



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
INSTITUTO DE ECOLOGÍA
BIOLOGÍA EVOLUTIVA

ESTRUCTURA GENÉTICA Y DIVERGENCIA DE DOS ESPECIES DE OYAMEL
(*Abies*, Pinaceae) EN LA FAJA VOLCÁNICA TRANSMEXICANA

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

GUSTAVO IBRAHIM GILES PÉREZ

TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: DR. JUAN PABLO JARAMILLO CORREA
INSTITUTO DE ECOLOGÍA, UNAM

COMITÉ TUTOR: DR. LUIS ENRIQUE EGUIARTE FRUNS
INSTITUTO DE ECOLOGÍA, UNAM
DR. JUAN FRANCISCO ORNELAS RODRÍGUEZ
INSTITUTO DE ECOLOGÍA, A.C. (INECOL)

CIUDAD UNIVERSITARIA , CD. MX DICIEMBRE 2017



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 ECOLOGÍA
BIOLOGÍA EVOLUTIVA

ESTRUCTURA GENÉTICA Y DIVERGENCIA DE DOS ESPECIES DE OYAMEL
(*Abies*, Pinaceae) EN LA FAJA VOLCÁNICA TRANSMEXICANA

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

GUSTAVO IBRAHIM GILES PÉREZ

TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: DR. JUAN PABLO JARAMILLO CORREA
INSTITUTO DE ECOLOGÍA, UNAM

COMITÉ TUTOR: DR. LUIS ENRIQUE EGUIARTE FRUNS
INSTITUTO DE ECOLOGÍA, UNAM
DR. JUAN FRANCISCO ORNELAS RODRÍGUEZ
INSTITUTO DE ECOLOGÍA, A.C. (INECOL)

MÉXICO, CD. MX. DICIEMBRE 2017

Lic. Ivonne Ramirez Wence
Directora General de Administración Escolar, UNAM
Presente

Me permito informar a usted, que el Subcomité de Biología Evolutiva y Sistemática del Posgrado en Ciencias Biológicas, en su sesión ordinaria del día 05 de junio de 2017, aprobó el siguiente jurado para la presentación del examen para obtener el grado de **MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS** del alumno **GILES PÉREZ GUSTAVO IBRAHIM** con número de cuenta **305264059** con la tesis titulada " **ESTRUCTURA GENÉTICA Y DIVERGENCIA DE DOS ESPECIES DE OYAMEL (*Abies, Pinaceae*) EN LA FAJA VOLCÁNICA TRANSMEXICANA**", bajo la dirección del **DR. JUAN PABLO JARAMILLO CORREA**:

Presidente:	DR. ANTONIO GONZÁLEZ RODRÍGUEZ
Vocal:	DRA. ALICIA MASTRETTA YANES
Secretario:	DR. LUIS ENRIQUE EGUIARTE FRUNS
Suplente:	DR. LEV ORLANDO JARDÓN BARBOLLA
Suplente	DRA. ALEJANDRA CITLALLI MORENO LETELIER

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

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"

Cd. Universitaria, Cd. Mx., a 17 de noviembre de 2017


DR. ADOLFO GERARDO NAVARRO SIGÜENZA
COORDINADOR DEL PROGRAMA



AGRADECIMIENTOS INSTITUCIONALES

Al Posgrado en Ciencias Biológicas, UNAM.

A CONACyT por la beca otorgada para realizar mis estudios de maestría (CVU 631357); de igual manera al programa PAEP-UNAM por el apoyo económico otorgado que me permitió participar en el Congreso “Genomics and Forest Tree Genetics”, celebrado en Arcachon, Francia (30 de mayo – 3 de junio, 2016).

A los proyectos PAPIIT (IN208416) y CONACyT (153305) por el financiamiento del trabajo de campo y laboratorio.

Al Dr. Juan Pablo Jaramillo Correa, por dirigir la presente investigación y contribuir de manera significativa a mi formación académica, así como a los miembros del Comité Tutor, Dr. Luis Enrique Eguiarte Fruns y el Dr. Juan Francisco Ornelas Rodríguez, por su constante asesoría.

AGRADECIMIENTOS PERSONALES

A mi familia, pero especialmente a mi madre. Gracias por tu amor, tu ejemplo, tu esfuerzo, tus abrazos y por acompañarme en mi camino hacia la investigación. ¡Te quiero mucho!

A Miguel Ángel, por regalarme siempre una tarde de café, risas y caminatas, por el mensaje de texto momento antes de mi ponencia en Francia y por compartir conmigo todo lo que sabes y eres.

Al Dr. Juan Pablo Jaramillo, por brindarme su confianza, su tiempo y su conocimiento. Gracias también por llevarme a las ligas mayores.

A los miembros del jurado, el Dr. Antonio González Rodríguez, la Dra. Alicia Mastreta, al Dr. Luis Eguiarte, al Dr. Lev Jardón y la Dra. Alejandra Moreno; por tomarse el tiempo de revisar y contribuir de manera importante a la mejora de este escrito. Un agradecimiento especial al Dr. Lev, quien fue mi profesor de Evolución en la licenciatura y a quien admiro mucho; así como a la Dra. Alicia, por todo su apoyo y entusiasmo al hacer ciencia.

Al Dr. Daniel Piñero, la Dra. Ella Vázquez y a los técnicos académicos la Dra. Tania Garrido y la Dra. Susette Castañeda, por su invaluable apoyo académico y en el laboratorio.

A mis compañeros del Instituto de Ecología, a quienes agradezco los momentos más divertidos en el Posgrado: Nancy, Verito, Alfre, Vero, Chris, Erendira, Marco (chaparrito), Miguel, Myriam, Rachel, Azalea, Sebas y Ruth. Gracias por aguantarme, chicxs.

Un agradecimiento especial a Laura, porque ella tendría que estar citada miles de veces en este texto.

A mis amigas de generación (y de vida), Nancy Visuet y Clara Soto (Sotito), porque aunque es difícil coincidir, he contado con ustedes en todo momento.

A Raúl Rocha, por preocuparse por mí.

