. En esta región, el registro palinológico evidencia el desarrollo de bosques de coníferas en las áreas actuales del desierto Sonorense y Chihuahuense. Aunado a esto, está el registro de amplias zonas de inundación debido a el establecimiento de patrones invernales de precipitación (Metcalfé, 2006).

Por otra parte, los registros glaciales de las montañas de la FVTM muestran el mayor avance de las capas glaciales de los últimos 50,000 años durante el UGM. Esto, evidenciado por los avances hacia altitudes menores de la línea arbórea en relación a su distribución actual (Lozano-García y Vázquez-Selem, 2005). Los registros palinológicos correspondientes al UGM muestran la existencia de condiciones variables a lo largo de la FVTM donde los extremos orientales y occidentales desarrollaron condiciones de mayor humedad respecto al área central (Caballero et al., 2010). Dicha tendencia se evidencia por los registros polínicos de *Mimosa* al sur de la cuenca de Chalco (20 y 18 ka), así como por el polen de *Cupressus* y *Juniperus* en las cuencas de Pátzcuaro, Chalco, Texcoco y Lerma,

vegetación asociada a ambientes secos (Lozano-García et al., 1993; Lozano-García y Ortega-Guerrero, 1998; Lozano-García, 1996; Bradbury, 2000; Sosa-Nájera, 2001).

Por su parte, la reconstrucción paleoecológica del sur de México sugiere cambios en la distribución de las comunidades vegetales así como un acentuamiento regional en la aridez, posiblemente desde el Oligoceno (33.9 Ma) (Ramírez-Arriaga et al., 2006). Estos procesos fueron catalizados por modificaciones en altitud, ubicación y extensión como consecuencia de eventos geológicos (Beraldi-Campesi et al., 2006; Ramírez-Arriaga et al., 2006). Para el valle de Tehuacán-Cuicatlán se ha reportado un clima fue más frío y húmedo durante el periodo Pleistocénico, con el establecimiento de patrones invernales de precipitación. Esto a su vez asociado a extensos pastizales, en los cuales, especies de cactus, agaves y otras plantas desérticas no hubiesen prosperado. La transición al clima actual, se estima, ocurrió entre 7,900 y 7,800 años A.P. (McNeish et al., 1972).

2.2 Estudios filogeográficos en zonas áridas de México

El impacto de las fluctuaciones climáticas del Pleistoceno-Holoceno y los eventos geológicos recientes en los procesos microevolutivos y estructuración genética de especies de amplia distribución en las zonas áridas de México, ha sido poco estudiado (Silva-Montellano y Eguiarte, 2003; Sosa et al., 2009; Reberning et al., 2010; Cornejo-Romero et al., 2013;).

En los últimos años se han realizado esfuerzos para tratar de explicar el efecto de los ciclos glaciales en la diversidad y estructura genética principalmente de especies de afinidad templada y de bosque mesófilo (Aguirre-Planter et al., 2000; González-Rodríguez et al., 2004; Jaramillo-Correa et al., 2008; Koscinski et al., 2008; Carnaval et al., 2009;

Gutiérrez-Rodríguez et al., 2011; Hensen et al., 2011; Sánchez y Órnelas, 2014). Existen generalizaciones sobre el impacto de las fluctuaciones climáticas del Pleistoceno en la distribución de las especies arbóreas del hemisferio norte (Ramírez-Barahona y Eguiarte, 2013), para las cuales se propone que persistieron en refugios al sur de su distribución actual donde las condiciones les permitían existir (Soltis et al., 2006; Proven y Bennett, 2008). Empero, son pocas las investigaciones direccionadas a la evaluación de los efectos de las fluctuaciones climáticas en la vegetación de zonas áridas.

La mayor parte de los estudios sobre diversidad y estructura genética en plantas de zonas áridas se han llevado a cabo en los desiertos del sur de EU y el Norte de México (Nason et al., 2002; Clark-Tapia y Molina-Freaner, 2003; Sosa et al., 2009; Garrick et al., 2009; Fehlbert y Ranker, 2009; Rebernick et al., 2010). Estudios que muestran evidencia del efecto de las fluctuaciones climáticas de la transición Pleistoceno-Holoceno en la vegetación desértica. En este sentido, se han identificado eventos de contracción de las poblaciones de vegetación xerófila hacia múltiples refugios (parches de vegetación xerófila con temperaturas cálidas), donde las condiciones les permitían resistir los periodos fríos (Garrick et al., 2009; Fehlbert y Ranker, 2009). Sumado a esto, se ha observado restricción en el flujo génico, aislamiento por distancia, fragmentación alopátrica y expansiones post glaciales hacia hábitats recién formados en una fase de aridificación a gran escala durante el Holoceno (Nason et al., 2002; Clark-Tapia y Molina-Freaner, 2003; Sosa et al., 2009; Garrick et al., 2009; Fehlbert y Ranker, 2009; Rebernick et al., 2010).

Asimismo, se han realizado pocos estudios sobre la diversidad y estructura genética en especies de amplia distribución y con afinidad xerófila exclusivas a México. En relación con esto, Silva-Montellano y Eguiarte (2003) analizaron la diversidad y estructura genética

en poblaciones de *Agave lechuguilla* al norte de Mexico, y reportan su origen al norte de la distribución y una subsecuente colonización hacia el sur. Duran et al. (2005), analizaron la estructura genética de poblaciones de *Larrea tridentata* en el desierto Chihuahuense y reportan la contracción de las poblaciones hacia el sur de la distribución con una reciente recolonización hacia el norte. Por su parte, Sosa et al. (2009) realizaron un análisis filogeográfico de *Hunnemannia fummarifolia*, una planta con distribución disyunta entre el desierto Chihuahuense, la Sierra Madre Oriental y el Valle de Tehuacán-Cuicatlán, ellos reportan una alta estructuración genética entre las poblaciones de ambos lados de la FVTM catalizada por aislamiento por distancia así como eventos geológicos que generaron divergencia por alopatría. De la misma manera, observaron un patrón de contracción al sur de la distribución seguida de una recolonización hacia el norte.

Actualmente, existen pocos estudios en relación al papel de la Sierra Madre Oriental como barrera para la dispersión y el flujo génico en especies con distribución a ambos lados de la cadena montañosa. En relación a esto, Parra et al. (2014), mostraron alta conectividad genética entre poblaciones a ambos lados de la SMO. Esto contrasta con una estructura genética de moderada a alta entre poblaciones a ambos lados de la FVTM.

Por su parte, Ruiz-Sánchez y Órnelas (2013), mencionan que actualmente no existe un análisis filogeográfico para plantas que demuestre que la FVTM sea una barrera real al flujo génico entre poblaciones del sur y del norte de la misma, proponiendo que dicha cadena montañosa tiene un efecto poroso como barrera al flujo génico.

A pesar de la importancia ecológica, económica y social de las zonas áridas en México, actualmente existe poca información acerca del efecto de los procesos ambientales

históricos en las dinámicas poblacionales de especies de zonas áridas. En este sentido, el análisis de procesos microevolutivos que han moldeado los patrones de diversidad y estructura genética en especies de amplia distribución en zonas áridas como *P. laevigata* son importantes para el aporte al conocimiento de la historia reciente de las zonas áridas en México.

III.-HIPÓTESIS

La distribución actual, la estructura y diversidad genética, así como la divergencia de los linajes de *Prosopis laevigata* ha sido moldeada por las fluctuaciones climáticas de la transición Pleistoceno-Holoceno, así como por eventos geológicos recientes que generaron barreras naturales de su distribución.

IV.- OBJETIVOS

El objetivo general del presente trabajo es analizar la influencia de los cambios climáticos y geológicos en la historia evolutiva de *P. laevigata* mediante un análisis filogeográfico y de genética de poblaciones utilizando secuencias de ADNcp y microsatélites nucleares.

Objetivos particulares

- 1) Determinar la estructura filogeográfica y genética, así como los patrones históricos de flujo génico de las poblaciones de *P. laevigata* en su gradiente de distribución.
- 2) Evaluar el efecto de los procesos paleoclimáticos sobre la estructura genética y filogeográfica de *P. laevigata*.
- 3) Identificar los procesos demográficos históricos sufridos durante la estructuración filogeográfica y genética de *P. laevigata*.

V.- MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Colecta de material biológico

Se colectaron hojas de 220 individuos de *Prosopis laevigata* en 21 poblaciones cubriendo el área total de distribución de la especie. También se colectó una población en Coahuila de *P. glandulosa* (CCI), especie que se distribuye al norte de México y sur de E.U, con zonas en simpatria con *P. laevigata*. Asimismo se colectó una población de *P. juliflora* (FUE), en Sinaloa. *P. juliflora* destaca por su amplia distribución por la costa del Pacífico desde el norte de México hasta el norte de Perú (Tabla1; Anexo I). De cada población se colectaron entre 10 y 12 individuos por población. Las hojas se conservaron en hielo para su posterior almacenamiento a -70°C .

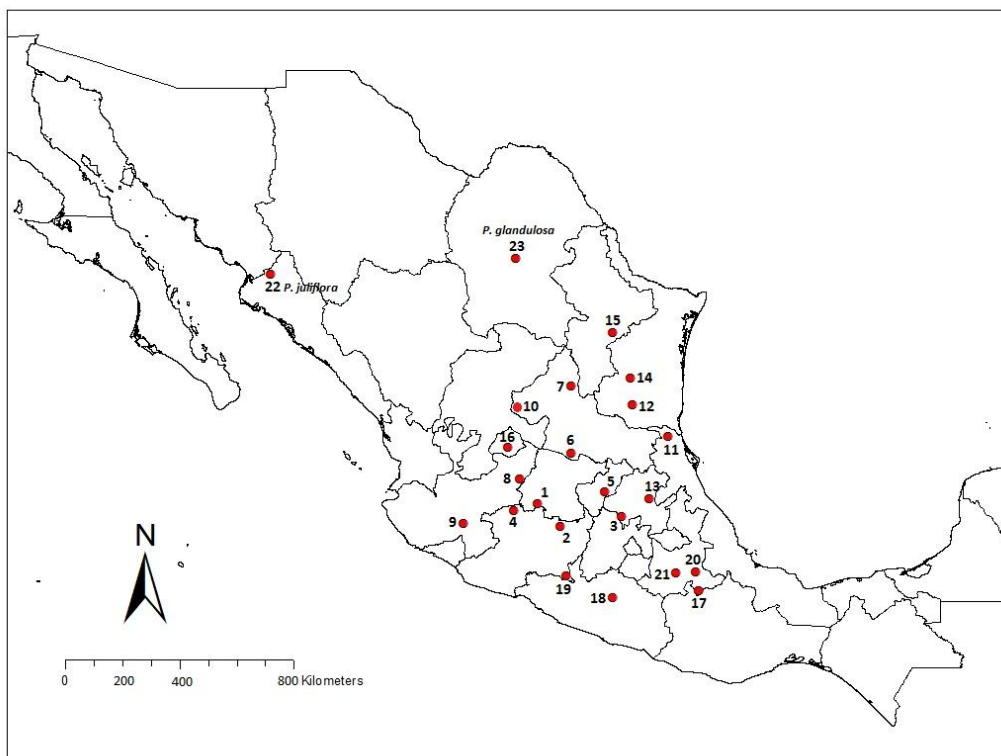


Figura 4.- Mapa de la ubicación geográfica de las poblaciones colectadas de *P. laevigata* en México.

Tabla 1. Datos geográficos de las poblaciones colectadas de *Prosopis* (*P.laevigata*, *P. juliflora* (22) y *P. glandulosa* (23)) en Mexico, para el análisis filogeográfico y de genética de poblaciones.

Población	No. Pob	Clave	Latitud	Longitud	Altitud
Novillero	1	NOV	20°24' 0.18"N	101°34'33"O	1733m
Indaparapeo	2	IND	19°48'36.77"N	100°57'23."O	2249m
Tula	3	TUL	20°04' 38.69"N	99°20'58.78"O	2293m
Angostura	4	ANG	20°13' 53.2"N	102°25'48.17"O	1693m
Cadereyta	5	CAD	20°41'54.91"N	99°47'36.06"O	1921m
Santa María	6	SRI	21°44'56.7"N	100°41'47.52"O	1852m
Matehuala	7	MAT	23°30'23.24"N	100°37'37.48"O	2168m
Salto de Gavilán	8	SAG	21°04'53.82"N	102°24'43.21"O	1902m
Gómez Farías	9	GFA	19°56'53.06"N	103°29'15.5"O	1419m
Salinas	10	SAL	22°37'54"N	101°44'22.2"O	2084m
Pánuco	11	PAN	22°09'25.62"N	98°04'39.06"O	32m
San Manuel	12	SMT	23°27'10.14"N	98°03'0.40"O	54m
Mezquititlán	13	MEZ	20°34'16.65"N	98°36'12.54"O	2280m
Victoria	14	VIC	23°44'56.32"N	99°02'29.58"O	900m
Linares	15	LIN	24°53'06.76"N	99°35'54.29"O	888m
Aguascalientes	16	AGS	21° 53' 13" N	102°24' 50.4'' O	1870m
Cerro Verde	17	CEV	18°06'10.59"N	97°20'8.50"O	1708m
Huitzamala	18	HUI	18°03'22.1"N	100°49'41.85"	1373m
Mezcala	19	MCA	17°55'41.45"N	99°35'28.25"O	515m
Chapulco	20	CHA	18°35'18.19"N	97°24 30.99"O	2075m
Tepexi	21	TEX	18°33'41.69"N	97°55'29.79"O	1778m
Fuerte	22	FUE	26°25'3.82"N	108°36'0.17"O	95m
Cuatro Ciénegas	23	CCI	26°50'8.19"N	102°8'10.5"O	741m

5.2 Análisis de laboratorio

El aislamiento del ADN genómico de las muestras conservadas a -70°C se llevó a cabo utilizando un método CTAB modificado (Otero-Arnaiz et al., 2004, 2005; Contreras-Negrete et al, 2014).

Se amplificaron seis loci polimórficos de microsatélites nucleares (Mo05, Mo07, Mo08, Mo09, Mo13 y Mo16) diseñados para *P. chilensis* y *P. flexuosa* (Tabla 2; Mottura et al., 2005). Las reacciones de PCR se llevaron a cabo utilizando Platinum Master Mix (Life Technologies). Las reacciones se llevaron a un volumen final de $10\ \mu\text{L}$, incluyendo $5\ \mu\text{L}$ de Platinum Master Mix, $0.5\ \mu\text{L}$ de cada primer ($10\ \mu\text{M}$), $2.8\ \mu\text{L}$ de agua destilada, $0.2\ \mu\text{L}$ de MgCl_2 (2mM) y $1\ \mu\text{L}$ de ADN a $20\ \text{ng}/\mu\text{L}$. Los ciclos de amplificación se llevaron a cabo de la siguiente manera: 5 minutos a 94°C como paso inicial, seguido de 35 ciclos con un paso de desnaturalización a 94°C por 90 s, alineamiento a 49°C (Mo16) y 59°C (Mo05, Mo07, Mo08, Mo09, Mo13) por 90 s y extensión a 72° por 90 s y un paso final a 72°C por 10 min. Los productos de PCR fueron mezclados con formamida y Gen Scan Liz-600 como estándar de tamaño (Applied Biosystems). Las muestras se desnaturalizaron a 95° por 2 min para su posterior análisis en un secuenciador ABI-PRISM 3100-Avant (Applied Biosystems). Los fragmentos obtenidos fueron analizados y registrados utilizando el programa PeakScanner (Applied Biosystems).

Para los análisis filogeográficos se probaron siete microsatélites universales de cloroplasto (Weising and Gardner, 2000), así como la región intergénica de cloroplasto trnS/trnT sin obtener variación con dichos marcadores. Finalmente se realizó la amplificación de la región *psbA3'*/*trnH* (Shaw et al., 2005), la cual mostró polimorfismo

de manera satisfactoria. La amplificación de la secuencia *psbA3'/trnH* se llevó a cabo utilizando Master Mix (Promega). Las reacciones se llevaron a un volumen final de 25 μ L incluyendo 12.5 μ L Master Mix, 0.8 μ L de cada primer (10 μ M), 6 μ L de agua destilada, 1.5 μ L de BSA (albúmina de suero bovino), 1 μ L de MgCl₂ (2mM) y 2.4 μ L de ADN a 20 ng/ μ L. El protocolo de amplificación por PCR se llevó a cabo de la siguiente manera: 5 minutos a 94°C como paso inicial, seguido de 35 ciclos con un paso de desnaturalización a 94° C por 90 s, alineamiento a 59° C por 90 s y extensión a 72° por 90 s y un paso final a 72°C por 10 min. Los productos de PCR fueron purificados utilizando columnas QIAquick (Qiagen, Valencia, CA, USA) siguiendo las indicaciones del fabricante. Los productos purificados se enviaron para su secuenciación en MACROGEN USA (www.macrogenusa.com).

Tabla 2.- Loci de microsatélites diseñados para *P. chilensis* y *P. flexuosa* (Mottura et al., 2005) utilizados en el presente estudio.

Locus	Secuencia	Motivo de repetición	Ta (°C)	Tamaño (pb)	N _a	H _o	H _e	HWE
Mo05	F:AATTCTGCAGTCTCTTCGCC R:GATCCCTCGTGACTCCTCAG	(CT)3T(CT)2	64	214–218	3	0.2	0.54	< 0.001
Mo07	F:GAAGCTCCCTCACATTTTGC R:CTATTTGCGCAACACACAGC	(GC)8	59	189–213	5	0.58	0.46	NS
Mo08	F:TATCCTAAACGCCGGGCTAC R:TCCCATTCATGCATACTTAAACC	(AC)9	59	208–222	6	0.5	0.5	NS
Mo09	F:ATTCCTCCCTCACATTTTGC R:CATTATGCCAGCCTTTGTG	(TG)17	59	209–211	2	0.15	0.14	NS
Mo13	F:TTGATTAGAGTTGCATGTGGATG R:TGCAGTCCCAAGTGCAGAG	(GT)10 CT(GT)2	58	218–246	6	0.9	0.68	0.046
Mo16	F:CATTGCCCCAATATCACTCC R:GGGTCCATCCAGAGTAGTGG	(CA)12	60	149–163	5	0.82	0.73	NS

Ta= Temperatura de alineamiento; Na= Numero de alelos por locus; Ho=Heterocigosidad observada; He= Heterocigosidad esperada; HWE= Equilibrio Hardy-Weinberg

5.3 Análisis de genética de poblaciones

Se evaluaron los parámetros de diversidad genética tales como la heterocigocidad observada (H_o), el número promedio de alelos por locus (A), el número de alelos privados (AP) y el número efectivo de alelos por locus (N_{Ae}) utilizando el programa Arlequin ver 3.5.1.2 (Schneider et al., 2000). Asimismo, se evaluó la riqueza alélica rarefaccionada (AR) y la heterocigocidad corregida por el tamaño de muestra (Nei, 1978) mediante SPAGedi (Hardy y Vekemans, 2002), con 20,000 permutaciones. Se realizaron análisis de correlación entre los parámetros de diversidad y las variables geográficas (Latitud, Longitud y Altitud) de las poblaciones utilizando el paquete estadístico JMP (www.jmp.com).

Con el objetivo de evaluar la presencia de alelos nulos en la muestra se utilizó el programa MICROCHECKER (Van Oosterhout et al. 2004), ajustando la base de datos en función de los resultados de dicho análisis. En un análisis adicional, se utilizó el programa FreeNA (Chapuis y Estoup, 2006), el cual estima la frecuencia de alelos nulos para cada loci y población con base en el algoritmo de Expectation Maximization (EM) (Dempster et al., 1977; Chapuis y Estoup, 2007). De la misma manera, el programa FreeNA evalúa la diferenciación poblacional (F_{ST}) siguiendo el método ENA descrito en Chapuis y Estoup (2007).

Las inferencias de los niveles de endogamia se llevaron a cabo mediante el enfoque bayesiano IIM (*Individual Inbreeding Model*) implementado en el software INest 2.0 (Chybicki y Burczyk, 2009), el cual permite el cálculo no sesgado del coeficiente de endogamia (F_{IS}) para datos multilocus en presencia de alelos nulos. Dicho análisis evalúa el

efecto de los alelos nulos (n), la endogamia (f) y los errores de genotipaje (b), en los valores de homocigosidad implementando el modelo completo (nfb) y su comparación con modelos alternativos (nf , nb , fb) mediante el Criterio de Desviación de la Información (DIC) entre los diferentes modelos. Sumado a esto, se evaluaron los valores de endogamia local (F_{IS} , R_{IS}) y global (F_{IT} , R_{IT}), asumiendo el modelo de alelos infinitos (IAM) y el modelo de mutación por pasos (SMM), mediante el software SPAGeDI, con 20,000 permutaciones.