ÍNDICE

1. Introducción.....	1
1.1 Causas de la diversidad genética y su distribución espacial.....	1
1.2 Diversidad genética y evolución en poblaciones discontinuas.....	6
1.3 Las coníferas mexicanas como ejemplo de evolución en discontinuidad poblacional.....	14
2. Justificación.....	25
3. Objetivos.....	26
4. Hipótesis.....	27
5. Material y métodos.....	28
5.1 Muestreo poblacional y análisis de SSRs nucleares.....	28
5.2 Análisis de secuencias nucleares.....	33
6. Resultados.....	46
6.1 Diversidad genética en microsatélites nucleares.....	46
6.2 Diversidad genética en secuencias nucleares.....	55
6.3 Divergencia y demografía histórica.....	65
7. Discusión.....	70
7.1 Diversidad y estructura genético-poblacional.....	70
7.2 Neutralidad y selección.....	73
7.3 Historia demográfica y de divergencia del oyamel en la FVTM.....	75
8. Conclusión.....	82
9. Bibliografía.....	84
10. Apéndice.....	101

LISTA DE FIGURAS Y CUADROS

Fig.1	Distribución discontinua de los bosques de coníferas y bosques mixtos, respecto a las principales formaciones montañosas de México.	15
Fig.2	Etapas de formación de la FVTM.	16
Fig.3	Escenario geológico durante el último episodio de formación de la FVTM.	16
Fig.4	Hipótesis de la distribución altitudinal de la vegetación de montaña durante los periodos interglaciares y glaciares del Pleistoceno.	18
Fig.5	Hipótesis filogeográficas que consideran la evolución geológica y climática de la FVTM, enfocadas a explicar los procesos de divergencia en la flora de montaña.	19
Fig.6	Distribución de las poblaciones de <i>A. flinckii</i> y <i>A. religiosa</i>	28
Fig.7	Hipótesis filogeográficas probadas para identificar el origen de los grupos genéticos de <i>Abies</i> en el centro de México por procesos de colonización tipo <i>stepping-stone</i> .	39-40
Fig.8	Hipótesis filogeográficas probadas para identificar el origen de los grupos genéticos de <i>Abies</i> del centro de México a través de procesos de fragmentación.	41-42
Fig.9	Hipótesis filogeográficas que sugieren el origen de los grupos genéticos por procesos de colonización y contacto secundario entre <i>A. flinckii</i> y <i>A. religiosa</i> .	44
Fig.10	Promedios por población para el número de alelos y el número efectivo de alelos.	46
Fig.11	Riqueza alélica promedio por población para <i>Abies</i> del centro de México.	47
Fig.12	Promedios por población para las heterocigosis esperadas y observadas para <i>Abies</i> del centro de México.	47
Fig.13	Índices de fijación estimados para cada población de <i>Abies</i> del centro de México.	49
Fig.14	Gráfico de calor para el índice de diferenciación F_{ST} multilocus.	50
Fig.15	Gráfico de calor para el índice de diferenciación R_{ST} y G_{ST} multilocus.	51
Fig.16	Gráfico de calor para el índice de diferenciación D_{EST} y G'_{ST} multilocus.	51
Fig.17	Gráfico de barras de las probabilidades de asignación para cada individuo definidas en STRUCTURE.	52
Fig.18	Gráficos de pastel indicando la proporción de ancestría de cada población cuando se consideran cuatro grupos genéticos, $K=4$.	53
Fig.19	Gráfico de dispersión indicando la distancia entre los diez grupos genéticos detectados por el análisis DAPC para poblaciones de <i>Abies</i> del centro de México.	54
Fig.20	Patrón de aislamiento por distancia entre las poblaciones de oyamel del a) occidente-centro y b) centro-oriente de la FVTM.	54
Fig.21	Número de haplotipos para cada población de <i>Abies</i> del centro de México.	55
Fig.22	Diversidad nucleotídica, θ_w y θ_π , para cada población de <i>Abies</i> del centro de México.	58
Fig.23	Gráficas de dispersión de los estadísticos ZZ y Za para inferir desequilibrio de ligamiento intralocus.	59
Fig.24	Gráficas de calor de los niveles de diferenciación F_{ST} entre pares de poblaciones de <i>Abies</i> del centro de México para cuatro genes nucleares.	60
Fig.25	Estimados de pruebas de neutralidad por población para <i>Abies</i> del centro de México.	62
Fig.26	Resumen del modelo de aislamiento con migración (IM) para los cuatro grupos genéticos de oyamel en la FVTM.	68
Fig.27	Resumen de la divergencia y los procesos demográficos históricos del género <i>Abies</i> en el centro de México.	78

Tabla 1	Resumen de los procesos evolutivos observados en poblaciones discontinuas.	10
Tabla 2	Diferencias morfológicas, fenológicas y ecológicas entre <i>A. flinckii</i> y <i>A. religiosa</i> .	22
Tabla 3	Coordenadas geográficas y altitud de las poblaciones de oyamel.	29
Tabla 4	Nombre, longitud de las secuencias, número de regiones no codificantes y función biológica de los 11 genes nucleares secuenciados en las poblaciones de oyamel.	35
Tabla 5	Parámetros de las distribuciones previas utilizadas en el análisis ABC.	38
Tabla 6	Valores de probabilidad obtenidos para la prueba exacta de H-W para cada locus.	48
Tabla 7	Frecuencia de alelos nulos.	49
Tabla 8	Estadísticos de diversidad genética para cada gen y por cada grupo genético.	56-57
Tabla 9	Prueba de congruencia entre matrices F_{ST} para 10 genes nucleares.	60
Tabla 10	Pruebas de neutralidad para las poblaciones de <i>Abies</i> del centro de México.	64-65
Tabla 11	Distribución posterior de los parámetros demográficos calculados en el software DIYABC.	66
Tabla 12	Tasa de migración ajustada al tamaño poblacional efectivo (N_e) para las poblaciones de <i>Abies</i> del centro de México.	69