5.4 Estructura genética

Para evaluar la partición de la diversidad genética dentro y entre poblaciones, se realizó un Análisis de Varianza Molecular (AMOVA) con el programa GenAlex 6 (Peakall y Smouse, 2006), el cual se basa en la construcción de una matriz de distancias genéticas a partir de distancias geométricas y realiza con éstas un análisis de varianza ajustado a datos moleculares, en donde no se asume una distribución normal (Excoffier et al., 1992). Al final se obtiene la proporción de varianza debido a diferencias entre individuos de una población, es decir, el porcentaje de diversidad contenida dentro de las poblaciones y la proporción de la varianza debida a diferencias entre poblaciones. En un primer análisis de AMOVA se utilizó el parámetro de estructura F_{ST} y en un segundo análisis se utilizó R_{ST} (dado el modelo mutacional por pasos que siguen los microsatélites).

Por otra parte se realizó una prueba de Mantel (Mantel, 1967), para evaluar la posible relación entre las distancias genéticas (valores de F_{ST} pareados obtenidas mediante FreeNA) y las distancias geográficas, mediante el programa GenAlex 6 (Peakall y Smouse, 2006).

Se analizó la estructura genética de las poblaciones con el programa STRUCTURE 2.3.3 (Pritchard et al., 2000), el cual, mediante un algoritmo basado en un modelo Bayesiano, identifica grupos de individuos relacionados a partir de genotipos multi loci. En este análisis cada individuo es asignado por probabilidad a un grupo genético para identificar el número óptimo de grupos. El número óptimo de grupos (K) fue determinado probando valores de K de 1 a 10 con 20 iteraciones para cada valor, con el objetivo de determinar el máximo valor de la probabilidad posterior [$\ln P(D)$] (Evanno et al., 2005). Cada corrida fue realizada usando 50^3 iteraciones como *burn-in* y 50^4 repeticiones de la cadena de Markov (MCMC) después del *burn-in*. Se utilizaron los parámetros por defecto establecidos en el programa, así como la opción de posible mezcla entre individuos de las poblaciones (admixture). La determinación de la K más probable se ejecutó usando el valor máximo de ΔK de acuerdo a Evanno et al. (2005).

5.5 Análisis de secuencias del ADNcp

Los electrofenogramas obtenidos fueron analizados y editados utilizando Bioedit (Hall, 1999). Las secuencias editadas fueron alineadas manualmente utilizando MEGA 6 (Tamura et al., 2007). Los análisis de variación genética se llevaron a cabo únicamente tomando en cuenta las sustituciones nucleotídicas, mientras que en los análisis a nivel de haplotipos se tomaron en cuenta las sustituciones nucleotídicas y los *indels*. Se estimó la diversidad genética calculando la diversidad nucleotídica (π), la diversidad haplotípica (H_d) y la proporción de sitios segregantes (θ) (Nei, 1987) mediante el software DNAsp v5.0 (Librado y Rozas, 2009), por población y para el conjunto total de poblaciones. Por otra parte se evaluaron los parámetros de diversidad h_s y h_t para alelos no ordenados (Pons y Petit, 1996), mediante el software SPAGeDI (Hardy y Vekemans, 2002).

5.6 Análisis de haplotipos

Se construyó una red de parsimonia estadística con el software TCS (Clement et al., 2000) que utiliza el algoritmo de parsimonia de Templeton (1992). Para la obtención de la red de parsimonia estadística se permitió un límite de conexión de 95%, tomando los gaps como 5^{to} estado.

5.7 Diferenciación poblacional

Con el objetivo de evaluar la partición de la diversidad haplotípica dentro y entre poblaciones, así como la estructura genética (F_{ST}), se realizó un AMOVA mediante Arlequin 3.5.1.3 (Excoffier y Lischer, 2010). Con el objetivo de determinar la significancia de la prueba, el análisis se llevó a cabo con 10,000 permutaciones.

Sumado a esto, se realizó un análisis espacial de varianza molecular (SAMOVA), implementado en el programa SAMOVA (Dunpaloup et al., 2002), con el objetivo de inferir potenciales agrupaciones de localidades sin establecer *a priori* los grupos de poblaciones para determinar la estructura genética. Este análisis intenta delimitar grupos de localidades geográficamente contiguas y genéticamente diferenciadas maximizando la proporción de la varianza genética dadas las diferencias genéticas entre grupos de localidades (F_{ct}). El resultado presenta la agrupación que muestra la maximización del estimador F_{ct} . Dicho análisis se repite utilizando distintos valores de K , eligiendo aquel que maximice el valor de F_{ct} . Para la presente investigación se evaluaron los valores K de 1 a 10, con el objetivo de encontrar el mayor valor de F_{ct} .

5.8 Estructura filogeográfica

Mediante el software SPAGeDI (Hardy y Vekemans, 2002), se evaluaron los valores de diversidad haplotípica para alelos no ordenados: h_t (diversidad haplotípica total) y h_s (diversidad haplotípica promedio por población) (Pons y Petit, 1996), así como los valores de diversidad haplotípica (H_d). Además, se evaluaron los valores de estructura genética G_{ST} y N_{ST} . El estimador N_{ST} se basa en la distancia genética entre los haplotipos, mientras G_{ST} considera únicamente la frecuencia de los haplotipos para establecer la estructura genética. Dado esto, valores mayores y significativos de N_{ST} respecto a G_{ST} sugieren que las diferencias entre haplotipos dentro de las poblaciones son menores a lo esperado por azar, evidenciando estructura filogeográfica. Dicho análisis se llevó a cabo con 20,000 permutaciones para determinar la significancia de las diferencias entre los estimadores.

5.9 Demografía histórica

Mediante el software DNAsp v5.0, se calculó la D de Tajima y la F_s de Fu con 10000 permutaciones. La prueba de neutralidad de Tajima se basa en la comparación entre los sitios segregantes (θ_w) y el número promedio de diferencias entre haplotipos (π). Tales parámetros, bajo la hipótesis de neutralidad y estabilidad demográfica no mostrarían diferencias. Sin embargo, estos parámetros son sensibles al efecto de escenarios selectivos o bien, a cambios demográficos de las poblaciones (Hedrick, 2011). La significancia de la prueba se obtiene al someterse a un análisis estadístico para evaluar si los valores de D se ajustan al modelo neutral o son influenciados por escenarios selectivos o demográficos (Tajima, 1989). Para el caso de la F_s de Fu, se evalúa la probabilidad de observar una muestra aleatoria neutral con un número similar o menor a la muestra observada, dado el

número de diferencias pareadas observadas. La significancia de la prueba F_s se evalúa mediante simulaciones coalescentes bajo la hipótesis de neutralidad y equilibrio demográfico. Ambas pruebas de neutralidad muestran sensibilidad a cambios demográficos en las poblaciones, siendo ampliamente utilizadas para la inferencia de expansiones poblacionales y cuellos de botella. La prueba D de Tajima, al tomar valores cercanos a cero indica equilibrio demográfico de las poblaciones, mientras valores significativos distintos a cero indican cambios demográficos como expansiones (valores negativos) y cuellos de botella (valores positivos). Por su parte, valores negativos elevados de la F_s de Fu evidencian expansiones poblacionales (Excoffier et al., 2007).

5.10 Distribuciones *mismatch*

Adicionalmente, con el objetivo de evaluar cambios demográficos en las poblaciones, se evaluó la frecuencia relativa del número de diferencias nucleotídicas entre todos los pares de individuos en la muestra. A la distribución de dichas frecuencias se le conoce como distribución *mismatch* (Rogers, 1995). Dicho análisis se llevó a cabo mediante Arlequín 3.5.1.3 (Excoffier y Lischer, 2010), poniendo a prueba la hipótesis de expansión demográfica. La validación de la expansión se probó mediante la comparación de la suma de cuadrados (SSD) entre la distribución observada y la esperada bajo expansión poblacional. Las distribuciones *mismatch* que presentan distribuciones multimodales son propias de poblaciones en equilibrio demográfico mientras que distribuciones unimodales evidencian que la población ha experimentado una reciente expansión demográfica (Rogers y Harpending, 1992; Excoffier et al., 2007)

5.11 Bayesian Skyline Plot

Como análisis demográfico adicional se realizó un *Bayesian Skyline Plot* (BSP, Drumond et al., 2005), el cual fue realizado mediante BEAST 1.8.1, implementado en línea (www.phylo.org/portal2/tools.action), con el objetivo de describir la historia demográfica por medio de la evaluación de la variación del tamaño efectivo poblacional a través del tiempo. Dicho método convierte la tasa de eventos coalescentes de secuencias homólogas en un diagrama que grafica el tamaño efectivo poblacional a través del tiempo (Pybus et al., 2000).

Se realizaron 2 corridas independientes de 40 millones de generaciones utilizando el modelo de sustitución F81 (HKY), con base en frecuencias empíricas, un modelo de reloj log-normal relajado y un árbol bayesiano *Skyline* de tamaño constante con 10 grupos iniciales. Los árboles y parámetros fueron muestreados cada 4000 iteraciones con un Burn-in de 10%. El eje temporal fue ajustado utilizando las tasas de $1.0-3.0 \times 10^{-9}$ sustituciones por sitio por año (s/s/año), reportados para cloroplasto en la mayoría de las angiospermas (Wolf et al., 1987; Gutiérrez-Rodríguez et al., 2011; Ruiz-Sánchez y Órnelas, 2014). Los resultados de cada corrida fueron analizados con el programa TRACER ver. 1.5 para asegurar valores de *Effective Sample Sizes* (ESS) >200 . El análisis BSP fue realizado incluyendo a las poblaciones de FUE (*P. juliflora*) en Sinaloa y CCI (*P. glandulosa*) en Coahuila, debido a que compartieron el haplotipo más común encontrado en *P. laevigata*.

5.12 Estimación de tiempos de divergencia

Con el objetivo de relacionar la diferenciación genética entre los haplotipos de *P. laevigata* con eventos climáticos recientes y su efecto en la historia evolutiva de la especie, se estimó

el tiempo de divergencia mediante un enfoque bayesiano implementado en el software BEAST 1.8.8 (Drummond y Rambaut, 2007). Se estimó el tiempo de divergencia de las secuencias de los 18 haplotipos de *psbA3'/trnH* encontrados en las poblaciones de *P. laevigata* en México. Se utilizó el modelo de evolución de las secuencias GTR+I+G con base en los resultados del modelo de selección AIC mediante JModeltest (Posada, 2008).

Dada la naturaleza intraespecífica de los datos, el análisis se realizó utilizando el modelo de reloj log-normal relajado y un modelo coalescente asumiendo un tamaño constante para modelar el prior del árbol. Se utilizó un punto de calibración secundario, reportado para la divergencia entre *P. laevigata*, *P. glandulosa* y *P. juliflora* y *P. chilensis* (3.65 MA) (Catalano et al., 2008), utilizando una secuencia de *psbA3'/trnH* de *P. chilensis* como grupo externo. Para la estimación de la divergencia se realizaron dos corridas independientes de 10 millones de generaciones de la cadena de Markov (MCMC), muestreando cada 1000 generaciones.

Los resultados fueron visualizados mediante el software TRACER 1.5 (Rambaut y Drummond, 2009), para evaluar la estabilidad de los valores de los parámetros (ESS). En relación a tales resultados, se descartaron los primeros 5000 árboles como *burn-in* y los restantes se resumieron como clado de máxima credibilidad con promedio de los tiempos de divergencia y 95% HPD (*High Posterior Density*), de los intervalos de tiempo estimado en TreeAnnotator. Los resultados fueron resumidos en un único árbol visualizado en FigTree 1.3.1 (Rambaut y Drummond, 2010).

VI.- RESULTADOS

De acuerdo con el programa MICROCHECKER (Van Oosterhout et al., 2004) todos los loci mostraron presencia de alelos nulos a nivel global, variando de 0.0903 (Mo07) a 0.29 (Mo13). Por su parte, los resultados del análisis realizado mediante el programa FreeNa, utilizando el algoritmo EM, mostraron una proporción de alelos nulos en las poblaciones para cada loci de 0 a 0.35.

6.1 Diversidad genética

Se observaron un total de 100 alelos en los seis loci de microsatélites analizados, con un número total de alelos por locus entre nueve (Mo05) y 27 (Mo16) y un promedio de alelos por locus por población de $A = 4.34$ (Tabla 3). La heterocigocidad esperada (H_e) promedio fue $H_e = 0.537$ variando entre $H_e = 0.195$ (HUI) y $H_e = 0.680$ (LIN). Por su parte, la heterocigocidad observada (H_o) promedio fue de $H_o = 0.393$, variando entre $H_o = 0.148$ (HUI) y $H_o = 0.558$ (SAL). El porcentaje de loci polimórficos fue 100% en la mayoría de las poblaciones a excepción de las poblaciones AGS, ANG, GFA ($P = 83.33$) y HUI ($P = 33.33$). (Tabla 3).

Se observaron correlaciones positivas y significativas entre el promedio del número efectivo de alelos (N_{Ae}) y la latitud de las poblaciones ($R^2 = 0.23$; $P = 0.021$), así como entre la heterocigocidad esperada (H_e) y la latitud ($R^2 = 0.18$; $P = 0.044$) (Fig. 5).

Los valores promedio de endogamia local y global fueron $F_{IS} = 0.31$ ($P < 0.001$), y $F_{IT} = 0.416$ ($P < 0.001$). Para F_{IT} , todos los loci mostraron valores significativos ($P < 0.001$). Para F_{IS} únicamente el locus Mo07 no fue significativo para las poblaciones de NOV, HUI y CCI

(*P. glandulosa*). Por otra parte, al evaluar los valores de endogamia local y global mediante los estimadores R_{IT} y R_{IS} se observaron valores promedio de $R_{IT}=0.421$ ($P<0.001$) y $R_{IS}=0.209$ ($P<0.001$) donde los loci Mo08, Mo09, Mo13 y Mo16 mostraron valores significativos ($P<0.001$) para R_{IT} y Mo09 y Mo13 para R_{IS} ($P<0.001$). Ambos estimadores pusieron de manifiesto altas tasas de endogamia local y global (Tabla 4).

Tabla 3-.Parámetros de diversidad genética en seis loci de microsatélites para 21 poblaciones de *P. laevigata* así como una población de *P.glandulosa* (CCI) y una población de *P. juliflora* (FUE) en México.

Población	%P	N	Na	Ne	AR	Ho	He	F
1 NOV	100.00%	10.33	4.33	2.87	1.6	0.481	0.598	0.205
2 IND	100.00%	11.66	5.33	2.93	1.59	0.427	0.589	0.285*
3 TUL	100.00%	9.66	4.83	2.78	1.61	0.449	0.612	0.277*
4 ANG	83.33%	11.5	4	2.47	1.46	0.230	0.462	0.515*
5 CAD	100.00%	10.5	4.33	3.19	1.61	0.430	0.612	0.310*
6 SMR	100.00%	9.5	4	2.55	1.52	0.436	0.515	0.167
7 MAT	100.00%	10.83	5.5	4.51	1.66	0.450	0.659	0.328*
8 SAG	100.00%	10.5	3.83	2.44	1.47	0.334	0.468	0.297*
9 GOF	83.33%	8.5	2.66	1.59	1.32	0.267	0.319	0.172
10 SAL	100.00%	11.33	5.16	3.66	1.67	0.420	0.669	0.385*
11 PAN	100.00%	11.33	4.83	3.61	1.64	0.559	0.639	0.132
12 SMT	100.00%	10.83	5.83	3.7	1.65	0.495	0.65	0.247*
13 MEZ	100.00%	11	3.33	2.19	1.48	0.318	0.476	0.344*
14 VIC	100.00%	9.5	5.5	3.43	1.66	0.518	0.66	0.226
15 LIN	100.00%	11.83	6	4.6	1.71	0.551	0.71	0.233*
16 AGS	83.33%	6.66	3.83	3.61	1.55	0.317	0.547	0.441*
17 CVE	100.00%	9.66	4.83	3.25	1.60	0.386	0.596	0.367*
18 HUI	33.33%	8	2.33	2.01	1.21	0.148	0.207	0.297
19 MZC	100.00%	9.16	3.5	2.32	1.54	0.372	0.544	0.330*
20 CHA	100.00%	6.33	4.33	3.62	1.63	0.444	0.63	0.319*
21 TEX	100.00%	6.5	2.83	2.46	1.54	0.235	0.543	0.602*
22 FUE	100.00%	7	4.66	5.17	1.78	0.214	0.778	0.748*
23 CCI	100.00%	9.16	4.16	3.69	1.7	0.589	0.703	0.224
Promedio	94.44%	9.62±0.203	4.34±0.176	2.72±0.118	1.57±0.12	0.394±0.021	0.573±0.127	0.323±0.143

%P= Porcentaje de loci polimórficos; N=tamaño de muestra promedio; Na= Promedio del número de alelos por locus; Ne= Promedio del número efectivo de alelos; AR= riqueza alélica (por técnica de rarefacción); Ho= heterocigosidad observada; He= heterocigosidad esperada (corregida por número de muestra) (Nei, 1978); ± Desv. Est.; F= índice de fijación, *valores significativos ($P<0.001$).

Al evaluar el efecto de los alelos nulos y la endogamia en los valores de homocigosidad mediante el programa INest evaluando los modelos nfb y fb, se observó que los alelos nulos contribuyen de manera significativa en los altos valores de homocigosidad (nfb: DIC=8214.56; fb: DIC=8286.39). Cabe destacar que la estimación de endogamia corregida ($F_{IS}=0.177$) muestra valores de fijación menores a la estimada de la manera clásica ($F_{IS}= 1-Ho/He = 0.310$), evidenciando el sesgo producido por los alelos nulos en los valores de homocigosidad, como lo demuestran los altos valores de endogamia local en todas las poblaciones (Tabla 3). La presencia de alelos nulos se ha reportado en una gran variedad de taxas, algunas mostrando valores en alta frecuencia (Chapuis y Stoup, 2007). Entre dichos taxas destacan insectos, moluscos, humanos e incluso arboles (Chapuis y Stoup, 2007; Chybicky y Burczy, 2008). Cabe destacar el incremento de la incidencia de alelos nulos al utilizar marcadores transferibles así como su relación con especies que presentan números poblacionales efectivos altos (Chapuis y Stoup, 2007).

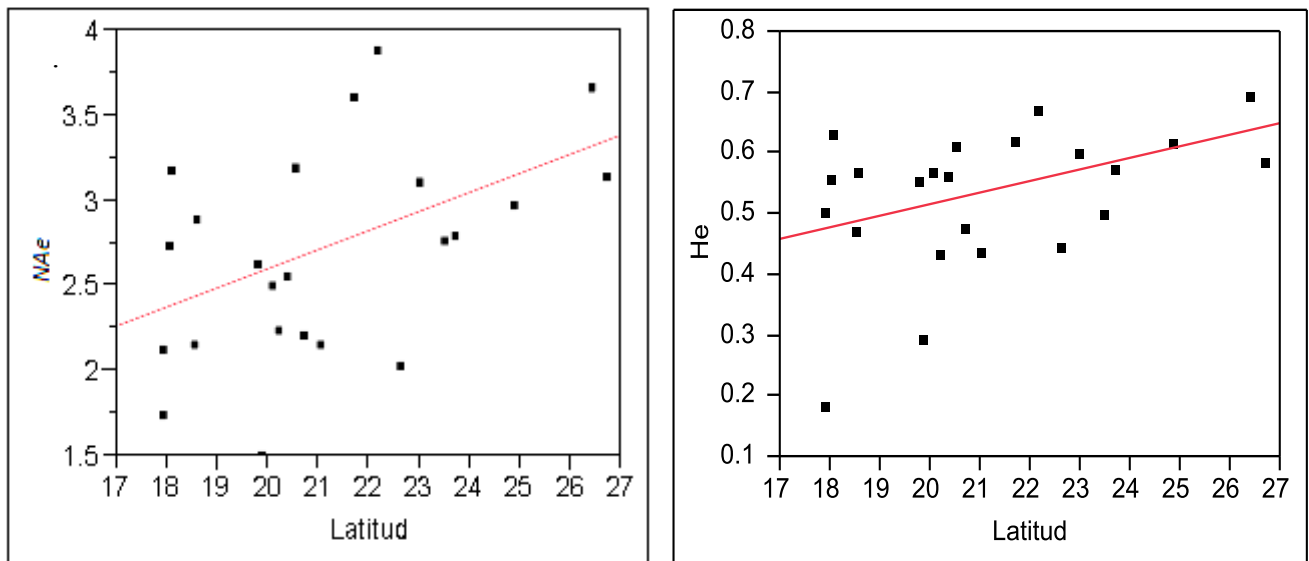


Figura 5.- Análisis de regresión entre valores de diversidad genética y latitud en poblaciones de *P. laevigata* en México. Ne=número efectivo de alelos por locus; He=heterocigosidad esperada. Ne vs Latitud ($R^2=0.23$; $p=0.0206$); He vs Latitud ($R^2=0.18$; $p=0.044$).