RESUMEN

Entender la demografía histórica de las especies requiere la consideración tanto de las características biológicas de las especies como del contexto geológico y climático en el que han evolucionado. La interacción de estos factores determina los procesos de expansión demográfica, expansión de rango y/o fragmentación de las poblaciones, lo que en última instancia puede favorecer la diferenciación genética, especiación y contacto secundario. Sin embargo, identificar los procesos demográficos que dieron lugar a la distribución de la variación genética puede ser complicado en especies con tiempos generacionales largos tales como las coníferas, ya que éstos frecuentemente se sobreponen y/o operan en distintas escalas espaciales y temporales. Este problema puede ser resuelto parcialmente mediante el análisis genético de múltiples loci en un contexto bayesiano, lo que puede ayudar a identificar algunos de estos procesos demográficos con cierta confianza. El presente estudio retomó este problema, enfocado a un complejo de especies de oyamel, *Abies flinckii* y *A. religiosa*, distribuidas en ambientes de montaña aislados a lo largo de un gradiente este-oeste en la Faja Volcánica Transmexicana (FVTM). Se dilucidó su historia demográfica y de divergencia a través de distintos análisis complementarios, usando cuatro microsatélites y 11 genes nucleares que fueron genotipados/secuenciados en aproximadamente 400 individuos de 20 poblaciones. Los individuos fueron agrupados en cuatro linajes genéticos, cuya separación fue parcialmente congruente con una clasificación taxonómica reciente; aunque se infirió la mezcla genética de éstos en el centro de la Faja. Con base en esta estructura genética y la historia geológica y climática conocida para el centro de México, se construyeron 10 escenarios demográficos y de divergencia que fueron puestos a prueba mediante métodos de Cálculo Bayesiano Aproximado. Los escenarios con mayor soporte estadístico sugieren que *A. flinckii* y *A. religiosa* divergieron hacia finales del Plioceno; mientras que la separación del resto de los grupos genéticos ocurrió durante el Pleistoceno. Asimismo, estos escenarios indicaron tamaños poblacionales pequeños y grandes respectivamente en los linajes occidentales y *A. religiosa*, así como el contacto secundario entre grupos genéticos consecuencia del efecto de la fluctuación en las condiciones climáticas en un espacio topográfico heterogéneo. Los resultados del presente estudio resaltan la importancia de los procesos geológicos y climáticos del Plioceno y Pleistoceno en el centro de México como factores que determinan la diversificación de las especies y el cambio en su distribución, aunque también señalan que la selección podría haber estado involucrada en la evolución de la diversidad actual del género *Abies* en México.

ABSTRACT

Understanding species' demographic history requires considering both their inherent biological characteristics and the geological and climatic context where they have evolved. Such factors may drive expansion, dispersion and/or fragmentation patterns that may ultimately lead to population differentiation, speciation and secondary admixture. Nevertheless, identifying individual processes that originated such patterns might be difficult in long-lived species, like conifers, given that they often overlap and operate at different spatial and temporal scales. This problem may be partially overcome by using genetic variation data at multiple loci in a Bayesian context, which may help identify some of those processes with relative confidence. We addressed this issue in a subtropical fir species complex, *Abies flinckii* and *A. religiosa*, distributed in isolated montane populations along an east-west gradient in central Mexico. We examined their divergence and past range dynamics throughout complementary analyses on their nuclear and cytoplasmic genetic variation. Markers surveyed included four nuclear and chloroplast SSRs, together with eleven nuclear and one mitochondrial gene regions; these were genotyped/sequenced in approximately 400 individuals from 20 populations. Individuals clustered into four genetic groups that were consistent with recent taxonomic fir classifications, although significant admixture was inferred in the Colima Volcanic Complex (western Mexico). Taking into account the geological and climate evidence available for central Mexico, we further tested, through approximated Bayesian computations, various divergence and demographic scenarios for these taxa by using the observed genetic structure as a baseline. The most supported scenarios involved an early divergence of two ancestral lineages that further fragmented into various populations with varying levels of more recent gene flow during the last five million years. Our findings highlight the importance of geological and climatic events during the Pliocene and the Pleistocene in central Mexico as putative drivers of species diversification and range shifts, and suggest that selective events might also have been involved in shaping the current Mexican conifer diversity.

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Causas de la diversidad genética y su distribución espacial

Un aspecto básico de la biodiversidad es la variación genética. Con ciertas excepciones, los individuos de una especie no son genéticamente idénticos. Es decir que, para un locus dentro de una población es posible reconocer distintas variantes alélicas en los individuos que en general, conforman lo que se conoce como polimorfismo genético (Nei y Kumar, 2000). Las capacidades de una población o especie para evolucionar en respuesta, por ejemplo, a cambios ambientales, enfermedades, depredadores y/o parásitos, dependen en gran parte de su variación genética. Por ello, conocer su origen y distribución se ha convertido en un tema de interés central para la biología evolutiva y la conservación (Hedrick, 2010; Ellegren y Galtier, 2016). En ese sentido, el análisis de los polimorfismos genéticos mediante distintas herramientas moleculares (revisadas en Schlötterer, 2004; Selkoe y Toonen, 2006; Putman y Carbone, 2014) y estadísticas, ha permitido realizar inferencias respecto a los procesos microevolutivos y los factores ambientales que condicionan la diversidad genética y su distribución en las poblaciones (Sunnucks, 2000). Tal información ha facilitado la identificación de unidades evolutivas y sus parámetros demográficos, conocimiento que en última instancia permite el diseño de planes de manejo enfocados a salvaguardar los procesos ecológicos y evolutivos (e.g., Lopes y Boessenkool, 2010; Potter *et al.*, 2010).

La biología evolutiva moderna parte de la genética de poblaciones para entender las causas y distribución de la variación genética en las poblaciones. La selección balanceadora constituyó una de las hipótesis alternativas al equilibrio de Hardy-Weinberg (H-W) para explicar los niveles altos de variación genética observados en las poblaciones (Dobzhansky, 1955); aunque su efecto supone niveles de carga genética intolerablemente altos (Lewontin y Hubby, 1966). Para conciliar la diversidad genética dentro de las poblaciones con el efecto de la carga genética, se planteó que la mayor parte de la variación debe ser resultado más bien de procesos selectivamente neutrales (Kimura, 1968). Es decir, que el polimorfismo genético está dado por un balance entre la tasa de mutación (μ), que introduce nuevos alelos a la población, y la deriva génica, que los elimina aleatoriamente y de forma inversalmente proporcional al tamaño efectivo de la población (N_e). Esta hipótesis, conocida como la Teoría Neutral de la

Evolución Molecular (Kimura, 1983), propone que la heterocigosis esperada (H_e) en una población obedece a la relación:

$$H_e = \frac{4N_e\mu}{4N_e\mu + 1}$$

en la que la heterocigosis estará positivamente correlacionada con N_e y μ . Aunque el análisis directo de secuencias nucleotídicas de ADN ha demostrado que esta relación lineal no siempre es cierta (Lewontin, 1974), la teoría neutral ha fungido como escenario base y/o modelo nulo para entender las causas de la variación.

La distribución espacial de la variación

La filogeografía es un área de la evolución que se encarga de estudiar la distribución espacial de la variación genética dentro y entre especies cercanamente emparentadas y su relación causal con las características geográficas del espacio que ocupan (Avise, 2000). Aunque esta disciplina ha estado sujeta a constantes cambios en sus bases metodológicas, ésta pretende vincular los procesos microevolutivos que operan al interior de las poblaciones y modelan su variación genética, con aquellos que explican el surgimiento de los linajes y sus determinantes geográficas putativas (Hickerson *et al.*, 2010). En sus inicios, la filogeografía retomó el conocimiento teórico de la genética de poblaciones, la filogenética y la biogeografía para realizar inferencias históricas descriptivas con base en estadísticos de resumen, reconstrucciones filogenéticas y su concordancia con las barreras geográficas (e.g., Reeb y Avise, 1991). En esta primera etapa, la filogeografía se valió del polimorfismo genético de uno o pocos loci mitocondriales, cuyas características garantizan relaciones genealógicas dicotómicas fáciles de interpretar (Avise, 2009). Los resultados de estos primeros estudios sirvieron como base para el reconocimiento de patrones filogeográficos, mismos que fueron asociados a distintos procesos como el aislamiento poblacional y el flujo génico (Avise, 2000). No obstante, estas interpretaciones carecían tanto de una perspectiva genealógica como de un soporte estadístico que diera cuenta de su probabilidad explicativa (Hickerson *et al.*, 2010).

Teoría de Coalescencia

Previo a la consolidación teórica de la filogeografía y con base en el modelo de Wright-Fisher de cambio en las frecuencias alélicas en una población, según la ecuación de difusión de gases (Kimura, 1955), genetistas de poblaciones y matemáticos teóricos construyeron la teoría de coalescencia (Kingman, 1982). A partir de una muestra alélica de un locus neutral tomada de las poblaciones, este nuevo paradigma permitió trazar *genealogías de genes* hacia un ancestro común, donde cada genealogía refleja una historia única de mutación y de procesos estocásticos coalescentes (Rosenberg y Nordborg, 2002). La idea básica del proceso coalescente es que, en ausencia de selección, las copias génicas de una población “coalescen” en un ancestro de manera aleatoria. La probabilidad de coalescencia, $P(c)$, en la generación $t-1$ de dos copias génicas será igual a:

$$P(c) = \frac{1}{2Ne}$$

mientras que la probabilidad de no coalescer, $P(nc)$, en la generación $t-1$ será:

$$P(nc) = 1 - \frac{1}{2Ne}$$

En general la probabilidad de que dos copias génicas no coalescan en k generaciones, se define como:

$$P(nc) = \left[1 - \frac{1}{2Ne}\right]^k$$

y la probabilidad de que dos copias génicas coalescan en k generaciones es:

$$P(c) = \left[1 - \frac{1}{2Ne}\right]^{k-1} \left[\frac{1}{2Ne}\right]$$

Esto quiere decir que el tiempo promedio esperado, $E(Tc)$, para que dos copias génicas coalezcan en el último ancestro común, se ajusta a una distribución de probabilidad geométrica con una media definida por:

$$E(Tc) = 1 / \frac{1}{2N_e} = 2N_e$$

En pocas palabras, el tiempo de coalescencia medio es proporcional a $2N_e$, por lo que la topología de la genealogía estará definida también por el mismo factor. Por lo tanto, cuando una población atraviesa por un cuello de botella (i.e., una disminución en el N_e), los linajes van a coalescer rápidamente y generar ramas terminales cortas. Por el contrario, cuando las poblaciones expanden su N_e , la coalescencia de los linajes será más lenta y la longitud de las ramas terminales será larga (Nielsen y Slatkin, 2013).

La teoría de coalescencia ha sido fácilmente ajustada a más de dos copias génicas y al efecto de otros procesos evolutivos (e.g., flujo génico), lo que la ha convertido en una herramienta poderosa para inferir las causas históricas de la variación genética. Mediante el uso de unidades de tiempo continuas (en $2N_e$ unidades de tiempo) ha sido posible cuantificar ciertos atributos que pueden ser informativos en una genealogía (e.g., la altura de la genealogía), pero también ha facilitado el ejercicio de las simulaciones coalescentes como herramienta para las pruebas de hipótesis (Hein *et al.*, 2005; Nielsen y Slatkin, 2013).

Filogeografía estadística basada en coalescencia

La filogeografía estadística se sirve de la teoría de coalescencia como una herramienta para analizar la distribución de la variación genética en un contexto estadístico riguroso (Knowles y Maddison, 2002). Específicamente, se utilizan numerosas (miles o millones) simulaciones genealógicas que permiten poner a prueba distintos escenarios históricos y estimar parámetros poblacionales con un valor numérico asociado que cuantifica la certidumbre de las inferencias (Hickerson *et al.*, 2010). A diferencia de la filogeografía descriptiva, la filogeografía estadística prefiere el análisis simultáneo de varios loci no ligados, es decir, varias réplicas del coalescente, con el fin de disminuir el efecto estocástico del proceso coalescente e incrementar la confianza estadística (Knowles y Maddison, 2002; Nielsen y Slatkin, 2013).

Inicialmente, algunos estudios utilizaban simulaciones coalescentes construidas con base en las hipótesis históricas a probar. Estas simulaciones permitían calcular la distribución de ciertos estadísticos de resumen, mismos que eran comparados con los estadísticos calculados a partir de los datos genéticos observados (e.g., Knowles, 2001). Con el desarrollo de las herramientas informáticas, algunos algoritmos matemáticos, como las Cadenas de Markov

Monte Carlo (MCMC, por sus siglas en inglés), facilitaron el cálculo de una función de verosimilitud (Felsenstein, 1988):

$$P(x|\theta) = \int_G P(x|G)P(G|\theta)\delta G$$

donde:

x = datos genéticos

θ = *set* de parámetros poblacionales

G = genealogías

que básicamente mide la probabilidad con la que los datos observados sean explicados por un vector de parámetros en particular, considerando (integrando) todas las posibles genealogías representativas (Nielsen y Beaumont, 2009; Nielsen y Slatkin, 2013). Este tipo de métodos han sido ampliamente utilizados para estimar parámetros poblacionales; por ejemplo, cuando las poblaciones naturales se ajustan a ciertos modelos evolutivos (e.g., aislamiento con migración; Nielsen y Wakeley, 2001). Sin embargo, también es posible realizar pruebas de hipótesis mediante estadísticos que comparan las funciones de verosimilitud obtenidas entre los distintos modelos evolutivos. La principal ventaja de las aproximaciones basadas en la función de verosimilitud es que toman en cuenta prácticamente toda la información genética (Nielsen y Beaumont, 2009). No obstante, cuando las hipótesis demográficas son muy complejas, el cálculo de dicha función puede requerir de un esfuerzo computacional importante.