6.2 Estructura Genética

Los valores globales de F_{ST} fueron moderados, con $F_{ST}=0.154$ y 0.151 antes y después de la corrección por alelos nulos. Por su parte el valor para el estimador R_{ST} fue mayor al resultado de F_{ST} ($R_{ST}=0.268$, $P<0.001$) (Tabla 4). Estudios teóricos (Hedrick, 1995), han demostrado que la estructura genética se evalúa de manera más exacta al utilizar el modelo de mutación por pasos (SMM) para datos de marcadores tipo microsatélite. Asimismo, se ha demostrado que el modelo de alelos infinitos (IAM) puede subestimar la diferenciación entre las poblaciones cuando se emplean dichos marcadores (Hedrick, 1995).

Tabla 4. Índices de fijación local y global y patrones de estructura genética para los estimadores F_{ST} y R_{ST} en seis loci de microsatélites utilizados para *P. laevigata* en México

Locus	F_{IT}	F_{IS}	F_{ST}	R_{IT}	R_{IS}	R_{ST}
Mo05	0.350*	0.320*	0.043	0.222	0.050	0.181*
Mo07	0.230*	0.105	0.140*	0.066	-0.039	0.101*
Mo08	0.369*	0.167*	0.243*	0.351*	0.041	0.323*
Mo09	0.418*	0.335*	0.124*	0.484*	0.364*	0.189*
Mo13	0.640*	0.584*	0.134*	0.616*	0.540*	0.164*
Mo16	0.458*	0.338*	0.182*	0.466*	0.171	0.355*
Total	0.416*	0.310*	0.154*	0.421*	0.209*	0.268*

*valores significativos ($P<0.001$)

6.3 Diferenciación genética entre poblaciones

Para evaluar la partición de la diversidad dentro y entre poblaciones se realizaron análisis AMOVA para los estimadores F_{ST} y R_{ST} . Para F_{ST} se observó una estructura genética moderada ($F_{ST}=0.169$; $P<0.001$), representando que el 17% de la diversidad genética total se encuentra entre poblaciones, mientras el 83% se encuentra dentro de las poblaciones. Para R_{ST} , se observó una estructura genética de $R_{ST}=0.251$ ($P<0.001$), representando que el 25% de la diversidad genética total se encuentra entre poblaciones, mientras que el 75% se encuentra dentro de las poblaciones (Tabla 5). Sumado a esto, al evaluar el aislamiento por

distancia mediante la prueba de Mantel entre las distancias geográficas y F_{ST} pareadas no se encontró una relación significativa entre ambas variables ($r^2 = 0.0041$, $p = 0.257$), evidenciando el nulo asilamiento por distancia.

Tabla 5.- Análisis de varianza molecular para los estimadores F_{ST} y R_{ST} . Se muestran las proporciones de diversidad genética dentro y entre poblaciones

Estimador	Fuente	g. l.	SC	MC	Var. Est.	%
<i>F_{ST}</i>						
	<i>Entre Poblaciones</i>	22	211.224	9.601	0.365	17%
	<i>Dentro de Poblaciones</i>	469	844.056	1.800	1.800	83%
	<i>Total</i>	491	1055.280		2.165	100%
<i>R_{ST}</i>						
	<i>Entre Poblaciones</i>	22	2632440.535	119656.388	4912.160	25%
	<i>Dentro de Poblaciones</i>	469	6873990.425	14656.696	14656.696	75%
	<i>Total</i>	491	9506430.959		19568.856	100%

* $F_{ST}=0.169$ $P<0.001$; $R_{ST}=0.251$ $P<0.001$

6.4 Patrones de estructura genética

El estadístico ΔK mostró a $K=2$ como el valor óptimo para el número de grupos genéticos en la serie de datos (Fig. 6). Sin embargo, $K=3$ provee información gráfica adicional acerca de la subestructura dentro de los dos grupos principales (Fig. 7a), probablemente, reflejando de una manera más detallada los patrones de pertenencia a los distintos grupos genéticos. Las figuras 7a y 8 muestran la proporción de ancestría de los individuos y poblaciones en estos tres distintos grupos genéticos, representados por los colores rojo, verde y azul. El grupo genético representado con rojo muestra mayor proporción en las poblaciones del Norte y Nororiente, mientras que el grupo verde es predominante en las poblaciones del Occidente, y el grupo azul muestra mayor proporción en las poblaciones de la Depresión del Balsas. Por otra parte, las poblaciones del centro y centro sur muestran

proporciones similares de los tres diferentes grupos genéticos (Fig. 8). Este análisis muestra a las poblaciones de la Depresión del Balsas (con una alta proporción del grupo azul) como las más divergentes o diferenciadas. Al repetir el análisis excluyendo a las poblaciones del Balsas (MCA y HUI) es posible identificar diferenciación entre las poblaciones de *P. laevigata* y la población de *P. juliflora* (FUE), sin embargo la población de *P. glandulosa* (CCI) muestra similitud con las poblaciones del Nororiente de *P. laevigata* (Fig. 7B).

En un análisis adicional se excluyeron a las poblaciones de FUE (*P. juliflora*) y CIE (*P. glandulosa*), además de las poblaciones del Balsas (MZC y HUI), incluyendo únicamente a las poblaciones de *P. laevigata*. Dicho análisis arrojó a $K=3$ como el número de grupos más probable (Fig. 7C), sin embargo muestra patrones de pertenencia a los tres grupos genéticos en proporciones semejantes en todas las poblaciones, no existiendo estructuración geográfica de los grupos genéticos.

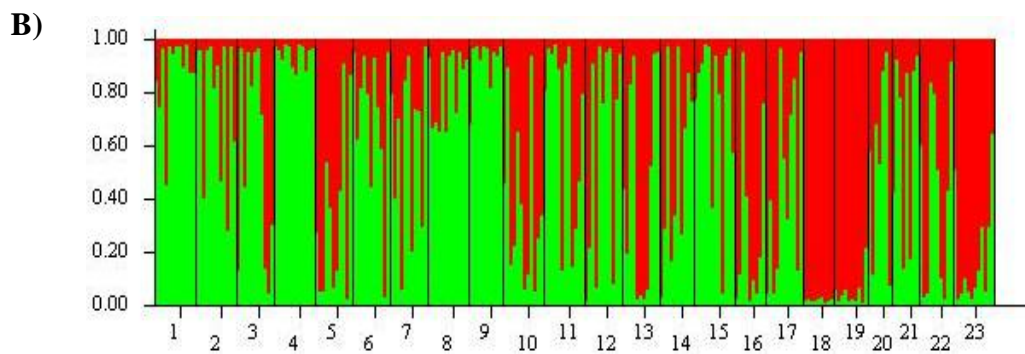
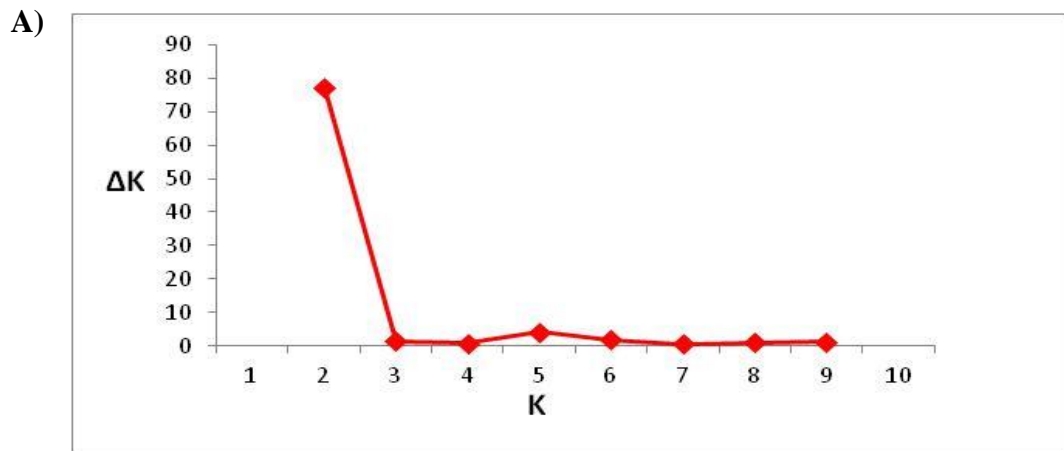
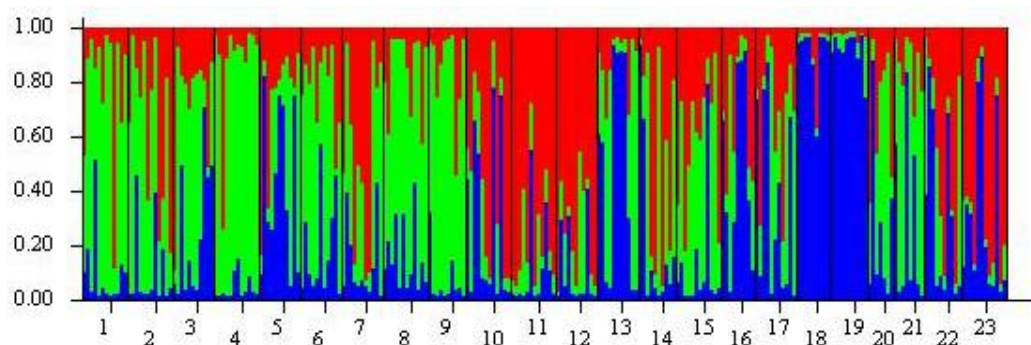
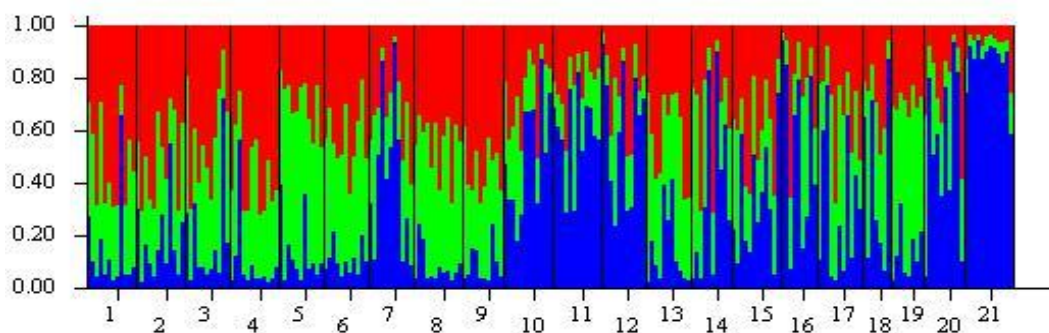


Figura 6. A) Número de grupos genéticos (K) obtenidos mediante el análisis de asignación bayesiana implementado en STRUCTURE. El ΔK fue calculado mediante el método de Evanno et al. (2005). B) patrones de pertenencia obtenidos para $K=2$. Cada individuo es representado por una línea vertical con K fracciones pertenecientes a los distintos grupos genéticos. Las líneas negras indican la separación de las poblaciones.

A)



B)



C)

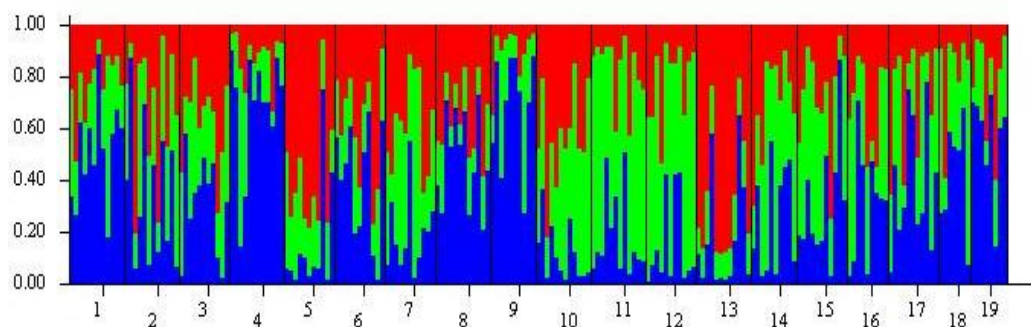


Figura 7.- A) Agrupamiento genético obtenido para K=3. B) Agrupamiento genético obtenido para K=3 excluyendo las poblaciones del Balsas. C) Agrupamiento genéticos obtenido para K=3 con 19 poblaciones, excluyendo las poblaciones del Balsas, FUE y CCI.

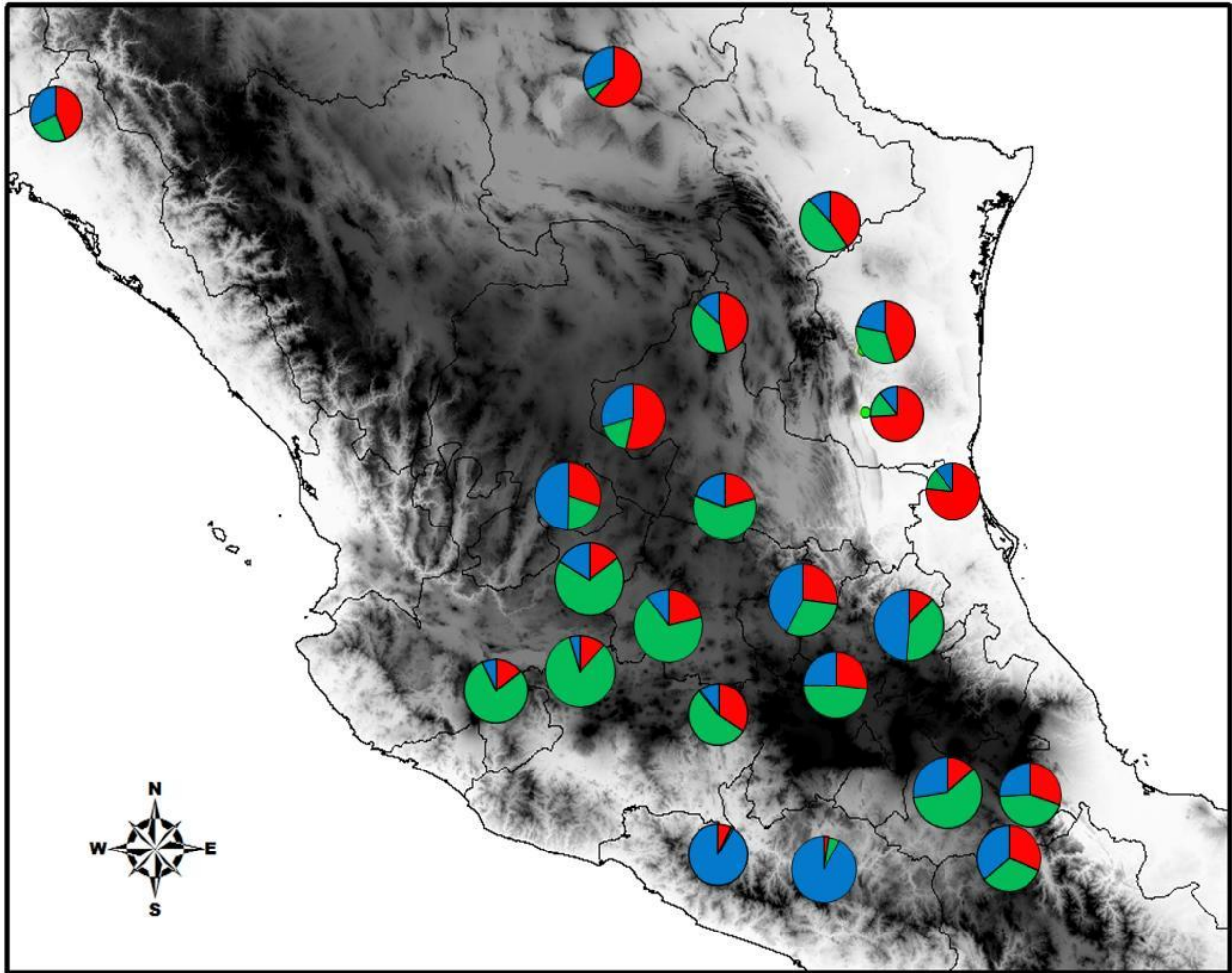


Figura 8.- Proporciones de los tres grupos genéticos en cada una de las poblaciones analizadas.

6.5 ADN de cloroplasto y red de haplotipos

Se amplificó la región espaciadora intergénica de cloroplasto *psbA3'/trnH* de 427 pb en 119 individuos de 21 poblaciones de *Prosopis laevigata* cubriendo el área total de su distribución. Se analizaron entre tres y nueve individuos por población (Tabla 6). Se encontraron un total de 18 haplotipos en los 119 individuos analizados, con un total de 13 sitios segregantes y 4 *indels*.

La red de parsimonia estadística de 119 secuencias de *Prosopis laevigata*, *P. glandulosa* y *P. juliflora* arrojó una red en forma de estrella con 18 haplotipos, donde el haplotipo más frecuente (H1, 87 individuos) se agrupó al centro de la misma, encontrándose en todas las poblaciones muestreadas, incluidas las poblaciones de CCI (*P. glandulosa*) y FUE (*P. juliflora*). La mayor parte de los haplotipos se separan por un paso mutacional del haplotipo central, aunque existen haplotipos que se separan por 2 a 6 pasos mutacionales de dicho haplotipo (Fig. 9).

Por otra parte, cabe destacar que la mayor parte de los haplotipos derivados son exclusivos de una población (haplotipos privados), a excepción de los haplotipos H2 (ANG, MCA, NOV, OAX, SRI), H3 (PAN, SMT, VIC) y H4 (PAN, SMT). (Fig. 9). Se observaron 8 poblaciones monomórficas (Tabla 6; Fig. 9), las cuales únicamente mostraron el haplotipo central, H1. Por otra parte, las poblaciones con mayor número de haplotipos fueron VIC (5), MCA (4) y ANG (4) (Tabla 6; Fig. 9).

La diversidad haplotípica para el conjunto total de poblaciones fue moderada ($H_d = 0.407$). Por otra parte, la diversidad haplotípica corregida por el tamaño de muestra (Nei, 1978) fue de $H_d = 0.457$, indicando que el tamaño de muestra no influye de manera

determinante en los valores de diversidad. Al evaluar la diversidad haplotípica mediante el método para alelos no ordenados (Pons y Petit, 1996), se observó que la diversidad haplotípica para el total de poblaciones ($h_t = 0.449$), fue ligeramente mayor al promedio dentro de las poblaciones ($h_s = 0.444$; Tabla, 6), y en relación con esto, los valores de estructura genética mostraron una diferenciación moderada entre poblaciones (Tabla, 7). La diversidad nucleotídica para el conjunto total de poblaciones fue de $\pi = 0.0014$ y $\theta = 0.0057$. Las poblaciones de ANG, MAT y VIC mostraron los mayores valores de diversidad. Cabe destacar los bajos valores de π y θ debido en parte al elevado número de poblaciones monomórficas.

Tabla 6.- Diversidad genética y valores demográficos por población y globales para *P. laevigata* en México.

Población	N	Nh	AR	Hd	hs	π	Θ	D	Fs
ANG	4	4	3	1	1	0.00392	0.00385	0.16766	-2.1811
CAD	5	2	1.6	0.4	0.4	0.00094	0.00113	-0.8165	0.09021
CHA	7	1	1	0	0	0	0	0	0
GFA	4	2	1.75	0.5	0.5	0.00118	0.00128	-0.61237	1.09861
HUI	4	1	1	0	0	0	0	0	0
IND	5	1	1	0	0	0	0	0	0
LIN	6	1	1	0	0	0	0	0	0
MAT	5	3	2.2	0.7	0.7	0.00282	0.00339	-1.04849	-0.18585
MCA	7	4	2.2	0.81	0.7143	0.00538	0.00672	-1.03541	0.12551
MEZ	5	1	1.6	0	0.4	0	0	0	1.04042
NOV	6	2	1.5	0.333	0.3333	0.00078	0.00103	-0.93302	-0.00275
CEV	4	2	2.5	0.5	0.8333	0.00118	0.00118	-0.61237	-0.28768
PAN	6	3	2.25	0.733	0.7333	0.0022	0.00207	0.31063	-0.30414
SAL	6	1	1	0	0	0	0	0	0
SRI	6	2	1.9	0.6	0.6	0.00141	0.00103	1.4451	0.79518
SMT	9	3	2.31	0.639	0.75	0.00183	0.00174	0.1959	-1.03877
TUL	3	2	2	0.667	0.6667	0.00314	0.00315	0	1.06087
TX	7	1	1	0	0	0	0	0	0
VIC	9	4	2.46	0.694	0.8056	0.00249	0.00349	-1.14944	-1.50446
Prom		2.15±1.21	1.75±0.63	0.407±0.343	0.444±0.348	0.00146±0.0015	0.00573±0.0018	-2.03845	11.376

N= tamaño de muestra; Nh=riqueza haplotípica; AR= riqueza haplotípica rarefaccionada; Hd= diversidad haplotípica ;hs=diversidad haplotípica para alelos no ordenados (Pons y Petit, 1996); π = diversidad nucleotídica; D= D de Tajima; Fs= Fs de F

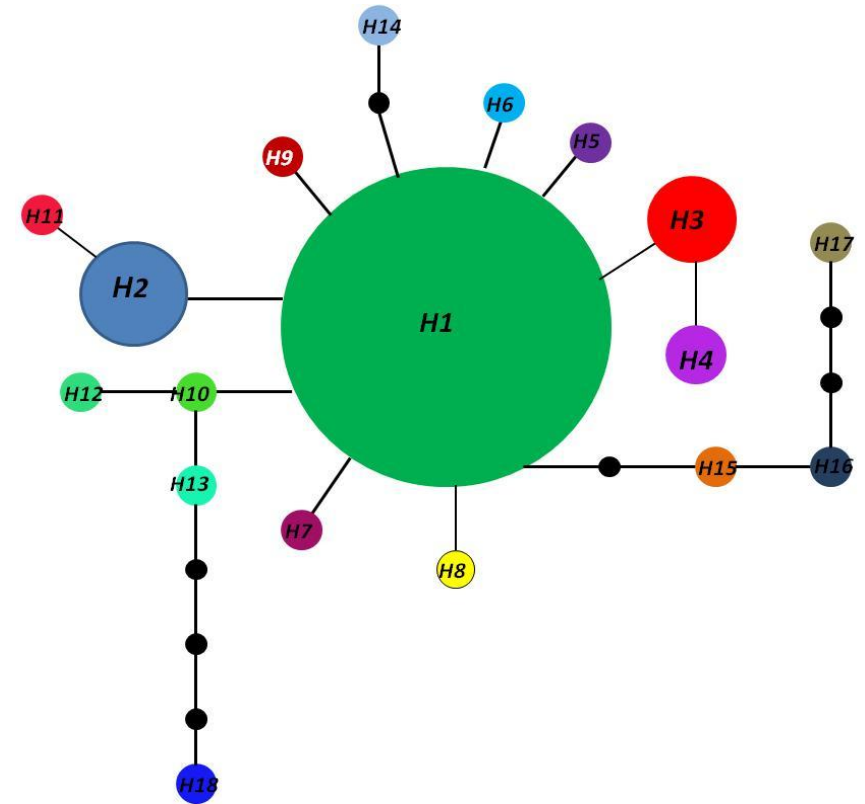
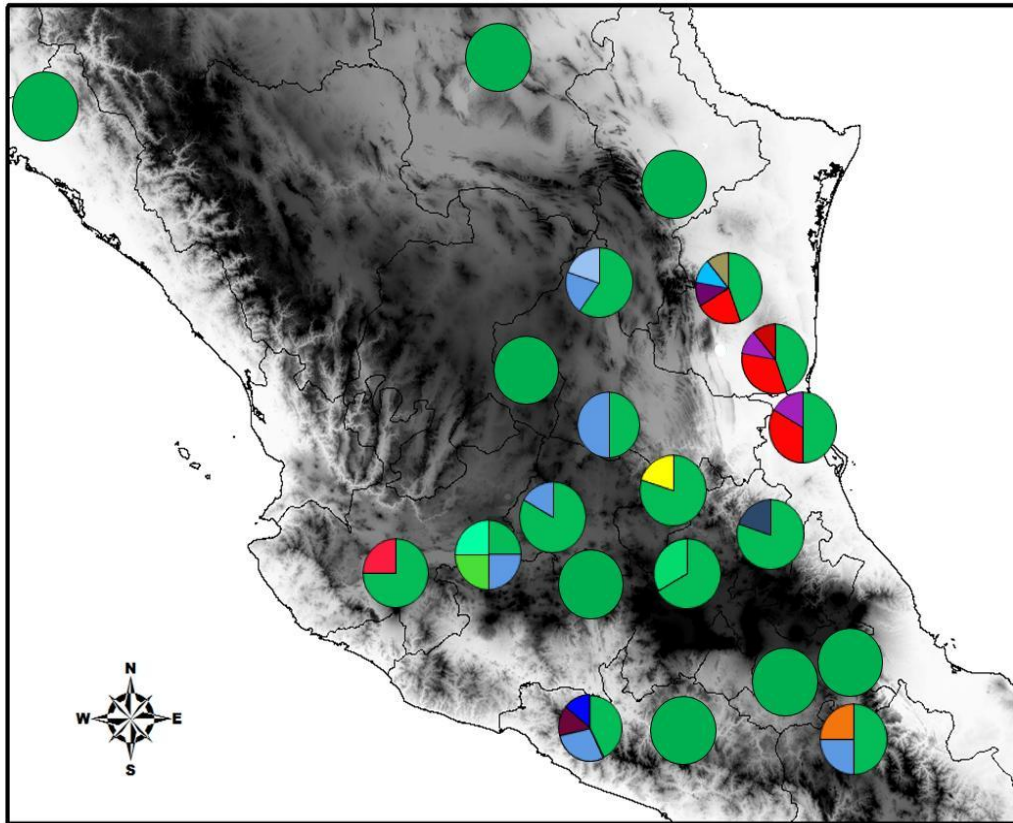


Figura 9.- Distribución de haplotipos de cloroplasto de *P. laevigata* en México (izquierda) y red de haplotipos de parsimonia estadística (derecha). Las gráficas circulares representan los haplotipos encontrados en las poblaciones muestreadas. La división de cada gráfica representa proporcionalmente la frecuencia de cada haplotipo. El tamaño de los círculos en la red de haplotipos representa la frecuencia de cada haplotipo, los círculos pequeños en negro representan pasos mutacionales entre haplotipos o haplotipos no muestreados.

6.6 Diferenciación poblacional del cloroplasto

Para evaluar la partición de la diversidad dentro y entre las poblaciones de *P. laevigata*, se realizó el AMOVA sin hacer *a priori* ninguna agrupación de las poblaciones. El AMOVA indica un valor de estructura de $F_{ST}=0.103$, indicando que el 10% de la diversidad genética se encuentra entre las poblaciones, mientras que el 90% restante se encuentra dentro de las mismas (Tabla 7). Dichos valores sugieren un proceso de colonización reciente, con probables cuellos de botella reiterativos, evidenciado en el alto número de poblaciones monomórficas que presentan el haplotipo H1.

Por otra parte, los resultados para el análisis SAMOVA, utilizado para definir potenciales barreras y discontinuidades genéticas entre grupos de poblaciones, arrojó que un valor $K=7$ maximiza la varianza genética ($F_{ct}=0.259$). Para este valor la mayor parte de los grupos se forman por una o dos poblaciones, sin establecer claramente patrones geográficos de agrupamiento (Fig. 10; Tabla 8). Tales patrones de agrupamiento podrían deberse a la presencia de haplotipos privados dentro de algunas poblaciones (Tabla 6).

Tabla 7.- AMOVA obtenido con la secuencia de cloroplasto *psbA3'/trnH* de las poblaciones de *P. laevigata* en México. Los datos muestran un único nivel de agrupamiento evaluando la partición de la diversidad dentro y entre poblaciones.

Fuente	g. l.	SC	Var. Est.	%
<i>Entre Poblaciones</i>	18	6.64	0.02571	10.38
<i>Dentro de Poblaciones</i>	90	19.984	0.22205	89.62
<i>Total</i>	108	26.624	0.24776	100

* $F_{st}=0.103$ ($P<0.001$)

Tabla 8.- Análisis SAMOVA, para datos de cloroplasto. Se muestran los valores de maximización para K=7.

Fuente	g. l.	SC	Var. Est.	%
Entre Grupos	6	7.187	0.09647	25.91
Entre Poblaciones	12	1.817	-0.02849	-7.65
Dentro de Poblaciones	90	27.39	0.30434	81.74
Total	108	36.394	0.37233	

*Fct=0.259 (p<0.001)

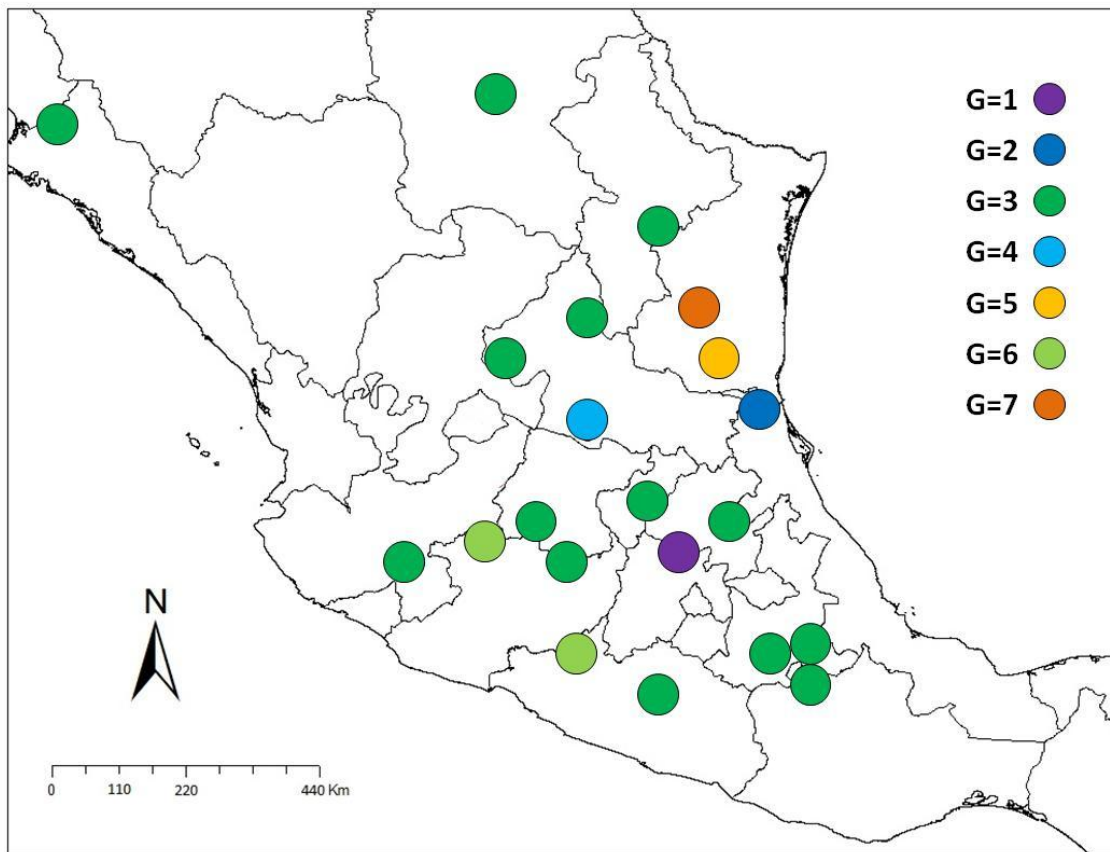


Figura. 10. Grupos genéticos arrojados por el análisis SAMOVA para las poblaciones de *P. laevigata* en México. Los círculos representan una población y el color de los mismos la pertenencia a los diferentes grupos genéticos.

6.7 Estructura filogeográfica del cloroplasto

La diferenciación genética arrojada por el estimador G_{ST} basada en la variación de la secuencia intergénica *psbA3'/trnH* ($G_{ST}=0.106$), señala niveles moderados de estructura genética en las poblaciones de *P. laevigata*, valor similar al obtenido mediante el AMOVA para la misma serie de datos ($F_{ST}=0.103$). Por su parte, el valor arrojado por el estimador N_{ST} (0.107) no mostró diferencias significativas con respecto a G_{ST} ($P=0.468$) indicando que no existe estructura filogeográfica entre las poblaciones muestreadas. Dicha comparación incluyó a las poblaciones de *P. juliflora* (FUE) y *P. glandulosa* (CCI).

6.8 Demografía histórica del cloroplasto

La prueba de neutralidad de Tajima para el cloroplasto dio un valor de $D = -2.038$ ($P < 0.05$), sugiriendo un proceso de expansión demográfica reciente en el conjunto de poblaciones de *P. laevigata*. A nivel poblacional, poblaciones como VIC, MAT y MEZ, mostraron valores negativos en el estimador D (Tabla 6), sin embargo dichos valores no fueron significativos. Para el caso de la F_s de Fu, se obtuvo un valor global de $F_s = -11.375$ ($P < 0.001$), evidenciando un proceso reciente de expansión demográfica, respaldando los valores de la D de Tajima. A nivel poblacional se observaron valores negativos no significativos para el estimador F_s .

La distribución de las diferencias pareadas *mismatch* mostró una distribución unimodal, con una cresta principal ubicada en una diferencia entre los pares de secuencias (Fig. 11). En relación a esto, la suma de cuadrados (SSD) no mostró diferencias significativas comparando con un modelo de expansión constante ($SSD=0.058$; $P=0.312$), respaldando la evidencia de expansión demográfica reciente.

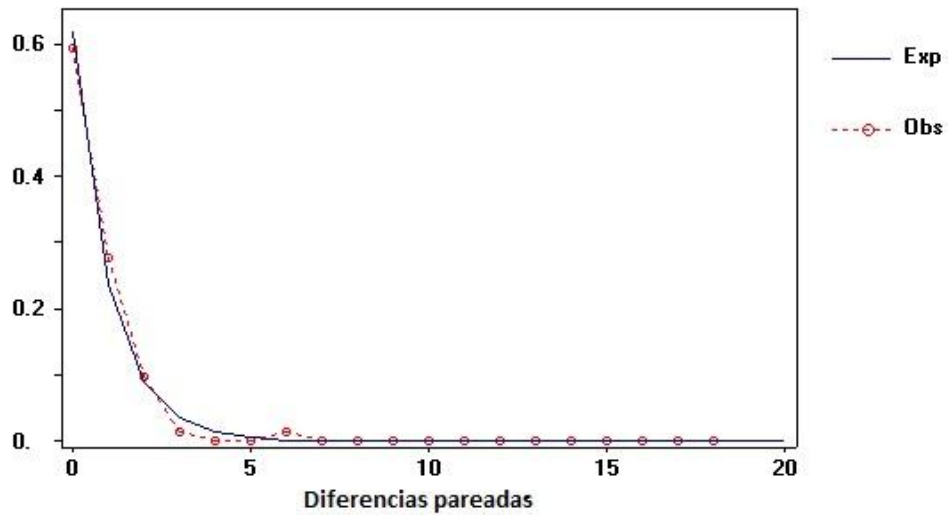
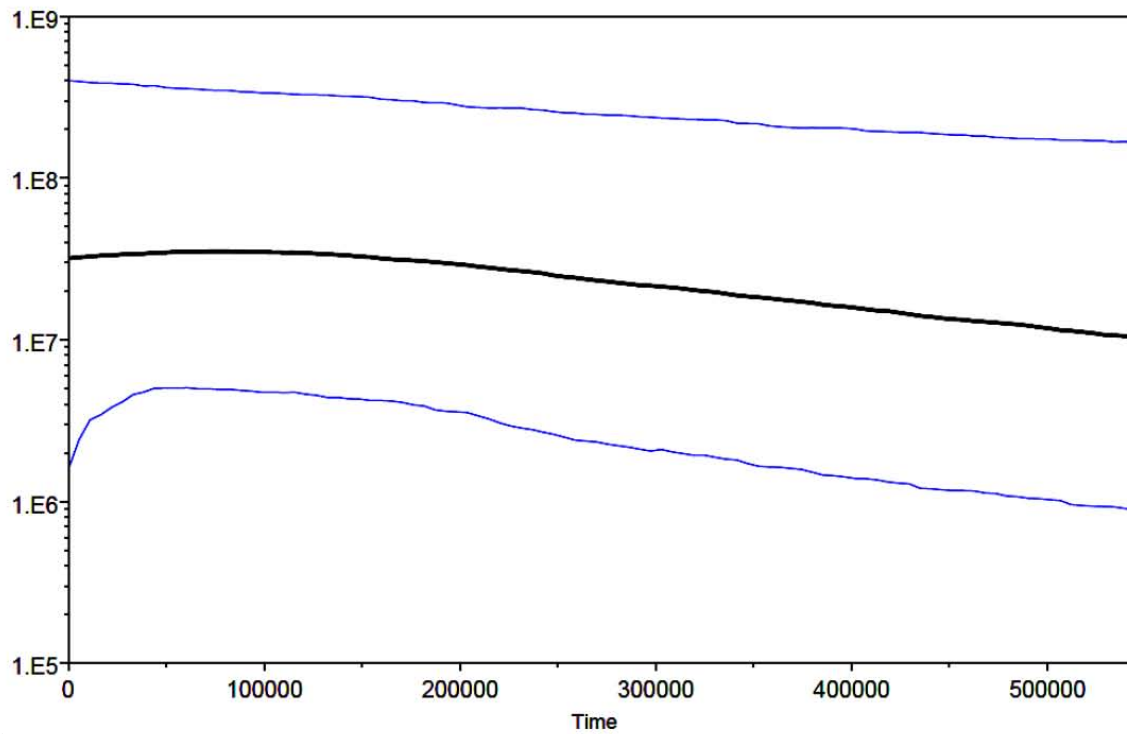


Figura. 11.- Distribución de las diferencias pareadas arrojadas por el análisis mismatch para los haplotipos de *P. laevigata* en México.

6.9 Bayesian Skyline Plot

Los resultados del BSP para ambas tasa de mutación (1.0×10^{-9} y 3.0×10^{-9} s/s/año) mostraron un incremento constante en el N_e poblacional estabilizándose hacia el tiempo cero (Fig. 12). Ambas tasas mostraron una tendencia similar en la variación en el N_e , mostrando variación únicamente en los tiempos.

A)



B)

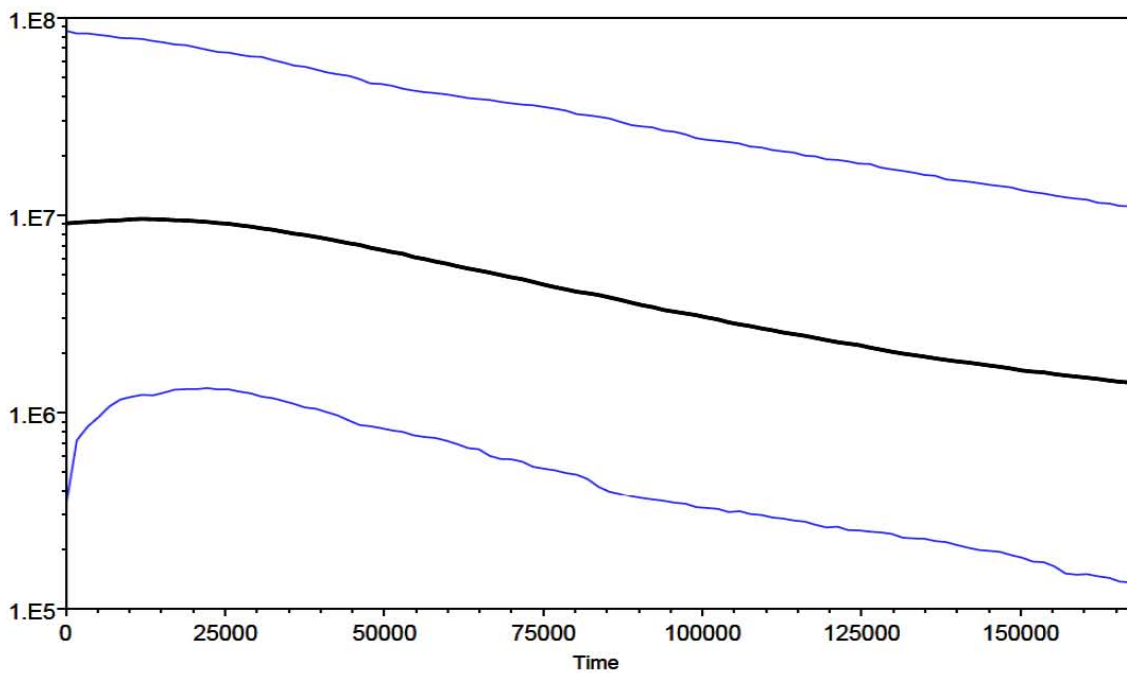


Figura 12.- Bayesian Skyline Plot generalizado. La línea negra indica el cambio del tamaño poblacional en función del tiempo transcurrido. A) Skyline Plot arrojado al utilizar la tasa de mutación de 1.0×10^{-9} s/s/y. B) Skyline Plot arrojado al utilizar la tasa de mutación de 3.0×10^{-9} s/s/y. Ambas tasas de mutación son valores generales reportados para la tasa de mutación en cloroplasto de angiospermas (Wolf et al., 1987).