Alternativamente, un grupo de métodos estadísticos bayesianos conocido como Cálculo Bayesiano Aproximado (ABC, por sus siglas en inglés) emplea sólo una parte de la información genética, resumida en algunos estadísticos, lo que reduce considerablemente el tiempo computacional y al mismo tiempo permite poner a prueba hipótesis demográficas detalladas (Nielsen y Slatkin, 2013). La idea básica de los métodos ABC consiste en simular datos genéticos con base en cierto(s) escenario(s) demográfico(s) y a partir de los valores de los parámetros muestreados de las distribuciones de probabilidad previa. Para cuantificar la similitud entre los datos genéticos simulados y reales se comparan los estadísticos de resumen. Las simulaciones que guardan una similitud mayor con los datos reales son utilizadas para

obtener estimados de densidad posterior de los parámetros poblacionales. Como cualquier otro tipo de método bayesiano, los análisis ABC permiten calcular la probabilidad posterior de distintos modelos candidatos y obtener estimados poblacionales del modelo con mayor soporte estadístico (Bertorelle *et al.*, 2010; Sunnåker *et al.*, 2013). Aunque es considerado un método estadístico riguroso, se han reconocido varias fuentes de error en los ABC (revisadas en Sunnåker *et al.*, 2013), por lo que se recomienda poner especial atención y llevar a cabo controles de calidad durante todos los pasos que involucra los análisis (Bertorelle *et al.*, 2010).

Aunque estrictamente no se basa en la teoría de coalescencia, otro método de inferencia utiliza la ecuación de difusión de gases (Kimura, 1955) para la construcción de un espectro de frecuencias alélicas esperado bajo cierto escenario filogeográfico. Al igual que las otras aproximaciones, el objetivo es encontrar el grupo de parámetros que maximicen la similitud entre el espectro de frecuencias observado y esperado a través de una función de verosimilitud (Gutenkunst *et al.*, 2009).

Con la secuenciación masiva de múltiples regiones genómicas, así como con el constante desarrollo de los métodos estadísticos y bioinformáticos, la filogeografía estadística ha experimentado un mejoramiento notable en relación a la resolución y certeza estadística de sus inferencias (Knowles, 2009; Andrew *et al.*, 2013). Por otro lado, aunque la filogeografía se ha enfocado en el proceso de divergencia dado por procesos estrictamente neutrales, hoy en día los métodos de secuenciación de nueva generación (NGS por sus siglas en inglés) han abierto la posibilidad de integrar el efecto de los procesos selectivos, junto con métodos de simulación hacia el futuro (*forward*) (Hickerson *et al.*, 2010).

1.2 Diversidad genética y evolución en poblaciones discontinuas

Prácticamente todas las especies se distribuyen en poblaciones que no son infinitas, ni continuas (Holsinger y Weir, 2009). La interacción histórica y reciente entre la dinámica geológica, climática y las demandas ecológicas y fisiológicas de los organismos, ha dado lugar a patrones de distribución discontinuos, donde las poblaciones se mantienen aisladas geográficamente por matrices de variables ambientales y/o barreras físicas que restringen el intercambio genético (Stewart *et al.*, 2010; Hampe *et al.*, 2013; Gavin *et al.*, 2014).

Cuando la distribución de una especie está compuesta de varias poblaciones separadas geográficamente, procesos como la deriva génica y/o la selección divergente pueden facilitar la

fijación diferencial de alelos entre las poblaciones; es decir, pueden favorecer su divergencia genética y/o su especiación. Esto explica, por ejemplo, que las regiones de alta heterogeneidad ambiental donde la distribución de las poblaciones es discontinua, alberguen una amplia diversidad biológica y niveles de endemismo elevados (McCormack *et al.*, 2009; Ramírez-Barahona y Eguiarte, 2013). En una escala temporal grande, las principales causas de discontinuidad poblacional entre muchas especies de vertebrados y plantas parecen estar relacionadas con la actividad geológica del Plioceno y el Pleistoceno, así como con las fluctuaciones climáticas del Cuaternario (Gillespie y Roderik, 2014).

Un patrón de distribución discontinuo puede surgir por la fragmentación *in situ* de una especie, por la colonización y fundación de nuevas poblaciones durante un proceso de expansión, por la extinción poblacional local, o una combinación de ellas. En cada uno de estos escenarios, los patrones de polimorfismo y diferenciación genética son dependientes del impacto relativo de los procesos evolutivos neutrales y selectivos, la situación espacial de las poblaciones y de las características biológicas intrínsecas de las especies, como su historia de vida, su capacidad de dispersión o sus preferencias ambientales (Tabla 1).

Cuando la distribución de una especie se compone de varias poblaciones aisladas y de tamaño finito, el cambio en las frecuencias alélicas dentro de las poblaciones y su divergencia genética neutral serán dependientes de su tamaño efectivo poblacional (N_e) y de la tasa de migración (m) (Wright, 1940; Nielsen y Wakeley, 2001). El valor de equilibrio del índice de fijación se define como:

$$F_{ST} \approx \frac{1}{4Nm + 1}$$

donde el N_e de las poblaciones es grande y el intercambio genético es frecuente ($Nm > 1$), las poblaciones tardarán pocas generaciones en homogeneizarse genéticamente. Por el contrario, si el N_e de las poblaciones es pequeño y el flujo génico es parcialmente restringido ($Nm < 1$), el efecto de la deriva génica favorecerá la fijación aleatoria de alelos, la pérdida de variación genética al interior de las poblaciones y el aumento de la diferenciación entre éstas (Wright, 1940; revisado en Hedrick, 2010).

Debido a que las poblaciones se encuentran distribuidas en el espacio geográfico, la probabilidad de migración dependerá de la distancia que las separa, así como de las capacidades de dispersión de los organismos. Por ejemplo, en un modelo de islas de una dimensión (*stepping-*

stone), el flujo génico será más frecuente entre las poblaciones adyacentes. Por lo tanto, después de n generaciones, se espera una correlación significativa entre la diferenciación genética neutral y la distancia geográfica que separa a las poblaciones. Este patrón de aislamiento por distancia (IBD, por sus siglas en inglés) ocurre entre poblaciones que se encuentran en equilibrio migración-deriva o que están cercanas a éste (Slatkin, 1993; Orsini *et al.*, 2013). Por lo tanto, en ausencia de intercambio genético ($Nm \approx 0$), se espera que las poblaciones no exhiban estructura genética espacial (Slatkin, 1993). Sin embargo, es importante considerar otros factores que puedan restringir el flujo génico y facilitar la construcción de clinas alélicas (revisados en Orsini *et al.*, 2013)

Fragmentación in situ, sin flujo génico ($Nm = 0$)

Las consecuencias genéticas del aislamiento en ausencia total de intercambio genético han sido revisadas en distintos sistemas biológicos y en distintas escalas espaciales y temporales (Templeton *et al.*, 1990; Young *et al.*, 1996; Eckert *et al.*, 2008). Tal es el caso de *Atelomastix bamfordi*, un milpies australiano cuyas poblaciones se distribuyen exclusivamente sobre formaciones geológicas de hierro bandeado, separadas por extensas planicies desérticas (Nistelberg *et al.*, 2014). En congruencia con lo esperado teóricamente (Wright, 1940; Slatkin, 1993), el análisis genético mitocondrial de la especie mostró que la mayor parte de la variación genética ocurre entre poblaciones que ocupan diferentes formaciones geológicas de hierro. La coalescencia de los mitotipos de esta especie señala que la desertificación de la región durante el Pleistoceno ocasionó posiblemente la fragmentación de las poblaciones y limitó el intercambio genético (Nistelberg *et al.*, 2014).