6.10 Estimación de tiempos de divergencia

El análisis mediante BEAST, sugiere la existencia de una divergencia entre los haplotipos 7, 8, 11 y 13 del resto de los haplotipos de *P. laevigata*, hace alrededor de 2 Ma (95% HDP 5-0 M.A). La edad del clado que contiene la mayor parte de los haplotipos se estima en alrededor de 1 Ma. De la misma manera, se observa que la mayor parte de los haplotipos de *P. laevigata* surgen durante los últimos 0.5 Ma (Fig. 13). Cabe destacar que las poblaciones de *P. glandulosa* (CCI) y *P. juliflora* (FUE) mostraron el haplotipo H1, presente en todas las poblaciones identificadas como *P. laevigata*

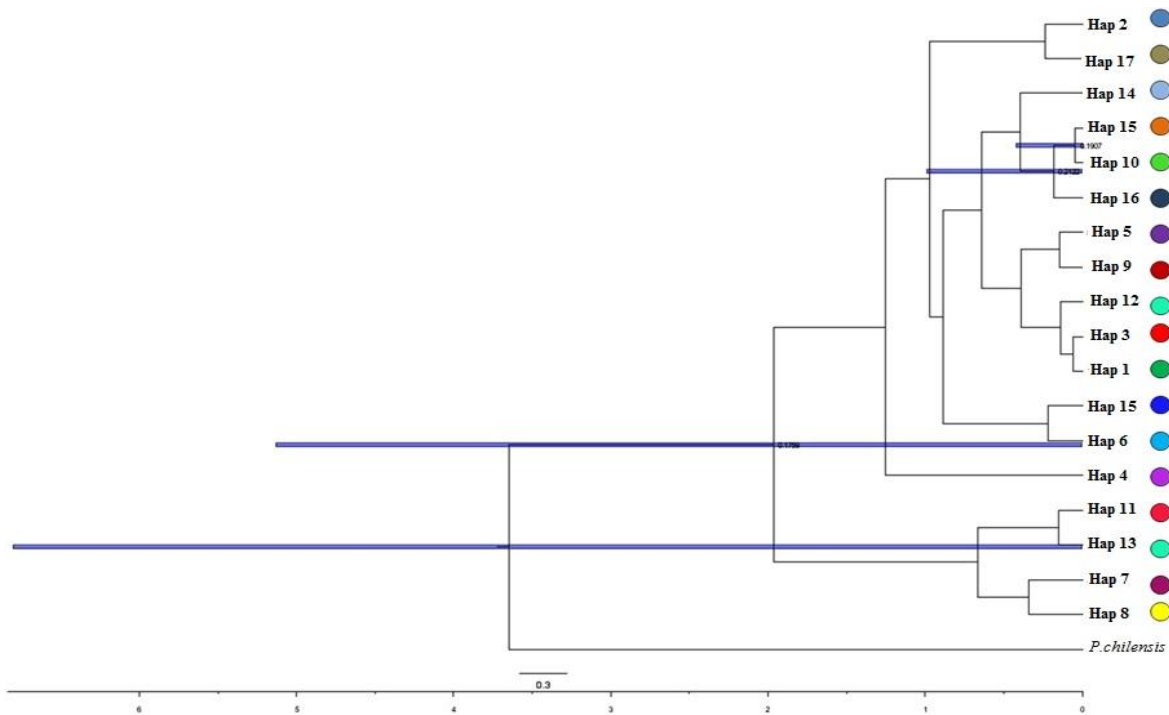


Figura 13.- Cronograma de haplotipos de *P. laevigata* basado en el árbol consenso del análisis Bayesiano de datación utilizando la secuencia intergénica de cloroplasto *psbA3'/trnH* y un modelo coalescente de tamaño constante. Los nodos seleccionados muestran intervalos de 95% de alta densidad posterior (HPD), indicado por las barras azules. Los tiempos de divergencia se resumen en Ma. Los círculos de color indican el haplotipo correspondiente a la genealogía de genes.

VII.- DISCUSIÓN

7.1 Importancia de *Prosopis laevigata*

Prosopis laevigata es la especie de más amplia distribución del género en México, distribuyéndose desde el sur de Oaxaca hasta el norte de Nuevo León y Tamaulipas. Puede encontrarse en una gran variedad de ecosistemas, desde el matorral xerófilo hasta formar parte marginal de las selvas bajas (Rzedowski, 1988; Palacios, 2006). A pesar de la importancia ecológica, social y cultural de *P. laevigata* y su amplio potencial de aprovechamiento en zonas áridas y semiáridas del país, se han llevado a cabo pocos esfuerzos con el objetivo de conocer la historia natural (Rzedowski, 1988; Galindo-Almanza, 1992; Golubov et al., 2001; Palacios, 2006) y en especial la distribución de la diversidad genética de la especie (Juárez-Muñoz et al., 2006).

La presente investigación abordó la evaluación de la diversidad y estructura genética, así como la historia evolutiva y demográfica reciente con el objetivo de evaluar señales genéticas y su potencial relación con eventos climáticos en el gradiente de distribución de la especie.

7.2 Diversidad genética e índices de fijación

Los valores generales de diversidad genética en las poblaciones de *P. laevigata* en México obtenidos mediante microsatélites nucleares fueron relativamente altos ($H_e = 0.573$; Tabla 3) aunque más bajos que los encontrados en otras fabáceas como *Acacia brevispica* ($H_e = 0.72$; Otero-Arnaiz et al., 2005), *A. mellifera* ($H_e = 0.67$; Ruiz-Guajardo et al., 2007) y *A. senegal* ($H_e = 0.667$; Omondi et al., 2010) pero similar al detectado en especies tropicales con historias de vida similares tales como amplia distribución, sistemas de cruzamiento autoincompatibles y de larga vida como *Carapa guianensis* (Meliaceae) ($H_e = 0.61$;

Dayanandan et al., 1999) y *Swietenia humilis* (Meliaceae) ($H_e=0.53$; White et al., 1999). Doligez y Joly (1997), reportan para 28 especies de árboles tropicales altos valores de diversidad como denominador común, atribuidos a alto flujo génico, efectividad de los polinizadores, amplia distribución y sistemas de cruzamiento autoincompatibles (Dick et al., 2008; White et al., 2002). Este es un patrón típico de especies leñosas de larga vida con exocruzamiento, números poblacionales elevados y de amplia distribución (Hamrick et al., 1992; White et al., 2007)

A nivel poblacional, los estimadores de diversidad como el número efectivo de alelos (NA_E) y la heterocigosidad esperada (H_e), mostraron correlación con la latitud, según la cual a mayores latitudes se observaron los valores mayores de diversidad (Fig. 5). En este sentido, las poblaciones de la Planicie Tamaulipeca (SMT, VIC, PAN) así como la población LIN (Nuevo León), mostraron los valores mayores de H_e , mientras que las poblaciones CIE (*P. glandulosa*) en Coahuila y FUE (*P. juliflora*) en Sinaloa, mostraron los mayores valores de NA_E . Por su parte, la población de SMT (Tamaulipas) mostró la mayor proporción de alelos privados (0.833). Por otra parte, las poblaciones con los menores índices de diversidad fueron las poblaciones de ANG (Michoacán) y GOF (Jalisco) distribuidas al centro occidente de la distribución y HUI (Guerrero) de la depresión del Balsas al sur de la distribución (Fig. 4; Tabla 3).

Frankham (1996) reportó correlaciones positivas en 22 de 23 especies entre la diversidad genética evaluada mediante isoenzimas y el tamaño efectivo poblacional ($\log N_e$), reportando que a mayor tamaño efectivo se incrementan los valores de diversidad. En este sentido, las poblaciones de *P. laevigata* al norte de su distribución muestran números

poblacionales claramente mayores que las poblaciones del sur, pudiendo ser la explicación para una mayor diversidad genética (G. Contreras-Negrete *obs. pers.*).

Los valores de endogamia fueron altos en todas las poblaciones ($F_{IS}=0.323$; Tabla 4), patrón incongruente con la naturaleza exogámica de la especie; sin embargo, al evaluar conjuntamente el efecto de los alelos nulos y la endogamia en los valores de homocigocidad se encontró a los alelos nulos como el principal componente del modelo bayesiano IIM implementado en INest (Chybicki y Burczyk 2009), arrojando un valor corregido de $F_{IS}=0.177$. El porcentaje de alelos nulos por locus fluctuó entre 0 y 0.3 de los datos obtenidos (dependiendo del locus), inflando la estimación de los valores de homocigocidad. Estudios teóricos y empíricos han demostrado el efecto de los alelos nulos al subestimar la diversidad alélica y la heterocigocidad observada y esperada (Chapuis, 2008; Shama et al., 2011). Los valores corregidos de endogamia para *P. laevigata* ($F_{IS}=0.177$) indicando autofecundación substancial, que se ha estimado que puede oscilar entre 65 y 85% según experimentos de cruzamiento, evidenciando autocompatibilidad, aunque la especie es principalmente exógama en condiciones naturales (Galindo-Almanza et al., 1992).

En relación con esto, Bessega et al. (2000), en un estudio sobre los sistemas reproductivos de cinco especies de *Prosopis* (Sección Algarobia), observaron que el exceso de homócigos se debe, en parte, a las tasas de autogamia observadas en dichas especies (15-28%). Sin embargo Golubov et al. (1999), al evaluar las patrones reproductivos de *P. glandulosa var. torreyana* reportaron que aunque la especie muestra capacidad de autofecundación, esta presenta de manera predominante la exocruza, patrón evidenciado en las altas proporciones de heterocigocidad y valores negativos de endogamia local. Por otra

parte, se ha propuesto que la dispersión de polen en especies de *Prosopis* podría ser limitada, dado el rango hogareño de sus principales polinizadores (entomofilia), favoreciendo el cruzamiento con plantas vecinas y entre parientes, elevando así la endogamia (Genise et al., 1994; Bessega et al., 2000c).

7.3 Estructura genética

Los sistemas reproductivos en plantas han sido identificados como uno de los principales factores que influyen la estructura genética de las poblaciones (Loveless y Hamrick, 1984). La estructura genética a nivel de especie fue moderada ($F_{ST} = 0.154$). Al evaluar el efecto de los alelos nulos en los valores de estructura genética se observó un valor corregido de $F_{ST} = 0.151$, no existiendo un sesgo considerable debido a la presencia de alelos nulos en dichos valores.

Por otra parte, al evaluar la estructura genética mediante el estimador R_{ST} , ajustado al modelo de mutación por pasos (SMM) correspondiente a los microsatélites, se observó un valor de $R_{ST} = 0.268$, indicando que las mutaciones por pasos contribuyen a la diferenciación poblacional, así como a la generación de nuevas variantes alélicas.

Harris et al. (1976), define a los alelos raros como aquellos cuya frecuencia individual en la muestra es menor a 0.005. En poblaciones en expansión se ha observado un exceso de alelos raros, generados por mutaciones que han ocurrido desde la expansión sin el suficiente tiempo para propagarse dentro de la población (Keinan et al., 2007), así como un exceso de homocigosidad en relación al número de alelos observados y bajas tasas de mutaciones (Maruyama y Fuerst 1984, 1985; Tajima 1989a; Watterson 1986). La distribución de las frecuencias alélicas en las poblaciones de *P. laevigata* muestra una gran

cantidad de alelos en baja frecuencia, altos niveles de homocigocidad (Tabla 3 y 4), así como una moderada estructura genética, evidenciando una alta conectividad genética entre las poblaciones, de esta manera reflejando un proceso de expansión demográfica reciente.

La partición de la estructura genética evaluada mediante AMOVA para los estimadores F_{ST} y R_{ST} evidenció que la mayor parte de la diversidad se encuentra dentro de las poblaciones (83% y 75% respectivamente), patrón congruente con los valores de estructura genética reportados para *P. chilensis* en Argentina (Ferreyra et al., 2010). Dada la naturaleza protógina de las flores de *Prosopis*, los estigmas se muestran receptivos antes de la antesis masculina, promoviendo la exogamia y disminuyendo la probabilidad de autofecundación (Burkart, 1976; Juárez-Muñoz et al., 2006). La partición de la estructura genética es congruente con los principales polinizadores reportados para *P. laevigata*, entre los cuales destacan *Apis mellifera* y otros himenópteros de la familia Megachillidae y Colletidae (Hamrick et al., 1992; Galindo-Almanza et al., 1992).

Por otra parte, a pesar de la amplia área de distribución de la especie, el test de Mantel no mostró indicios de aislamiento por distancia, evidenciando que la moderada diferenciación genética es resultado del reciente proceso de expansión demográfica de las poblaciones de *P. laevigata* (Keinan et al., 2007) más que a un alto nivel de flujo génico contemporáneo.

El análisis de la distribución de la ancestría genética implementado en STRUCTURE, arrojó un valor de $K=2$ como el número más probable de grupos genéticos (Fig. 6). Sin embargo, $K=3$ muestra información adicional acerca de la subestructura genética de las poblaciones (Fig. 7A). Los patrones de pertenencia a los distintos grupos

genéticos evidencian una alta conectividad genética en la mayor parte de las poblaciones, no existiendo grupos genéticos restringidos en su totalidad a áreas geográficas particulares, patrón congruente con los resultados del análisis AMOVA. Sin embargo, las poblaciones del Balsas (MZC y HUI) se muestran como las más diferenciadas, donde predomina el grupo genético azul (Fig. 7A). Este patrón también se pone de manifiesto en los F_{ST} pareados, para los cuales se observan altos valores de estructura entre la población de HUI y el resto de las poblaciones ($F_{ST} = 0.333$ a 0.605). La diferenciación genética de dichas poblaciones es atribuible a un aislamiento del resto dadas las condiciones geográficas de la Depresión del Balsas, así como el tipo de vegetación (selva baja caducifolia), en la cual las poblaciones de *P. laevigata* se presentan de forma aislada, marginal y en bajas densidades (Rzedowski, 1988). Por otra parte, el resto de las poblaciones muestra valores de estructura genética de bajos a moderados ($F_{st} = 0.002$ a 0.387), sugiriendo altas tasas de flujo génico histórico entre poblaciones o reciente colonización, donde no habido tiempo de que se diferencien por deriva génica. En poblaciones en expansión, la tasa de crecimiento poblacional y la tasa de migrantes influyen fuertemente el efecto fundador en los sitios colonizados. Cuando el crecimiento poblacional y la tasa de migración son altos, se minimiza el efecto fundador en áreas recientemente colonizadas, reduciendo la diferenciación genética entre poblaciones y manteniendo altos valores de diversidad genética (Austerlitz et al, 1997). Dicho patrón, muestra relación con los resultados de estructura genética a nivel nuclear, donde la mayoría de las poblaciones de *P.laevigata*, muestran altos valores de diversidad genética y bajos valores de estructura en relación a la amplia distribución de la especie.

Al retirar a las poblaciones de la Depresión del Balsas del análisis bayesiano, se identificó a la población de FUE (*P. juliflora*) como la más diferenciada, mientras la población de CIE (*P. glandulosa*) mostró patrones de ancestría similares a las poblaciones del norte de la distribución (Fig. 7B). Juárez-Muñoz et al. (2006), en un análisis de similitud genética utilizando *RAPD's* entre poblaciones de *P. laevigata*, *P. glandulosa* y *P. juliflora* encontró un patrón similar, según el cual las poblaciones de *P. laevigata* y *P. glandulosa* se agrupan con altos niveles de similitud genética, mientras que *P. juliflora* aparece como la más diferenciada o basal de las tres especies. Tales patrones son atribuibles a la alta capacidad de hibridación entre *P. laevigata* y *P. glandulosa* en las áreas comunes de distribución como lo reportan Galindo-Almanza et al. (1992) al norte de San Luis Potosí (Anexo I). Saidman et al. (1998), en un análisis de variación genética mediante el uso de *RAPD's* entre líneas puras e híbridos de especies de *Prosopis* de la sección Algarobia en Sudamérica, reportan una tendencia hacia la homogeneización de las frecuencias alélicas, con una subsecuente pérdida de identidad genética de las especies, patrón congruente con los patrones de ancestría observados en *P. glandulosa* en relación a las poblaciones de *P. laevigata* al norte de la distribución (Fig. 7B).

En un tercer análisis de STRUCTURE, analizando únicamente a las poblaciones de *P. laevigata* exceptuando las dos poblaciones del Balsas, se observaron proporciones similares de cada uno de los grupos genéticos en todas las poblaciones, sugiriendo altas tasas de flujo génico histórico en el gradiente de distribución (Fig. 7C). Juárez-Muñoz et al. (2006), Reportan en un análisis de polimorfismo usando *RAPD's* entre dos poblaciones de *P. laevigata* al centro de su distribución (Guanajuato e Hidalgo), altos niveles de similitud genética y un número de migrantes $N_e m = 3.2$ sugiriendo un origen común para ambas

poblaciones o la formación de un continuum antiguo entre las poblaciones en el área central de distribución (Rzedowski, 1988; Juárez-Muñoz et al., 2006).

7.4 Filogeografía

El análisis de la secuencia intergénica de cloroplasto *psbA3'/trnH* utilizada en *P. laevigata* arrojó un total de 18 haplotipos. La diversidad haplotípica total en las poblaciones de *P. laevigata* en su gradiente de distribución en México fue moderada ($H_d = 0.407$). De la misma manera, los valores de diversidad nucleotídica fueron bajos ($\pi = 0.00146$). Los mayores valores de diversidad se encontraron en las poblaciones de la Planicie Tamaulipeca (VIC, SMT, PAN), así como en una población de la Depresión del Balsas (MEZ) y en la población de ANG (Michoacán). Por otra parte, se observaron ocho poblaciones monomórficas, dentro de las cuales se encuentran las poblaciones de CIE (*P. glandulosa*) y FUE (*P. juliflora*) presentando únicamente al haplotipo H1.

La red de parsimonia estadística mostró la existencia de un solo haplogrupo, donde la mayoría de los haplotipos son privados y se conectan a uno o pocos pasos mutacionales del haplotipo central, generando una red de haplotipos en forma de estrella (Fig. 9). Dicho patrón evidencia un origen reciente de los haplotipos en las poblaciones de *P. laevigata* en México, sin el suficiente tiempo para acumular diferencias entre las poblaciones que pudiesen generar patrones geográficos de agrupamiento (Slatkin y Hudson, 1991; Avise, 2000).

7.5 Historia demográfica

La distribución espacial de los haplotipos así como la configuración de la red son congruentes con el análisis de los patrones de demografía histórica de *P. laevigata*, el cual evidencia ampliamente un proceso de expansión poblacional reciente demostrado en los

valores de D de Tajima y F_s de Fu, resultando en valores negativos significativos (Tabla 6), así como por la distribución unimodal de las diferencias pareadas de las secuencias (Fig. 11) (Rogers y Harpending, 1992), indicando pocas diferencias entre los haplotipos.

Se ha reportado que las redes de haplotipos en forma de estrella son típicas de poblaciones que han experimentado una rápida expansión demográfica reciente a partir de poblaciones con un número efectivo poblacional bajo (Slatkin y Hudson, 1991; Avise, 2000). Asimismo, una rápida expansión poblacional se evidencia en patrones geográficos de diversidad, donde en áreas recientemente colonizadas se esperan bajos niveles de variación genética dados los recurrentes efectos fundador (Hewitt, 1996; Hewitt, 2004; Excoffier et al., 2009), patrón observado en el elevado número de poblaciones monomórficas así como los bajos valores de diversidad haplotípica en la mayor parte de las poblaciones de *P. laevigata*.

Al analizar la historia demográfica de *P. laevigata* mediante el BSP se observó, para ambas tasa de mutación un crecimiento poblacional constante, con una estabilización demográfica hacia el tiempo cero. Dicha tendencia evidencia un crecimiento gradual a partir de N_e poblacionales menores, patrón congruente con los valores de estructura genética para los cuales se propone, representan la divergencia entre las poblaciones desde el tiempo de la expansión

Una contracción demográfica y subsecuente expansión poblacional mostraría un efecto marcado en la distribución de las frecuencias alélicas en las nuevas poblaciones (Rogers y Harpending, 1992). Por otra parte, Austerlitz et al. (1997) reportan que en poblaciones en expansión que muestran altas tasas de crecimiento demográfico, así como altos niveles de flujo génico con áreas recientemente colonizadas, el efecto fundador se diluye, homogeneizando la diversidad genética entre poblaciones. Este escenario es

congruente con los bajos valores de estructura genética , evidenciando la inexistencia de aislamiento por distancia así como altas tasas de flujo génico histórico en las poblaciones de *P. laevigata* en México.

Por otra parte, el cronograma de diversificación indica un origen antiguo de los haplotipos de *P. laevigata*, para los cuales se estima una primera divergencia hace alrededor de 2 Ma, mientras que el clado con el mayor número de haplotipos muestra una edad de 1 Ma. Cabe destacar que la mayor parte de los haplotipos, se estima, surgen dentro de los últimos 0.5 Ma, sin embargo, los rangos de credibilidad de los clados (95% HDP) muestran una gran amplitud restándole consistencia al análisis. Dicho patrón es atribuible al uso de un punto secundario de calibración utilizado para el análisis, así como la poca variación encontrada en las secuencias.

7.6 Estructura genética y filogeográfica del cloroplasto

Al evaluar la existencia de estructura filogeográfica con el cloroplasto entre las poblaciones de *P. laevigata* no se encontraron diferencias significativas entre los estimadores N_{ST} y G_{ST} ($P=0.468$), mostrando la inexistencia de estructura filogeográfica. Este resultado se evidencia en la existencia de un único haplogrupo, un haplotipo ampliamente distribuido y en alta frecuencia (73%), a través de la distribución geográfica de *P. laevigata*, manifestando la reciente generación de la diversidad haplotípica observada, sin la suficiente divergencia genética entre las poblaciones capaz de generar patrones geográficos o por otra parte , una pérdida de diversidad genética catalizada por recurrentes eventos fundador dando lugar a repetidos eventos de cuello de botella genéticos.

Por su parte, la diferenciación genética en el cloroplasto de las poblaciones de *P. laevigata* en México fue moderada ($F_{ST}=0.103$), en comparación a fabáceas de zonas áridas como *Acacia senegal* ($G_{ST}=0.793$; Odee et al., 2012); *A. acumminata* ($G_{ST} = 0.52$;

Byrne et al., 2002) y cactáceas como *Lophocereus schotti* ($F_{st}=0.431$; Nason et al., 2002), *Mammillaria pectinifera* ($F_{st}=0.687$; Cornejo-Romero et al., 2013). Sumado a esto, el análisis AMOVA reflejó que la mayor parte de la diversidad se encuentra dentro de las poblaciones (90%). Los valores moderados de estructura genética y la inexistencia de estructura filogeográfica respaldan la tesis de la expansión reciente o poblaciones con un tiempo de divergencia corto, en las cuales no se han acumulado un gran número de mutaciones que puedan diferenciarlas (Rogers, 1995).

Por otra parte, al evaluar los patrones de estructura genética sin establecer grupos *a priori*, mediante el análisis SAMOVA, se observó a $K=7$ como el número óptimo de grupos genéticos. Sin embargo, el agrupamiento de las poblaciones responde más a patrones de diversidad en lugar de correlaciones geográficas, donde los grupos identificados se componen, en su mayoría, de una o pocas poblaciones con los mayores valores de diversidad, no existiendo agrupamientos que evidencien discontinuidades reales al flujo génico en el gradiente de distribución (Tabla 8; Fig. 10). El patrón de estructura genética observado en *P. laevigata* sugeriría una eficiencia relativa en la dispersión de semillas, promoviendo la fundación de nuevas poblaciones mediante repetidos eventos fundador, evidenciando la porosidad de las barreras geográficas a través de su distribución (Ruiz-Sánchez y Órnelas, 2014; Parra et al., 2014).

En relación con lo anterior, los frutos de *Prosopis* en zonas áridas representan un recurso de gran valor alimenticio para un gran número de especies (Pasicznik et al., 2001). Se ha documentado la dispersión de frutos de *Prosopis* principalmente por mamíferos pequeños, humanos, así como a través de cursos de agua (Campos y Ojeda, 1997; Pasicznik et al., 2001; de Noir et al., 2002). La dispersión por endozoocoria se ha identificado como un mecanismo efectivo en la dispersión a larga distancia y, en relación

con esto, se ha propuesto la dispersión de las semillas de algunas especies de *Prosopis* por la megafauna en los últimos 12,000 años (Janzen y Martin, 1982; Hamrick et al., 1991).

Asimismo, se ha identificado que animales domésticos, pertenecientes a comunidades pastoriles que promueven el tránsito estacional de ganado, son eficientes en el movimiento de semillas a larga distancia (Golubov et al., 2001; Omondi et al., 2009)

Por otra parte, se ha registrado el consumo de frutos de *Prosopis* por parte de grupos humanos desde las primeras fases de ocupación de México, evidenciado en registros arqueológicos de cuevas como Guila-Naquitz, Oaxaca (Flannery, 1968) así como en el Valle de Tehuacán, para los cuales se estima su utilización durante los últimos 10,000 años (Corwan y Watson, 1992; De Tapia et al., 2014). También se ha identificado a *P. laevigata* como especie de gran valor cultural y de aprovechamiento en las sociedades prehispánicas y actuales, reportándose incluso prácticas incipientes de selección (Casas et al., 1996). Dado esto, es posible que las migraciones humanas y en su caso el intercambio económico y cultural de los pueblos prehispánicos, así como la introducción de la ganadería en tiempos recientes hayan sido un vector eficiente de movimiento de semillas de *P. laevigata*, promoviendo el flujo génico entre poblaciones.

Por otra parte, se ha documentado la alta eficiencia de colonización de especies de *Prosopis*, así como su alta resistencia al estrés hídrico y altas tasas de germinación, pudiendo convertirse en invasora dado su rápido avance, como lo demuestran los casos de introducción de *P. juliflora* en Omán y la India (Zimmerman, 1991; Golubov et al., 2001; Al-Rawahy et al., 2003). Dado esto, la rápida expansión demográfica y de área de distribución observada en *P. laevigata*, podrían deberse a características adaptativas y demográficas propias de la especie, así como a su alta capacidad de colonización en sitios

con suelos empobrecidos, como lo demuestra el avance de *Prosopis* al norte de México y sur de EUA, así como en zonas áridas de Argentina (Golubov et al., 2001).

7.7 Refugios glaciales

Diversos estudios filogeográficos han evidenciado que localidades con altos valores de diversidad genética, indican sitios que probablemente funcionaron como refugios Pleistocénicos o, en su caso, como zonas de contacto secundario. Para el primer caso, los haplotipos observados se encuentran cercanamente relacionados, mientras que en zonas de contacto secundario las localidades pueden incluir haplotipos más distantes desde una perspectiva genética (Petit et al., 2002; Huang et al., 2004; Wu et al., 2006; Gavin et al., 2014).

Los valores de diversidad haplotípica y el número de haplotipos privados encontrados en las poblaciones de *P. laevigata* en la Planicie Tamaulipeca (VIC, SMT y PAN), sugieren que esta área podría haber sido un refugio pleistocénico para la especie. Tales resultados son congruentes con otras especies animales (Castoe et al., 2007) y vegetales (Sosa et al., 2009), para las cuales se ha propuesto como área de subsistencia dada su estabilidad durante los periodos glaciales (Morafka, 1989; Morafka et al., 1992). En este sentido, dicho patrón de refugios en plantas de zonas áridas ha sido reportado para *Agave lechuguilla* (Silva-Montellano y Eguiarte, 2003) y *Hunnemannia fumariifolia* (Sosa et al., 2009), para las cuales se hipotétiza un origen al norte de la distribución con una consecuente colonización hacia el sur (Sosa et al., 2009).

Durante el último periodo glacial, se ha documentado el establecimiento de flora templada y condiciones frías y húmedas en los desiertos del norte de México (Metcalfé et

al., 2000; Metcalfe, 2006), condiciones heterogéneas de matrices cálidas y frías en la FVTM (Caballero et al., 2010) y el establecimiento de condiciones frías para el área de Valle de Tehuacán-Cuicatlán (McNeish et al., 1972). Dichas condiciones sugieren la contracción de vegetación tropical a zonas particulares con condiciones para su subsistencia (Luna-Vega, 2008).

Por otra parte, estudios sobre la vegetación xerófila del sur de EUA y el norte de México han identificado patrones de contracción de la vegetación xerófila al sur de los desiertos Sonorense y Chihuahuense, así como la península de Baja California y la Planicie Tamaulipeca durante el último periodo glacial (van Devender, 1990; Holmgren et al., 2007). Dichos procesos se han asociado a periodos de mayor humedad y frío durante el UGM, los cuales incidieron en los desiertos Baja-Sonorense y Chihuahuense (Metcalfe et al., 2000), y en menor proporción en la Planicie Tamaulipeca (Morafka, 1989; Morafka et al., 1992).

Tales fluctuaciones climáticas pudieron influir en los patrones actuales de diversidad y estructura genética y filogeográfica en *P. laevigata*, al restringir la distribución a zonas de estabilidad como la Planicie Tamaulipeca (Nason et al., 2002; Fehlberg y Ranker, 2009; Garrick et al., 2009; Sosa et al., 2009; Rebernig et al., 2010).

Por otra parte, en la población de MCA en la Depresión de las Balsas (DB) se observan altos valores de diversidad así como haplotipos privados representando un potencial refugio glacial para *P. laevigata*. Dicha área se caracteriza por una gran diversidad biológica así como por un gran número de endemismos, lo que reflejaría su estabilidad climática a través del tiempo (Sousa y Delgado, 1993; Becerra y Venable, 1999,

Becerra, 2005, Sotuyo et al., 2010). El refugio en la DB es congruente con los patrones de colonización post glacial observados en *Larrea tridentata*, para la cual se propone la existencia de refugios al sur de la distribución en el desierto Chihuahuense y una posterior recolonización del norte (Duran et al., 2005). Para el caso de *P. laevigata*, los patrones de recolonización pueden haberse dado en ambos sentidos, como lo evidencian los patrones de diversidad en las poblaciones del centro y sur de la distribución así como los valores de estructura genética y el nulo aislamiento por distancia de las poblaciones, posiblemente generado por zonas de contacto secundaria durante la recolonización.

7.8 *P. juliflora*, *P. glandulosa* y *P. laevigata*

Cabe destacar las relaciones de las poblaciones de CCI (*P.glandulosa*) y FUE (*P.juliflora*), las cuales se encuentran entre las poblaciones monomórficas observadas en el presente estudio, con *P. laevigata*, (Fig. 9). En dichas poblaciones se observó únicamente el haplotipo H1, el cual a su vez se presenta en todas las poblaciones y en un alto porcentaje en el número de individuos analizados.

En especies del género *Prosopis* se ha documentado la existencia de procesos de hibridación en poblaciones naturales (Palacios, 2006). En este sentido, para el complejo norteamericano se han identificado ejemplares con caracteres intermedios entre *P. glandulosa* y *P. glandulosa* var. *torreyana* en el norte de México y sur de EUA (Johnston, 1962); entre *P. articulata* y *P. velutina* en Sonora, así como entre *P. yaquiana* y *P. articulata* en Baja California Sur (Palacios, 2006). De la misma manera, Galindo-Almanza et al. (1992), reportaron la existencia de hibridación natural entre *P. laevigata* y *P. glandulosa* en San Luis Potosí. Sumado a esto, Vega y Hernández (2005), reportaron

patrones de hibridación entre *P. alba*, *P. nigra* y *P. hassleri*, en la región argentina del Chaco.

De esta manera, las relaciones genéticas observadas a nivel de cloroplasto y núcleo entre las poblaciones de *P. laevigata* y *P. glandulosa* (CCI), podrían deberse al flujo génico interespecífico. En conjuntos de especies de la sección Algarobia, como *P. alba*, *P. nigra*, *P. chilensis* y *P. flexuosa* se ha propuesto un comportamiento como singameon dadas las relaciones genéticas entre poblaciones naturales de las especies (Joseau et al., 2013), patrón congruente con las relaciones genéticas observadas para el conjunto de *P. laevigata*, *P. glandulosa* y *P. juliflora*. Asimismo, se ha reportado que grupos de especies de reciente formación frecuentemente muestran sorteo incompleto de linajes (Maddison, 1997; Wendel y Doyle, 1998).

La hibridación también puede ocurrir de manera más frecuente en especies de reciente formación, en las cuales no existe un aislamiento reproductivo completo, por lo que por lo general es imposible distinguir entre procesos de hibridación y sorteo incompleto de linajes en análisis filogenéticos (Wendel y Doyle, 1998; Comes y Abbott, 2001).

Catalano et al. (2008), al evaluar los tiempos de divergencia en 30 especies de *Prosopis*, muestran la reciente divergencia entre *P. laevigata* (*P. tamaulipana*) y *P. juliflora* y *P. glandulosa*, donde las últimas dos especies se presentan cronológicamente más cercanas con un tiempo de divergencia de 3.65 Ma de *P. laevigata*. En el análisis filogeográfico para *P. laevigata* incluyendo a *P. glandulosa* y *P. juliflora*, se observó que la única población muestreada de cada una de estas dos especies mostró el haplotipo de mayor frecuencia en *P. laevigata* y la diferenciación genética a nivel de núcleo fue baja entre las

tres especies, evidenciando el posible contacto genético de las mismas. Desafortunadamente, con estos datos, tanto la hibridación como el sorteo incompleto de linajes pueden explicar dichos patrones. Como se ha mencionado, existen eventos de hibridación documentados en poblaciones naturales entre *P. laevigata* y *P. glandulosa*, dado que existen zonas de contacto entre ambas especies (Rzedowski, 1988; Galindo-Almanza et al., 1992; Palacios, 2006). Sin embargo, la distribución de *P. juliflora*, se presenta por la costa del Pacífico, y no existen zonas de contacto evidentes con poblaciones de *P. laevigata*.

La reciente divergencia entre dichas especies pudiese mantener un patrón de retención de polimorfismos ancestrales (Jakob y Blatter, 2006), y de esta manera generar incongruencias filogenéticas (Mason-Gamer et al., 1995; Comes y Abbott, 2001; Linder y Rieseberg, 2004). En este sentido, la evaluación de caracteres morfológicos y genéticos en conjunto, así como la proyección del nicho ecológico para cada una de las tres especies sería información relevante en la evaluación de las relaciones filogenéticas de las mismas, pudiendo arrojar información sobre las tendencias evolutivas del género *Prosopis* en Norteamérica.

VIII.- CONCLUSIONES

1) *Prosopis laevigata* presenta altos valores de diversidad genética nuclear medida con microsatélites ($H_e= 0.574$), niveles comparables a otras especies de fabáceas y especies arbóreas y congruentes con especies leñosas de larga vida, con exocruzamiento, números poblacionales altos y de amplia distribución.

2) Al analizar los valores de endogamia, el análisis de corrección mostró un gran sesgo por la incidencia de alelos nulos, sin embargo los valores corregidos de endogamia son congruentes con la capacidad de autocruzamiento y los patrones de polinización reportada para la especie así como para otras especies de la sección Algarobia.

3) El análisis de estructura genética nuclear reflejó valores moderados de estructura entre las poblaciones a través del gradiente de distribución. Los análisis de estructura genética nuclear con microsatélites mostraron que las mutaciones por pasos contribuyen a la diferenciación poblacional.

5) Se encontró una alta incidencia de alelos de microsatélites nucleares en baja frecuencia y un nulo aislamiento por distancia. Los patrones de diferenciación genética muestran evidencia de una expansión poblacional reciente de las poblaciones de *P. laevigata*, en la cual la moderada diferenciación genética se podría explicar como resultado de un limitado flujo génico entre poblaciones al concluir la expansión poblacional.

7) Al analizar la estructura genética nuclear desde un enfoque bayesiano se observó una alta conectividad genética entre las poblaciones de *P. laevigata*, a excepción de las poblaciones

de la Depresión del Balsas, para las cuales se hipotetiza un aislamiento del resto de las poblaciones, patrón evidenciado en los resultados de los F_{ST} pareados.

8) Las poblaciones de FUE (*P. juliflora*) y CCI (*P. glandulosa*), mostraron proporciones de ancestría similares a las poblaciones del resto de la distribución. Dicho patrón es congruente con estudios previos para especies de la sección Algarobia en Mexico y Argentina para los cuales se ha reportado una alta capacidad de hibridación entre las especies de la sección. Sumado a esto, se ha reportado una alta capacidad de hibridación en poblaciones naturales de *P. laevigata* y *P. glandulosa* al norte de San Luis Potosí.

9) El análisis filogeográfico con el cloroplasto mostró, al igual que el análisis de genética poblacional nuclear, evidencia de una reciente expansión demográfica. Esto, demostrado en los valores de demografía histórica como la D de Tajima, la F_s de Fu, el análisis mismatch, el enfoque bayesiano de demografía histórica así como la configuración de la red de haplotipos y los valores de estructura genética y filogeográfica.

10) Los resultados de una reciente expansión demográfica y de área de distribución muestran congruencia con la capacidad de colonización de suelos pobres, alta resistencia al estrés hídrico y altas tasas de germinación reportada para especies de *Prosopis*.

11) La dispersión de semillas de *P. laevigata* es principalmente atribuida a cursos de agua y mamíferos, entre estos los humanos, convirtiéndose en vectores altamente eficientes de semillas de *Prosopis* desde las primeras fases de ocupación del país y de esta manera catalizando el proceso de expansión de rango.

12) Existen pocos estudios acerca de la distribución de la diversidad genética y la historia evolutiva reciente en especies del genero *Prosopis* para el complejo norteamericano. La

evaluación de la distribución de la diversidad genética así como el conocimiento de la historia evolutiva reciente es de vital importancia para el uso racional y sustentable de las especies del género *Prosopis* dado su amplio potencial de aprovechamiento y su importancia ecológica en zonas áridas del país.

LITERATURA CITADA

- Aguirre-Planter, E., Furnier, G. R., & Eguiarte, L. E. (2000). Low levels of genetic variation within and high levels of genetic differentiation among populations of species of *Abies* from southern Mexico and Guatemala. *American Journal of Botany*. 87(3), 362-371.
- Al-Rawahy, S., Al-Dhafri, K., & Al-Bahlany, S. (2003). Germination, growth and drought resistance of native and alien plant species of the genus *Prosopis* in the sultanate of Oman. *Asian J. Plant Science*. 2, 1020-1023.
- Arakaki, M., Christin, P. A., Nyffeler, R., Lendel, A., Eggli, U., Ogburn, R. M., & Edwards, E. J. (2011). Contemporaneous and recent radiations of the world's major succulent plant lineages. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 108(20), 8379-8384.
- Austerlitz, F., Jung-Muller, B., Godelle, B., & Gouyon, P. H. (1997). Evolution of coalescence times, genetic diversity and structure during colonization. *Theoretical Population Biology*. 51(2), 148-164.
- Avise, J. C. (1994). *Molecular markers, natural history and evolution*. Chapman and Hall, Nueva York.
- Avise, J. C. (2000). *Phylogeography: The history and formation of species*. Harvard University Press, Londres.
- Avise, J. C., Walker, D., & Johns, G. C. (1998). Speciation durations and Pleistocene effects on vertebrate phylogeography. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*. 265(1407), 1707-1712.
- Avise, J. C., J. Arnold, Ball, R. M.; Bermingham, E., Lamb, T., Neigel, J. E., Reeb, C. A., y Saunders, N.C. (1987). Intraspecific phylogeography: The mitochondrial DNA bridge between population genetic and systematics. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 18: 489-522
- Becerra, J. X. (2005). Timing the origin and expansion of the Mexican tropical dry forest. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 102(31), 10919-10923.
- Becerra, J. X., & Venable, D. L. (1999). Macroevolution of insect-plant associations: the relevance of host biogeography to host affiliation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 96(22), 12626-12631.
- Beraldi-Campesi, H., Cevallos-Ferriz, S. R., Centeno-García, E., Arenas-Abad, C., & Fernández, L. P. (2006). Sedimentology and paleoecology of an Eocene-Oligocene alluvial-lacustrine arid system, Southern Mexico. *Sedimentary Geology*. 191(3), 227-254.
- Besega, C., Ferreyra, L., Julio, N. Montoya, S., Saidman, B., & Vilardi, J. C. (2000). Mating system parameters in species of genus *Prosopis* (Leguminosae). *Hereditas*. 132 (1). 19-27.