En plantas, el efecto genético del aislamiento ha sido observado frecuentemente en herbáceas, cuyas capacidades de dispersión tienden a ser limitadas (Young *et al.*, 1996), pero también en algunos árboles (Eckert *et al.*, 2008). Por ejemplo, en las penínsulas Ibérica y de Anatolia persisten algunas poblaciones fragmentadas de *Pinus sylvestris*, *Picea abies* y *Fagus sylvatica* que durante el Pleistoceno formaron parte de antiguos refugios climáticos glaciares. Estas poblaciones se distinguen de sus conespecíficas del centro de Europa en que han permanecido aisladas geográficamente por periodos de tiempo más prolongados, y en que debido a su situación geográfica, posiblemente han estado sujetas a distintas presiones de selección (Hampe y Petit, 2005). Las poblaciones fragmentadas de estas tres especies forestales

exhiben alta diferenciación intraespecífica, sin mostrar ningún patrón de estructura genética espacial que sugiera que el flujo génico ha sido frecuente (Tollefsrud *et al.*, 2008; Lafontaine *et al.*, 2013; Wójkiewicz *et al.*, 2016).

Después de muchas generaciones de aislamiento genético, el incremento en la consanguinidad al interior de las poblaciones puede ocasionar un aumento en la frecuencia de variantes alélicas deletéreas en estado homócigo y en última instancia conducir las a la extinción (Templeton *et al.*, 1990). Por ejemplo, la distribución natural del rinoceronte negro (*Dicero bicornis*) se restringe a cinco poblaciones africanas aisladas físicamente. Un análisis del material genético actual e histórico de la especie reveló una pérdida de cerca del 60% de la variación genética mitocondrial. De acuerdo con un análisis bayesiano de horizontes poblacionales (*Bayesian Skyline Plot*), esta disminución en los niveles de polimorfismo puede explicarse por un colapso del N_e de las poblaciones, causado por la extensa cacería del rinoceronte negro durante la segunda mitad del siglo XX. Debido a la irreparable pérdida de la diversidad genética en sus poblaciones, *D. bicornis* ha sido declarada como especie extinta desde el 2011 (Moodley *et al.*, 2017).

Fragmentación in situ, con flujo génico ($Nm \neq 0$)

Cuando las poblaciones se encuentran separadas físicamente y no experimentan (o han experimentado) intercambio genético, una de las primeras preguntas que la ecología molecular y la evolución están interesadas en resolver es cuántos migrantes son necesarios para impedir o garantizar el proceso de divergencia (Slatkin, 1994; Nielsen y Wakeley, 2001). Inicialmente, la inferencia de flujo génico estaba sujeta a la interpretación directa de la distribución geográfica de los alelos entre las poblaciones (Pinho y Hey, 2010).

Uno de los primeros métodos indirectos para cuantificar el número de migrantes que recibe una población se basa en el cálculo de F_{ST} en el equilibrio para obtener un estimado de m . Esta aproximación supone que las poblaciones han alcanzado el equilibrio y que, por lo tanto, han transcurrido suficientes generaciones de aislamiento e intercambio genético. Esta condición difícilmente se satisface en casos de divergencia reciente o en especies con tiempos generacionales largos. En ambos casos, las poblaciones pueden compartir variantes alélicas ya sea por flujo génico y/o por la separación incompleta de los linajes (Hey, 2006; Pinho y Hey, 2010).

Tabla 1. Resumen de los procesos evolutivos observados en poblaciones discontinuas y su efecto sobre la variación genética, el tamaño poblacional efectivo (N_e) y los patrones de estructura genética espacial (SGS).

Proceso	Diversidad genética dentro de las poblaciones	Tamaño poblacional efectivo (N_e)	Diferenciación y estructura genética espacial
Fragmentación ($Nm=0$)	-Reducción de la variación genética intrapoblacional (Templeton <i>et al.</i> , 1990; Young <i>et al.</i> , 1996; Mona <i>et al.</i> , 2014).	-Reducción en el N_e (Templeton <i>et al.</i> , 1990).	-Homogeneidad genética dentro de las poblaciones y diferenciación entre poblaciones (Templeton <i>et al.</i> , 1990). -No SGS (No IBD).
Fragmentación ($Nm \neq 0$)	-Reducción de la variación genética intrapoblacional (Templeton <i>et al.</i> , 1990).		-Homogeneidad genética dentro de las poblaciones y diferenciación entre poblaciones (Templeton <i>et al.</i> , 1990). -Si SGS (Si IBD).
Colonización (<i>stepping-stone</i>)	-Reducción en la heterocigosis, según la distancia respecto a la población ancestral (Slatkin y Excoffier, 2012).	-Reducción en el N_e por efecto fundador, dependiente del frente de migración y la frecuencia de dispersión a largas distancias (Bialozyt <i>et al.</i> , 2006).	-Las poblaciones adyacentes son genéticamente similares entre sí. -Si SGS (Si IBD) (Kimura y Weiss, 1964; Excoffier <i>et al.</i> , 2009).
Metapoblación	-Muchas subpoblaciones fuente, muchos fundadores → homogenización de las subpoblaciones sin reducción significativa de heterocigosis. -Pocas subpoblaciones fuente, pocos fundadores → Reducción de heterocigosis. -A largo plazo, se espera reducción de heterocigosis global. (Harrison y Hasting, 1996).	-El N_e de la metapoblación disminuye junto con los niveles de diversidad genética global. (Harrison y Hasting, 1996).	-Niveles altos de diferenciación poblacional. -No SGS (No IBD) (Pannel y Charlesworth 2000).