- Bessega, C., Vilardi, J. C., & Saidman, B. O. (2006). Genetic relationships among American species of the genus *Prosopis* (Mimosoideae, Leguminosae) inferred from ITS sequences: evidence for long-distance dispersal. *Journal of Biogeography*. 33(11), 1905-1915.
- Bradbury, J. P. (2000). Limnologic history of Lago de Patzcuaro, Michoacán, Mexico for the past 48,000 years: impacts of climate and man. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*. 163(1), 69-95.
- Burkart, A. (1976). A monograph of the genus *Prosopis* (Leguminosae subfam. Mimosoideae). *Journal of the Arnold Arboretum*. 57(3), 219-249.
- Caballero, M., Lozano-García, S., Vázquez-Selem, L., & Ortega, B. (2010). Evidencias de cambio climático y ambiental en registros glaciales y en cuencas lacustres del centro de México durante el último máximo glacial. *Boletín de la Sociedad Geológica Mexicana*. 62(3), 359-377.
- Campos, C. M., & Ojeda, R. A. (1997). Dispersal and germination of *Prosopis flexuosa* (Fabaceae) seeds by desert mammals in Argentina. *Journal of Arid Environments*. 35(4), 707-714.
- Carnaval, A. C., Hickerson, M. J., Haddad, C. F., Rodrigues, M. T., & Moritz, C. (2009). Stability predicts genetic diversity in the Brazilian Atlantic forest hotspot. *Science*. 323(5915), 785-789.
- Casas, A., del Carmen Vázquez, M., Viveros, J. L., & Caballero, J. (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), 455-478.
- Castoe, T. A., Spencer, C. L., & Parkinson, C. L. (2007). Phylogeographic structure and historical demography of the western diamondback rattlesnake (*Crotalus atrox*): a perspective on North American desert biogeography. *Molecular phylogenetics and evolution*. 42(1), 193-212.
- Catalano, S. A., Vilardi, J. C., Tosto, D., & Saidman, B. O. (2008). Molecular phylogeny and diversification history of *Prosopis* (Fabaceae: Mimosoideae). *Biological Journal of the Linnean Society*. 93(3), 621-640.
- Cates, R.G. & Rhoades D.F. 1977. *Prosopis* leaves as a resource for insects, p. 61-83. In: B.B. Simpson (ed.) Mesquite: Its biology in two desert ecosystems. Dowden, Hutchinson & Ross, Inc., Stroudsburg, Penn.
- Cervantes Ramírez, M. C., & Ramírez, M. C. C. (2002). *Plantas de importancia económica en las zonas áridas y semiáridas de México*. 1. 5.3 (No. 917.2 T4/1.5. 3).
- Chapuis, M. P., & Estoup, A. (2007). Microsatellite null alleles and estimation of population differentiation. *Molecular biology and evolution*. 24(3), 621-631.
- Chybicki, I. J., & Burczyk, J. (2009). Simultaneous estimation of null alleles and inbreeding coefficients. *Journal of Heredity*. 100(1), 106-113.

- Clark, P.U, Dyke, A.S, Shakun, J.D., Carlson, A.E., Clark, J., Wohlfarth, B., Mitrovica, J.X., Hostetler, S.W and McCabe, A.M. (2009). The Last Glacial Maximum. *Science*, 325, 710-714.
- Clement, M., Posada, D. C. K. A., & Crandall, K. A. (2000). TCS: a computer program to estimate gene genealogies. *Molecular ecology*. 9(10), 1657-1659.
- Colinvaux, P. A., De Oliveira, P. E., Moreno, J. E., Miller, M. C., & Bush, M. B. (1996). A long pollen record from lowland Amazonia: forest and cooling in glacial times. *Science*. 274(5284), 85-88.
- Comes, H. P., & Abbott, R. J. (2001). Molecular phylogeography, reticulation, and lineage sorting in Mediterranean *Senecio* sect. *Senecio* (Asteraceae). *Evolution*, 55(10), 1943-1962.
- Contreras-Negrete, G., Ruíz-Durán, M. E., Cabrera-Toledo, D., Casas, A., Vargas, O., & Parra, F. (2015). Genetic diversity and structure of wild and managed populations of *Polaskia chende* (Cactaceae) in the Tehuacán-Cuicatlán Valley, Central Mexico: insights from SSR and allozyme markers. *Genetic Resources and Crop Evolution*. 62(1), 85-101.
- Corcuera M., P. & Butterfield J. L. ,(1999). Bird communities of dry forest and oak woodland of western Mexico. *Ibis*. 141:240-255
- Cowan, C. W., & Watson, P. J. (1992). The origin of agriculture. An international perspective. Some concluding remarks. *Smithsonian Institution*, 207-212.
- Curtis, H., & Schnek, A. (2008). *Curtis. Biología*. Ed. Médica Panamericana.
- Dayanandan, S., Dole, J., Bawa, K. S., & Kesseli, R. (1999). Population structure delineated with microsatellite markers in fragmented populations of a tropical tree, *Carapa guianensis* (Meliaceae). *Molecular Ecology*., 8(10), 1585-1592.
- de Noir, F. A., Bravo, S., & Abdala, R. (2002). Mecanismos de dispersión de algunas especies de leñosas nativas del Chaco Occidental y Serrano. *Quebracho*. 9, 140-150.
- de Tapia, E. M., Yrizar, D. M., Morales, E. I., & Morán, C. C. A. (2014). Los orígenes prehispánicos de una tradición alimentaria en la cuenca de México. In *Anales de Antropología*. Vol. 48, No. 1, pp. 97-121
- Dempster, A. P., Laird, N. M., & Rubin, D. B. (1977). Maximum likelihood from incomplete data via the EM algorithm. *Journal of the royal statistical society. Series B (methodological)*, 1-38.
- Dick C.W., Hardy O.J., Jones F.A., & Petit R.J. (2008). Spatial scales of pollen and seed- mediated gene flow in lowland tropical rain forest trees. *Tropical Plant Biology*. 1: 20-33
- Doligez, A., & Joly, H. I. (1997). Genetic diversity and spatial structure within a natural stand of a tropical forest tree species, *Carapa procera* (Meliaceae), in French Guiana. *Heredity*. 79(1), 72-82.

- Domínguez-Domínguez, O., y Vázquez-Domínguez, E. 2009. Filogeografía: aplicaciones en taxonomía y conservación. *Animal Biodiversity and Conservation*, 32(1), 59-70.
- Drummond, A. J., & Rambaut, A. (2007). BEAST: Bayesian evolutionary analysis by sampling trees. *BMC evolutionary biology*. 7(1), 214.
- Drummond, A. J., Rambaut, A., Shapiro, B. & Pybus, O. G. (2005). Bayesian coalescent inference of past population dynamics from molecular sequences. *Molecular biology and evolution*., 22(5), 1185-1192.
- Dupanloup, I., Schneider, S., & Excoffier, L. (2002). A simulated annealing approach to define the genetic structure of populations. *Molecular Ecology*. 11(12), 2571-2581.
- Duran, K. L., Lowrey, T. K., Parmenter, R. R., & Lewis, P. O. (2005). Genetic diversity in Chihuahuan Desert populations of creosotebush (Zygophyllaceae: *Larrea tridentata*). *American journal of botany*. 92(4), 722-729.
- Eguiarte, J.L. 1999. Una guía para principiantes a la genética de poblaciones. Ciencias. UNAM
- Evanno, G., Regnaut, S., & Goudet, J. (2005). Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Molecular ecology*. 14(8), 2611-2620.
- Excoffier, L., Foll, M., & Petit, R. J. (2009). Genetic consequences of range expansions. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 40, 481-501.
- Excoffier, L., Laval, G., & Schneider, S. (2005). Arlequin (version 3.0): an integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary bioinformatics online*. 1, 47.
- Excoffier, L., Smouse, P. E., & Quattro, J. M. (1992). Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics*, 131(2), 479-491.
- Fehlberg, S. D., & Ranker, T. A. (2009). Evolutionary history and phylogeography of *Encelia farinosa* (Asteraceae) from the Sonoran, Mojave, and Peninsular Deserts. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 50(2), 326-335.
- Ferreira, L. I., Vilardi, J. C., Tosto, D. S., Julio, N. B., & Saidman, B. O. (2010). Adaptive genetic diversity and population structure of the “algarrobo” [*Prosopis chilensis* (Molina) Stuntz] analysed by RAPD and isozyme markers. *European journal of forest research*, 129(6), 1011-1025.
- Flannery, K. V. (1968). Archaeological systems theory and early Mesoamerica. *Anthropological archaeology in the Americas*, 67, 87.
- Frankham, R. (1996). Relationship of genetic variation to population size in wildlife. *Conservation Biology*, 1500-1508.
- Freeland, J. R., 2005. Molecular ecology. John Wiley and Sons, England.

- Fulbright, T.E., Kuti, J.O. & Tipton, A.R. 1995. Effects of nurse plant canopy temperatures on shrub seed germination and seedling growth *Acta Oecol.* 16: 621-632.
- Futuyma, D.J. 2009. *Evolution*. Sinauer Associates.
- Galindo Almanza, S. et al. 1992 Potencial de hibridación natural en el mezquite (*Prosopis laevigata* y *P. glandulosa* var. *torreyana*, Leguminosae) de la Altiplanicie de San Luis Potosí. *Acta Bot. Mex.*, (20), 101-117.
- Gardner, S. M., Cabido, M. R., Valladares, G. R., & Diaz, S. (1995). The influence of habitat structure on arthropod diversity in Argentine semi-arid Chaco forest. *Journal of Vegetation Science*, 6(3), 349-356.
- Garrick, R. C., Nason, J. D., Meadows, C. A., & Dyer, R. J. (2009). Not just vicariance: phylogeography of a Sonoran Desert euphorb indicates a major role of range expansion along the Baja peninsula. *Molecular Ecology*, 18(9), 1916-1931.
- Gavin, D. G., Fitzpatrick, M. C., Gugger, P. F., Heath, K. D., Rodríguez-Sánchez, F., Dobrowski, S. Z., ... & Williams, J. W. (2014). Climate refugia: joint inference from fossil records, species distribution models and phylogeography. *New Phytologist*, 204(1), 37-54.
- Genise, J. F., & Bown, T. M. (1994). New Miocene scarabeid and hymenopterous nests and Early Miocene (santacrucian) paleoenvironments, Patagonian Argentina. *Ichnos: An International Journal of Plant & Animal*, 3(2), 107-117.
- Genise, J., Palacios, R. A., Hoc, P. S., Carrizo, R., Moffat, L., Mom, M. P., & Torregrosa, S. (1990). Observaciones sobre la biología floral de *Prosopis* (Leguminosae, Mimosoideae). II. Fases florales y visitantes en el Distrito Chaqueño Serrano. *Darwiniana*, 71-85.}
- Germano, D. J., & Hungerford, C. R. (1981). Reptile population changes with manipulation of Sonoran Desert shrub. *The Great Basin Naturalist*, 129-138.
- Golubov, J., Eguiarte, L. E., Mandujano, M. C., López-Portillo, J., & Montaña, C. (1999). Why be a honeyless honey mesquite? Reproduction and mating system of nectarful and nectarless individuals. *American Journal of Botany*, 86(7), 955-963.
- Golubov, J., Mandujano, M. C., & Eguiarte, L. E. (2001). The Paradox of Mesquites (*Prosopis* spp): Invading Species or Biodiversity Enhancers?. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, (69), 23-30.
- González-Rodríguez, A., Bain, J. F., Golden, J. L., & Oyama, K. (2004). Chloroplast DNA variation in the *Quercus affinis*-*Q. laurina* complex in Mexico: geographical structure and associations with nuclear and morphological variation. *Molecular Ecology*, 13(11), 3467-3476.
- Good-Avila, S. V., Souza, V., Gaut, B. S., & Eguiarte, L. E. (2006). Timing and rate of speciation in *Agave* (Agavaceae). *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(24), 9124-9129.

- Gutiérrez-Rodríguez, C., Ornelas, J. F., & Rodríguez-Gómez, F. (2011). Chloroplast DNA phylogeography of a distylous shrub (*Palicourea padifolia*, Rubiaceae) reveals past fragmentation and demographic expansion in Mexican cloud forests. *Molecular phylogenetics and evolution*, 61(3), 603-615.
- Hall, T. A. (1999, January). BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. In *Nucleic acids symposium series* (Vol. 41, pp. 95-98).
- Hamrick, J. L., Godt, M. J. W., & Sherman-Broyles, S. L. (1992). Factors influencing levels of genetic diversity in woody plant species. In *Population genetics of forest trees* (pp. 95-124). Springer Netherlands.
- Harding, R. M. 1996. New phylogenies: An introductory look at the coalescent, pp. 15-22. En: Harvey, P. H., A. J. Leigh Brown, J. Maynard Smith y S. Nee (eds.), *New uses for new phylogenies*, Oxford University Press, Nueva York.
- Hardy, M. E., Grady, J. M. and Routman, E. J. 2002. Intraspecific phylogeography of the slender madtom: the complex evolutionary history of the Central Highlands of United States. *Molecular Ecology*, 11: 2393–2403.
- Hardy, O. J., & Vekemans, X. (2002). SPAGeDi: a versatile computer program to analyse spatial genetic structure at the individual or population levels. *Molecular ecology notes*, 2(4), 618-620.
- Harris, H., D. A. Hopkinson, And E. B. Robson. 1974. The incidence of rare alleles determining electrophoretic variants: data on 43 enzyme loci in man. *Ann. Human Genet.* 37~237-253.
- Hedrick P.W .2005. *Genetics of Populations*, 4th edn. Jones and Bartlett Publishers, Sudbury
- Hedrick, P. W. (1995). Gene flow and genetic restoration: the Florida panther as a case study. *Conservation Biology*, 9(5), 996-1007.
- Hensen, I., A. Cierjacks, H. Hirsch, M. Kessler, K. Romoleroux, D. Renison, et al., 2011. Historic and recent fragmentation coupled with altitude affect the genetic population structure of one of the world's highest tropical tree line species. *Glob. Ecol. Biogeogr.* 21:455–464
- Hewitt, C. L., Willing, J., Bauckham, A., Cassidy, A. M., Cox, C. M., Jones, L., & Wotton, D. M. (2004). New Zealand marine biosecurity: delivering outcomes in a fluid environment. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research*, 38(3), 429-438.
- Hewitt, G. M. (1996). Some genetic consequences of ice ages, and their role in divergence and speciation. *Biological journal of the Linnean Society*, 58(3), 247-276.
- Hewitt, G.M .2001. Speciation, hybrid zones and phylogeography or seeing genes in space and time. *Molecular ecology*, 10(3), 537-549.

- Holmgren, M., Stapp, P., Dickman, C. R., Gracia, C., Graham, S., Gutiérrez, J. R., ... & Squeo, F. A. (2006). Extreme climatic events shape arid and semiarid ecosystems. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 4(2), 87-95.
- Huang, S. F., Hwang, S. Y., Wang, J. C., & Lin, T. P. (2004). Phylogeography of *Trochodendron aralioides* (Trochodendraceae) in Taiwan and its adjacent areas. *Journal of Biogeography*, 31(8), 1251-1259.
- Jakob SS and Blattner FR (2006). A chloroplast genealogy of *Hordeum* (Poaceae): 13 long-term persisting haplotypes, incomplete lineage sorting, regional extinction, and the consequences for phylogenetic inference. *Mol. Biol. Evol.* 23: 1602-1612
- Janzen, D. H., & Martin, P. S. (1982). Neotropical anachronisms: the fruits the gomphotheres ate. *Science*, 215(4528), 19-27.
- Jaramillo-Correa, J. P., Aguirre-Planter, E. R. I. K. A., Khasa, D. P., Eguiarte, L. E., Pinero, D., Furnier, G. R., & Bousquet, J. (2008). Ancestry and divergence of subtropical montane forest isolates: molecular biogeography of the genus *Abies* (Pinaceae) in southern México and Guatemala. *Molecular Ecology*, 17(10), 2476-2490.
- Johnston, M. C. (1962). The North American Mesquites *Prosopis* Sect. *Algarobia* (Leguminosae). *Brittonia*, 14(1), 72-89.
- Joseau, M. J., Verga, A. R., del Pilar Díaz, M., & Julio, N. B. (2013). Morphological Diversity of Populations of the Genus *Prosopis* in the Semiarid Chaco of Northern Cordoba and Southern Santiago Del Estero. *American Journal of Plant Sciences*, 4(11), 2092.
- Juárez-Muñoz, J., Carrillo-Castañeda, G., & Rubluo, A. (2006). Polymorphism determination in two natural mezquite (*Prosopis laevigata*) populations using RAPD. *Biotechnol. Apl*, 23, 229-235.
- Keinan, A., Mullikin, J. C., Patterson, N., & Reich, D. (2007). Measurement of the human allele frequency spectrum demonstrates greater genetic drift in East Asians than in Europeans. *Nature genetics*, 39(10), 1251-1255.
- Klak C, Reeves G, Hedderson T. 2003. Unmatched tempo of evolution in Southern African semi-desert ice plants. *Nature* 427: 63–65
- Koscinski, D., Handford, P., Tubaro, P. L., Sharp, S., & Loughheed, S. C. (2008). Pleistocene climatic cycling and diversification of the Andean treefrog, *Hypsiboas andinus*. *Molecular Ecology*, 17(8), 2012-2025.
- Lanteri, A. y Confalonieri, V. 2003. Filogeografía: objetivos, métodos y ejemplos. In: *Una perspectiva latinoamericana de la biogeografía*: 185–194 (J. J. Morrone y J. Llorente, Eds.). CONABIO, México.
- Lefranc, I. and Guiraud, R., 1990. The Continental intercalaire of the Northwestern Sahara and its equivalents in the neighbouring regions. In: CA. Kogbe and I. Lang (Editors), *African Continental Phanerozoic Sediments*. 1. Afr. Earth Sci., 10(1/2): 27-77.

- Librado, P., & Rozas, J. (2009). DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics*, 25(11), 1451-1452.
- Linder, C. R., & Rieseberg, L. H. (2004). Reconstructing patterns of reticulate evolution in plants. *American journal of botany*, 91(10), 1700-1708.
- Loveless, M. D., & Hamrick, J. L. (1984). Ecological determinants of genetic structure in plant populations. *Annual review of ecology and systematics*, 65-95.
- Lozano-Arc a, M. S., Ortega-Guerrero, B., Caballero-Miranda, M., & Urrutia-Fucugauchi, J. (1993). Late Pleistocene and Holocene paleoenvironments of Chalco lake, central Mexico. *Quaternary Research*, 40(3), 332-342.
- Lozano-Arc a, M. S., Ortega-Guerrero, B., Caballero-Miranda, M., & Urrutia-Fucugauchi, J. (1993). Late Pleistocene and Holocene paleoenvironments of Chalco lake, central Mexico. *Quaternary Research*, 40(3), 332-342.
- Lozano-García, M., & Ortega-Guerrero, B. (1998). Late Quaternary environmental changes of the central part of the Basin of Mexico; correlation between Texcoco and Chalco basins. *Review of Palaeobotany and Palynology*, 99(2), 77-93.
- Lozano-García, S. (1996). La vegetación del Cuaternario tardío en el centro de México: registros palinológicos e implicaciones paleoclimáticas. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, 58, 113-127.
- Lozano-García, S., Sosa-Nájera, S., Sugiura, Y., & Caballero, M. (2005). 23,000 yr of vegetation history of the Upper Lerma, a tropical high-altitude basin in Central Mexico. *Quaternary Research*, 64(1), 70-82.
- Luna-Vega, I. (2008). Aplicaciones de la biogeografía histórica a la distribución de las plantas mexicanas. *Revista mexicana de biodiversidad*, 79(1), 217-241.
- MacNeish, Richard S., Frederick A. Peterson y James A. Neely 1972. "The Archaeological Reconnaissance", en R. S. MacNeish (ed.), *Excavations and Reconnaissance. The Prehistory of the Tehuacán Valley*, vol. 5, Austin, The University of Texas Press/R. S. Peabody Foundation, pp. 341-495.
- Maddison, W. P. (1997). Gene trees in species trees. *Systematic biology*, 46(3), 523-536.
- Mandujano, M. C., Flores-Martínez, A., Golubov, J., & Ezcurra, E. (2002). Spatial distribution of three globose cacti in relation to different nurse-plant canopies and bare areas. *The Southwestern Naturalist*, 162-168.
- Mantel, N. (1967). The detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer research*, 27(2 Part 1), 209-220.
- Maruyama, T., & Fuerst, P. A. (1984). Population bottlenecks and nonequilibrium models in population genetics. I. Allele numbers when populations evolve from zero variability. *Genetics*, 108(3), 745-763.

- Mason-Gamer, R. J., Holsinger, K. E., & Jansen, R. K. (1995). Chloroplast DNA haplotype variation within and among populations of *Coreopsis grandiflora* (Asteraceae). *Molecular Biology and Evolution*, 12(3), 371.
- Masuelli, R. S., & Balboa, O. (1989). Self-incompatibility in *Prosopis flexuosa*. *Plant Cell Incompatibility Newsletter*, 21, 44-48.
- McGinnies, W. G. (1979). Arid-land ecosystems—common features throughout the world. *Arid-land ecosystems: structure, functioning, and management*, 1, 299-316.
- Medrano, F. G. (2012). *Las zonas áridas y semiáridas de México y su vegetación*. Instituto Nacional de Ecología.
- Metcalf, S. E. (2006). Late Quaternary Environments Of The Northern Deserts And Central Transvolcanic Belt Of Mexico 1. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 93(2), 258-273
- Metcalf, S. E., O'Hara, S. L., Caballero, M., & Davies, S. J. (2000). Records of Late Pleistocene–Holocene climatic change in Mexico—a review. *Quaternary Science Reviews*, 19(7), 699-721.
- Moore, M. J., & Jansen, R. K. (2006). Molecular evidence for the age, origin, and evolutionary history of the American desert plant genus *Tiquilia* (Boraginaceae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 39(3), 668-687.
- Morafka, D. J. (1989). An Interdisciplinary Definition of North America's Chihuahuan Desert: Is It Desirable and Obtainable?. In *Yearbook. Conference of Latin Americanist Geographers* (pp. 23-34). Louisiana State University.
- Morafka, D. J., Adest, G. A., Reyes, L. M., Aguirre, G., & Lieberman, S. S. (1992). Differentiation of North American deserts: a phylogenetic evaluation of a vicariance model. *Tulane Studies in Zoology and Botany, Supplementary Publication*, 1, 195-226.
- Mottura M., Finkeldey R., Verga A. and Gailing O. (2005). Development and characterization of microsatellite markers for *Prosopis chilensis* and *Prosopis flexuosa* and cross-species amplification. *Molecular ecology notes*. 5, 487–489
- Nason, J. D., Hamrick, J. L., & Fleming, T. H. (2002). Historical vicariance and postglacial colonization effects on the evolution of genetic structure in *Lophocereus*, a Sonoran Desert columnar cactus. *Evolution*, 56(11), 2214-2226.
- Nei, M. (1978). Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics*, 89(3), 583-590.
- Nei, M. (1987). *Molecular evolutionary genetics*. Columbia university press.
- Omondi, S. F., Kireger, E., Dangasuk, O. G., Chikamai, B., Odee, D. W., Cavers, S., & Khasa, D. P. (2010). Genetic diversity and population structure of *Acacia senegal* (L) Willd. in Kenya. *Tropical Plant Biology*, 3(1), 59-70.

- Otero-Arnaiz, A., Casas, A., Hamrick, J. L., & Cruse-Sanders, J. (2005). Genetic variation and evolution of *Polaskia chichipe* (Cactaceae) under domestication in the Tehuacán Valley, central Mexico. *Molecular Ecology*, *14*(6), 1603-1611.
- Otero-Arnaiz, A., Schnabel, A., Glenn, T. C., Schable, N. A., Hagen, C., & Ndong, L. (2005). Isolation and characterization of microsatellite markers in the East African tree, *Acacia brevispica* (Fabaceae: Mimosoideae). *Molecular ecology notes*, *5*(2), 366-368.
- Palacios, R. A. (2006). Los mezquites mexicanos: biodiversidad y distribución geográfica. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica*, *41*(1-2), 99-121.
- Parra, F., Casas, A., Rocha, V., González-Rodríguez, A., Arias-Montes, S., Rodríguez-Correa, H., & Tovar, J. (2014). Spatial distribution of genetic variation of *Stenocereus pruinosus* (Otto) Buxb. in Mexico: analysing evidence on the origins of its domestication. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 1-20.
- Pasiecznik, N. M., & Felker, P. (2001). *The 'Prosopis Juliflora'-'Prosopis Pallida' Complex: A Monograph* (p. 172). Coventry: HDRA.
- Peakall, R. O. D., & Smouse, P. E. (2006). GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular ecology notes*, *6*(1), 288-295.
- Petit, R. J., Csaikl, U. M., Bordács, S., Burg, K., Coart, E., Cottrell, J., & Kremer, A. (2002). Chloroplast DNA variation in European white oaks: phylogeography and patterns of diversity based on data from over 2600 populations. *Forest Ecology and Management*, *156*(1), 5-26.
- Pohill, R. M., Raven, P. H., & Stirton, C. H. (1981). Evolution and systematics of the Leguminosae. *Advances in legume systematic., part, 1*, 1-26.
- Pons, O., & Petit, R. J. (1996). Measuring and testing genetic differentiation with ordered versus unordered alleles. *Genetics.*, *144*(3), 1237-1245.
- Posada, D. (2008). jModelTest: phylogenetic model averaging. *Molecular biology and evolution.*, *25*(7), 1253-1256.
- Posada, D., and Crandall, K. A. .2001. Intraspecific gene genealogies: trees grafting into networks. *Trends in Ecology & Evolution*, *16*(1), 37-45.
- Pritchard, J. K., Stephens, M., & Donnelly, P. (2000). Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, *155*(2), 945-959.
- Provan, J., & Bennett, K. D. (2008). Phylogeographic insights into cryptic glacial refugia. *Trends in ecology & evolution.*, *23*(10), 564-571.
- Pybus, O. G., Rambaut, A., & Harvey, P. H. (2000). An integrated framework for the inference of viral population history from reconstructed genealogies. *Genetics.*, *155*(3), 1429-1437.
- Rambaut, A., & Drummond, A. (2009). FigTree v1. 3.1.

- Rambaut, A., & Drummond, A.J., 2009. Tracer v1.5. <<http://beast.bio.ed.ac.uk/Tracer>>
- Ramírez-Arriaga, E., Prámparo, M. B., Martínez-Hernández, E., & Valiente-Baunet, A. (2006). Palynology of the Paleogene Cuayuca Formation (stratotype sections), southern Mexico: Chronostratigraphical and palaeoecological implications. *Review of Palaeobotany and Palynology*, 141(3), 259-275.
- Ramírez-Barahona, S., & 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(3), 725-738.
- Ramírez-Barahona, S., & 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(3), 725-738.
- Rebernick, C. A., Schneeweiss, G. M., Bardy, K. E., Schoenswetter, P., Villasenor, J. L., Obermayer, R., & Weiss-Schneeweiss, H. (2010). Multiple Pleistocene refugia and Holocene range expansion of an abundant southwestern American desert plant species (*Melampodium leucanthum*, Asteraceae). *Molecular Ecology*, 19(16), 3421-3443.
- Richardson, J. E., Weitz, F. M., Fay, M. F., Cronk, Q. C., Linder, H. P., Reeves, G., & Chase, M. W. (2001). Phylogenetic analysis of *Phyllanthus* L. (Rhamnaceae) with an emphasis on island species: evidence from plastid trnL-F and nuclear internal transcribed spacer (ribosomal) DNA sequences. *Taxon*, 405-427.
- Rogers, A. R. (1995). Genetic evidence for a Pleistocene population explosion. *Evolution*, 608-615.
- Rogers, A.R., & Harpending, H. (1992). Population growth makes waves in the distribution of pairwise genetic differences. *Molecular biology and evolution*, 9(3), 552-569.
- Rogers, E. M. (1995). Diffusion of Innovations: modifications of a model for telecommunications. *Die Diffusion von Innovationen in der Telekommunikation*, 17, 25-38.
- Ruiz-Guajardo, J. C., Otero-Arnaiz, A., Taylor, T., Stone, G., Glenn, T. C., Schable, N. A., & Schnabel, A. (2007). Isolation of polymorphic microsatellite markers in the sub-Saharan tree, *Acacia* (Senegalia) *mellifera* (Fabaceae: Mimosoideae). *Molecular ecology notes*, 7(6), 1138-1140.
- Ruiz-Sanchez, E., & Ornelas, J. F. (2014). Phylogeography of *Liquidambar styraciflua* (Altingiaceae) in Mesoamerica: survivors of a Neogene widespread temperate forest (or cloud forest) in North America? *Ecology and evolution*, 4(4), 311-328.
- Rzedowski, G. D., & Rzedowski, J. (2001). Flora fanerogámica del Valle de México, Instituto de Ecología y Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. Pátzcuaro, Michoacán, México.

- Rzedowski, J. E. R. Z. Y., Ramamoorthy, T. P., Bye, R. A., Lot, A., & Fa, J. E. (1993). Diversity and origins of the phanerogamic flora of Mexico. *Biological diversity of Mexico: origins and distribution.*, 129-144.
- Rzedowski, J. (1988). Análisis de la distribución geográfica del complejo *Prosopis* (Leguminosae, Mimosoideae) en Norteamérica. *Acta Botánica Mexicana.*, (3), 7-19.
- Saidman B.O, Vilardi J.C, Montoya S., Dieguez M.J., Hopp H.E. (1998). Molecular markers: a tool for the understanding of the relationships among species of *Prosopis* (Leguminosae, Mimosoideae). In: Puri S, ed. Tree improvement: applied research and technology transfer. Enfield, NH: Science Publishers, Inc., 324.
- Shama, L. N., Kubow, K. B., Jokela, J., & Robinson, C. T. (2011). Bottlenecks drive temporal and spatial genetic changes in alpine caddisfly metapopulations. *BMC evolutionary biology*, 11(1), 278.
- Shaw, J., Lickey, E. B., Schilling, E. E., & Small, R. L. (2007). Comparison of whole chloroplast genome sequences to choose noncoding regions for phylogenetic studies in angiosperms: the tortoise and the hare III. *American journal of botany*, 94(3), 275-288.
- Silva-Montellano, A., & Eguiarte, L. (2003). Geographic patterns in the reproductive ecology of *Agave lechuguilla* (Agavaceae) in the Chihuahuan desert. I. Floral characteristics, visitors, and fecundity. *American Journal of Botany*, 90(3), 377-387.
- Simpson, B. B. (1977). Mesquite, its biology in two desert shrub ecosystems. *Mesquite, its biology in two desert shrub ecosystems*.
- Simpson, B. B. and Solbrig, O.T. (1977). Introduction, en B.B. Simpson. Mesquite. Its biology in two Desert Scrub Ecosystems. US/IBP Synthesis Series 4. Dowden, Hutchinson and Ross, Inc. pp. 1-26.
- Slatkin, M., & Hudson, R. R. (1991). Pairwise comparisons of mitochondrial DNA sequences in stable and exponentially growing populations. *Genetics*, 129(2), 555-562.
- Soltis, D. E., Morris, A. B., McLachlan, J. S., Manos, P. S., & Soltis, P. S. (2006). Comparative phylogeography of unglaciated eastern North America. *Molecular ecology*, 15(14), 4261-4293.
- Sosa, V., Ruiz-Sanchez, E., & Rodriguez-Gomez, F. C. (2009). Hidden phylogeographic complexity in the Sierra Madre Oriental: the case of the Mexican tulip poppy *Hunnemannia fumariifolia* (Papaveraceae). *Journal of Biogeography*, 36(1), 18-27.
- Sosa-Nájera, M. S. (2001). Registro palinológico del Pleistoceno Tardío-Holoceno en el extremo meridional de la cuenca de México: paleoambientes e inferencias paleoclimáticas: México, DF, Universidad Nacional Autónoma de México. *Unpublished MSc thesis. Universidad Nacional Autónoma de México, México*.
- Sotuyo, S., Delgado-Salinas, A., Lewis, G. P., Chase, M. W., Ferrari, L., & Oyama, K. (2010). Filogeografía del complejo *Caesalpinia hintonii*: (Leguminosae: Caesalpinioideae: Poincianella). *Revista mexicana de biodiversidad*, 81(3), 883-894.

- Sousa, S., Delgado, S., Ramamoorthy, T. P., Bye, R., Lot, A., & Fa, J. (1993). Mexican Leguminosae: phylogeography, endemism, and origins. *Biological diversity of Mexico: origins and distribution.*, 459-511.
- Steenbergh, W. F., & Lowe, C. H. (1977). Ecology of the saguaro: II, Reproduction, germination, establishment, growth, and survival of the young plant. *Ecology of the Saguaro: II, Reproduction, Germination, Establishment, Growth, and Survival of the Young Plant.*
- Steenbergh, W. F., & Lowe, C. H. (1977). Ecology of the saguaro: II, Reproduction, germination, establishment, growth, and survival of the young plant. *Ecology of the Saguaro: II, Reproduction, Germination, Establishment, Growth, and Survival of the Young Plant.*
- Suzan, H., Nabhan, G. P., & Patten, D. T. (1994). Nurse plant and floral biology of a rare night-blooming cereus, *Peniocereus striatus* (Brandegee) F. Buxbaum. *Conservation Biology*, 8(2), 461-470.
- Tajima, F. (1989). The effect of change in population size on DNA polymorphism. *Genetics*, 123(3), 597-601.
- Tajima, F. 1983. Evolutionary relationship of DNA sequences in finite populations. *Genetics*, 105: 437-460
- Tamura, K., Dudley, J., Nei, M., & Kumar, S. (2007). MEGA4: molecular evolutionary genetics analysis (MEGA) software version 4.0. *Molecular biology and evolution*, 24(8), 1596-1599.
- Tarback, E. J., & Lutgens, F. K. (1999). Upper Earth: an Introduction to Physical Geology Saddle River, New Jersey, 6 édition, . Prentice Hall, 638 p. ISBN 0-13-974122-4. e.
- Tiedemann, A. R., & Klemmedson, J. O. (1973). Effect of mesquite on physical and chemical properties of the soil. *Journal of Range Management*, 27-29.
- Urrego, G. C., Olano, J. G., Calderón, K. J., & Cardozo, D. C (2005). Evidencias arqueológicas y megafauna extinta en un salado del Tardiglacial Superior. *Boletín de arqueología*, (20), 3-58.
- Valiente, A. 1996. “La conservación de los desiertos: un desafío”, *Ocelot. Revista mexicana de la conservación PRONATURA*, vol. 4, pp. 34–37.
- Van Devender, T. R. (1990). *Late quaternary vegetation and climate of the Chihuahuan Desert, United States and Mexico* (pp. 104-133). Tucson: University of Arizona Press.
- Van Devender, T. R., Sanders, A. C., Wilson, R. K., & Meyer, S. A. (2000). Vegetation, flora, and seasons of the Río Cuchujaqui, a tropical deciduous forest near Alamos, Sonora. *The tropical deciduous forest of Alamos: biodiversity of a threatened ecosystem in Mexico. The University of Arizona Press, Tucson*, 36-101.
- Vega, M. V., & Hernandez, P. (2005). Molecular evidence for natural interspecific hybridization in Prosopis. *Agroforestry systems*, 64(3), 197-202.

- Verboom G.A, Linder H.P, Stock W.D. (2003). Phylogenetics of the grass genus *Ehrharta*: evidence for radiation in the summer-arid zone of the South African cape. *Evolution* 57: 1008–1021
- Waiterson, G. A. (1986). The homozygosity test after a change in population size. *Genetics* 112: 899-907
- Wang A, Yang M, Liu J. (2005). Molecular phylogeny, recent radiation and evolution of gross morphology of the rhubarb genus *Rheum* (Polygonaceae) inferred from chloroplast DNA trnL-F sequences. *Annals of Botany* 96: 489–498.
- Weising, K., & 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), 9-19.
- Wendel, J. F., & Doyle, J. J. (1998). Phylogenetic incongruence: window into genome history and molecular evolution. In: *Molecular systematics of plants II* (pp. 265-296). Springer US.
- White G.M, Boshier D.H, Powell W. (1999). Genetic variation within a fragmented 16 population of *Swietenia humilis* Zucc. *Molecular Ecology*. 11: 1899–1910.
- Wisdom, C. S. (1991). Patterns of heterogeneity in desert herbivorous insect communities. *The ecology of desert communities*. University of Arizona Press, Tuscon, 151-179.
- Wolfe, K. H., Li, W. H., & Sharp, P. M. (1987). Rates of nucleotide substitution vary greatly among plant mitochondrial, chloroplast, and nuclear DNAs. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 84(24), 9054-9058.
- Wu, S. H., Hwang, C. Y., Lin, T. P., Chung, J. D., Cheng, Y. P., & Hwang, S. Y. (2006). Contrasting phylogeographical patterns of two closely related species, *Machilus thunbergii* and *Machilus kusanoi* (Lauraceae), in Taiwan. *Journal of Biogeography*, 33(5), 936-947.
- Ziegler, A. D., Sheffield, J., Maurer, E. P., Nijssen, B., Wood, E. F., & Lettenmaier, D. P. (2003). Detection of intensification in global-and continental-scale hydrological cycles: Temporal scale of evaluation. *Journal of Climate*, 16(3), 535-547.
- Zimmermann, H. G. (1991). Biological control of mesquite, *Prosopis* spp.(Fabaceae), in South Africa. *Agriculture, ecosystems & environment*., 37(1), 175-186.

ANEXOS



Anexo 1.- Distribución de *P. laevigata* (triángulos), *P. glandulosa* (cuadrados) y *P. juliflora* (círculos) en México. Tomado y modificado de Rzedowski (1988) y Palacios (2006)

Anexo 2. Matriz de distancias pareadas entre poblaciones de *P. laevigata* en México, calculadas mediante el estimador Fst corregido por alelos nulos mediante el método ENA.

Pob	NOV	IND	TUL	ANG	CAD	SMR	MAT	SAG	GOF	SAL	PAN	SMT	MEZ	VIC	LIN	AGS	CVE	HUI	MZC	CHA	TEX	FUE	CIE
NOV	0																						
IND	0.0206	0																					
TUL	0.0141	0.0341	0																				
ANG	0.0970	0.0701	0.1189	0																			
CAD	0.1326	0.1496	0.0878	0.2522	0																		
SMR	0.0555	0.0761	0.0239	0.2257	0.1086	0																	
MAT	0.1050	0.0914	0.0752	0.1931	0.0662	0.0866	0																
SAG	0.0667	0.0882	0.0647	0.1226	0.1795	0.0835	0.1839	0															
GOF	0.1487	0.1445	0.1859	0.1636	0.2970	0.3119	0.2317	0.2874	0														
SAL	0.0859	0.0476	0.0559	0.1223	0.1349	0.1316	0.0372	0.1462	0.1626	0													
PAN	0.0815	0.1341	0.0714	0.2422	0.1305	0.1331	0.0853	0.2220	0.2259	0.0816	0												
SMT	0.0697	0.0892	0.0730	0.2007	0.1257	0.1303	0.0582	0.2059	0.2011	0.0680	0.0230	0											
MEZ	0.1182	0.1093	0.0652	0.2639	0.1532	0.0125	0.1387	0.0972	0.3870	0.1509	0.2040	0.1834	0										
VIC	0.0388	0.0517	0.0026	0.1086	0.1241	0.0619	0.0663	0.0760	0.2149	0.0113	0.0709	0.0737	0.0846	0.0									
LIN	0.0485	0.0523	0.0180	0.1102	0.1215	0.0750	0.0485	0.1049	0.1964	0.0491	0.0847	0.0525	0.1097	0.0162	0.0								
AGS	0.1649	0.2059	0.1482	0.2757	0.2045	0.2162	0.1410	0.2402	0.3109	0.1650	0.1742	0.1522	0.2758	0.1646	0.1241	0							
CVE	0.0279	0.0829	0.0391	0.2013	0.1229	0.0439	0.0963	0.1101	0.2381	0.1167	0.0835	0.0480	0.1117	0.0597	0.0552	0.1587	0						
HUI	0.4454	0.4616	0.4191	0.5108	0.4545	0.4522	0.3914	0.4277	0.6052	0.3331	0.4261	0.4569	0.4708	0.3372	0.3784	0.4478	0.4516	0					
MZC	0.1607	0.1737	0.1413	0.2495	0.1535	0.1462	0.1827	0.1385	0.3350	0.1686	0.2332	0.2055	0.1385	0.1302	0.1502	0.2156	0.1247	0.3835	0				
CHA	0.0913	0.0948	0.0878	0.1645	0.1155	0.1258	0.0231	0.1809	0.1840	0.0660	0.1014	0.0536	0.1877	0.0614	0.0369	0.1673	0.0587	0.4645	0.1796	0			
TEX	0.1309	0.1467	0.1369	0.2399	0.0873	0.1462	0.0825	0.1774	0.2429	0.1259	0.1667	0.1271	0.2098	0.1280	0.1096	0.1940	0.0940	0.4854	0.1367	0.0292	0		
FUE	0.0721	0.1113	0.0564	0.2281	0.1223	0.1118	0.0609	0.1461	0.2524	0.0738	0.0768	0.0557	0.1362	0.0511	0.0223	0.0603	0.0367	0.4343	0.1176	0.0558	0.0701	0	
CIE	0.1569	0.2054	0.1481	0.2797	0.2380	0.2038	0.1219	0.2193	0.3165	0.0640	0.0970	0.1065	0.2192	0.0701	0.1117	0.1809	0.1383	0.3236	0.2374	0.1172	0.2027	0.0879	0