Para distinguir entre esas hipótesis, algunos métodos utilizan una función de verosimilitud para identificar la probabilidad con la que un escenario de aislamiento con migración (descrito por un conjunto de parámetros poblacionales) puede explicar mejor la variación genética observada en las poblaciones. Así, estos métodos estadísticos han permitido cuantificar e identificar el efecto relativo que tienen el flujo génico y el aislamiento geográfico sobre los procesos de divergencia intra e inter-específica (Nielsen y Wakeley, 2001).

Por ejemplo, la distribución espacial de haplotipos nucleares de baja y alta frecuencia en *Lophodermium nitens*, un hongo simbiote de dos especies de *Pinus* aisladas en las montañas de México, han revelado que las poblaciones se encuentran bien diferenciadas genéticamente como resultado de varios periodos de aislamiento geográfico (Salas-Lizana *et al.*, 2012). Sin embargo, estas también comparten parte de su variación genética debido al flujo génico y/o una separación incompleta de los linajes. Al establecer el modelo de aislamiento con migración como hipótesis nula, se determinó que parte de esta variación genética compartida se puede explicar por el intercambio genético entre las poblaciones, favorecido durante periodos climáticos que permitieron la expansión poblacional de sus hospederos (Salas-Lizana *et al.*, 2012).

Otro ejemplo también a nivel intraespecífico es el de *Picea likiangensis*, una conífera predominante en los bosques del sur y este de la Meseta Tibetana. Se reconocen tres variedades morfológicas distribuidas en poblaciones discontinuas a lo largo de esta región. Algunos métodos estadísticos de inferencia filogeográfica, alimentados con datos genéticos nucleares, de mitocondria y de cloroplasto, indicaron que, si bien el aislamiento geográfico ha derivado en la divergencia de tres variedades, éstas muestran signos de intercambio genético significativo. Aún así, parece ser que el efecto de la deriva génica y de la selección han contrarrestado el efecto homogeneizador del flujo génico (Li *et al.*, 2013).

El modelo de aislamiento con migración ha fungido como herramienta estadística para estudiar y validar la divergencia entre especies que experimentan flujo génico desde el inicio de su separación genética; o bien, que divergieron en alopatria pero que entraron en contacto secundario (Pinho y Hey, 2010). Por ejemplo, *Pinus massoniana* y *P. hwangshanensis* son dos especies que se distribuyen en poblaciones parapátricas y alopátricas en el sureste de China. Al analizar su variación genética en 33 intrones nucleares, se identificaron señales de mezcla genética, principalmente en regiones donde las especies ocurren en parapatria. Mediante

métodos ABC, se determinó que la divergencia de estos dos pinos ocurrió durante un periodo prolongado de aislamiento geográfico seguido por el contacto secundario e introgresión en áreas de distribución parapátrica (Zhou *et al.*, 2017).

Expansión poblacional y colonización en hábitats discontinuos

Casi todas las especies han atravesado por periodos de expansión demográfica (Excoffier *et al.*, 2009). Durante este proceso, la mayoría de las mutaciones se acumulan en las ramas terminales del coalescente, lo que genera un exceso de variantes de frecuencia baja en la población. Esto puede ser utilizado como hipótesis nula para detectar expansión demográfica, por ejemplo, a través de ciertos estadísticos de resumen como la D de Tajima (1989) y la F_s de Fu (1997). Estos estadísticos cuantifican la diferencia entre variantes de frecuencia baja e intermedia y sus valores son significativamente negativos cuando hay un exceso de los primeros. Otras aproximaciones como los análisis bayesianos de horizontes poblacionales, utilizan una genealogía de genes para cuantificar la probabilidad del coalescente en intervalos de n generaciones hacia el pasado, lo que indirectamente refleja el cambio en el N_e de la población (Ho y Shapiro, 2011).

Una expansión de área de distribución, además de un incremento en el tamaño censal, implica la colonización de nuevas regiones geográficas (Excoffier *et al.*, 2009). Las consecuencias genéticas de una expansión de área y una expansión demográfica pueden variar sustancialmente si existe discontinuidad geográfica. En ese sentido, la simulación del proceso coalescente ha permitido predecir los patrones de diversidad y estructura genética durante una expansión de área. Generalmente, estas simulaciones han considerado un escenario de colonización en un modelo de islas de una dimensión (*stepping-stone*) (e.g., Austerlitz *et al.*, 1997; Klopstein *et al.*, 2006; Mona *et al.*, 2014). Los resultados de estas simulaciones han indicado que una expansión de área puede resultar en una disminución en los niveles de polimorfismo dentro de las poblaciones o en un aumento en su diferenciación genética y valores de D menos negativos; todo como consecuencia de múltiples cuellos de botella que gradualmente reducen el N_e de las poblaciones y/o de tasas de migración relativamente bajas (Austerlitz *et al.*, 1997; Mona *et al.*, 2014). Al mismo tiempo, ciertas variantes alélicas pueden "navegar" con el frente de migración dando lugar a gradientes alélicos en el espacio (i.e., *allele surfing*; Klopstein *et al.*, 2006). En pocas palabras, la similitud o disimilitud genética entre una

expansión de área y una expansión demográfica va a depender del N_e del propágulo, así como de los patrones de migración entre las poblaciones.

La demografía histórica de *Melanoplus oregonensis*, un saltamontes norteamericano, ilustra bien la influencia de la heterogeneidad ambiental y los parámetros N_e y m sobre la diferenciación y estructura genética de las poblaciones después de un proceso de colonización. Las poblaciones de *M. oregonensis* están actualmente restringidas a las Montañas Rocosas del Norte y se piensa que han sido fundadas recientemente (Carstens y Knowles, 2007). Para analizar la historia de colonización de este saltamontes, se han utilizado datos genéticos simulados basados en las predicciones de su nicho ecológico hacia el pasado. Estas simulaciones sugieren que las densidades poblacionales ($\approx N_e$) y las tasas de migración (m) han variado en el espacio y tiempo, lo que ha resultado en valores de diferenciación genética promedio (F_{ST}) altos, comparables con los obtenidos a partir de datos empíricos (Carstens y Knowles, 2007). Aunque estos niveles de diferenciación poblacional se pueden explicar también con niveles bajos de m y N_e en un espacio ambiental homogéneo, tales condiciones no son biológicamente realistas (Knowles y Alvarado-Serrano, 2010).

Los sistemas insulares y archipiélagos volcánicos han sido por mucho tiempo objeto de interés científico para la genética de poblaciones y la filogeografía, pues son considerados laboratorios naturales que permiten estudiar explícitamente las repercusiones evolutivas del proceso de expansión de área en hábitats geográficamente discontinuos (Emerson, 2002). Por citar un ejemplo, el ave *Cyanistes teneriffae* presenta una distribución continental en el Norte de África y en las Islas Canarias. Estas poblaciones insulares han mostrado una baja diversidad genética en 11,000 loci RAD asociada a un declive poblacional, consecuencia de un efecto fundador. Aunque la reconstrucción filogenética para esta especie sugiere que las Islas Canarias fueron colonizadas al menos tres veces, la tasa de migración ha sido baja después de estos eventos, lo que ha favorecido su divergencia genética y morfológica (Stervander *et al.*, 2015).

Metapoblaciones

El término metapoblación describe al conjunto de poblaciones discontinuas donde la extinción de algunas de ellas es recurrente y resulta en la oportunidad de recolonización por parte de individuos procedentes de otras poblaciones (Levins, 1969). Algunos estudios sugieren que el resultado genético de una dinámica metapoblacional puede variar en el tiempo y depende de la

procedencia y número de migrantes que contribuyen a la recolonización (Harrison y Hasting, 1996). A corto plazo, si los hábitats son recolonizados por un gran número de migrantes que provienen de distintas poblaciones, se espera que la metapoblación se mantenga genéticamente homogénea. Por el contrario, si el efecto fundador es severo y los individuos proceden de una sola población, la metapoblación mostrará niveles de diferenciación genética inter-poblacional altos, sin ningún tipo de estructura genética espacial (Harrison y Hasting, 1996; Pannell y Charlesworth, 2000). Independientemente de cuál escenario describe mejor la dinámica de una metapoblación, a largo plazo la inherente pérdida de alelos dada por la extinción local de las poblaciones puede resultar en un decaimiento del N_e y de la diversidad genética global.

Por ejemplo, aunque *Taxus baccata* es una conífera común en Europa, sus poblaciones se distribuyen en parches aislados, principalmente al sur de la Península Ibérica. El análisis del polimorfismo nuclear de 93 de estas poblaciones indicó que la mayor parte de su variación genética se encuentra entre las poblaciones y no entre regiones geográficas, aun cuando la distancia que las separa no sobrepasa los 10 km (González-Martínez *et al.*, 2010). Este patrón ha sido interpretado como resultado de una dinámica metapoblacional, donde cada población ha sido recolonizada por pocos individuos procedentes de unas pocas poblaciones fuente (Hilfiker *et al.*, 2004).

1.3 Las coníferas mexicanas como ejemplo de evolución en discontinuidad poblacional

Durante el Cenozoico, elementos vegetales tanto de las regiones Neártica y Neotropical confluyeron en el territorio de lo que hoy es México (Velázquez *et al.*, 2000; Rzedowski, 2006). Dada su complejidad climática y geológica, se piensa que muchos de estos taxa diversificaron *in situ*, lo que explica que en la actualidad nuestro país cuente con una de las floras más diversas del mundo, incluyendo una cantidad importante de especies endémicas (Rzedowski, 2006). Parte de esta gran diversidad se encuentra en los bosques de coníferas y los encinares (Rzedowski, 2006; Gernandt y Pérez-de la Rosa, 2014). Por ejemplo, 43 de las 94 especies de coníferas en México son consideradas endémicas, y se sugiere que procesos como el aislamiento geográfico, la adaptación y la hibridación fueron frecuentes en la construcción de tal diversidad (Gernandt y Pérez-de la Rosa, 2014). Muchas de las coníferas mexicanas se distribuyen en hábitats naturalmente aislados, en las cimas de los principales sistemas montañosos, donde las condiciones ambientales son frías y húmedas (Fig. 1; Velázquez *et al.*, 2000; Mastretta-Yanes

et al., 2015). Particularmente, la Faja Volcánica Transmexicana (FVTM) alberga una amplia diversidad de coníferas y otros taxa de afinidad boreal y templada, posiblemente debido a su situación geográfica y su heterogeneidad topográfica y climática (Velázquez *et al.*, 2000).

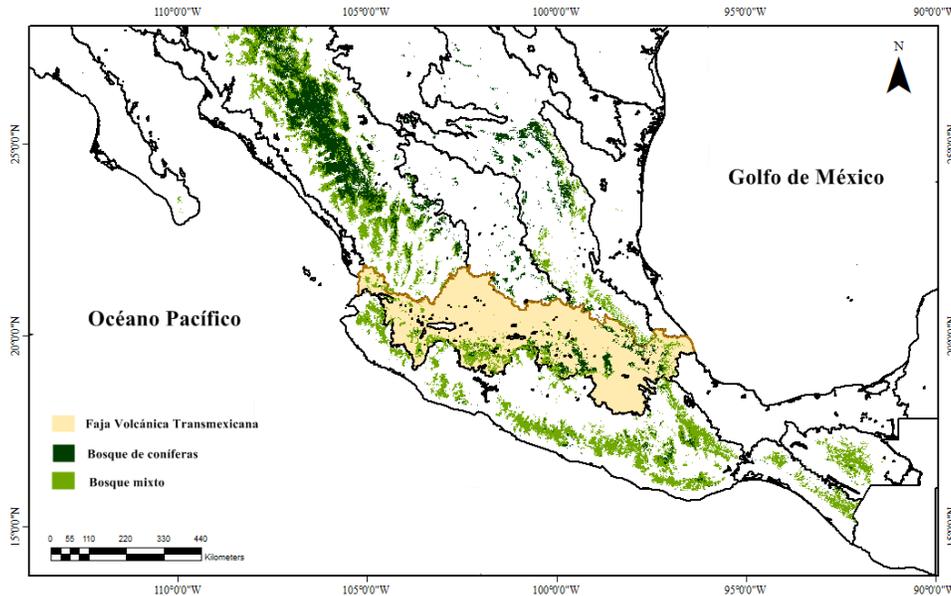


Fig. 1. Distribución discontinua de los bosques de coníferas y bosques mixtos, respecto a las principales formaciones montañosas de México. La información de cobertura vegetal fue tomada de CONABIO (2016).

Historia geológica de la FVTM

La FVTM está integrada por numerosas formaciones volcánicas relativamente aisladas (Fig. 3). Su origen está estrechamente ligado a la dinámica de subducción entre la placa Cocos, la microplaca Rivera y el límite sur de la Placa Norteamericana, cuya actividad empezó hace aproximadamente 17 Ma (Ferrari *et al.*, 2012). La heterogeneidad ambiental que distingue a la FVTM es consecuencia de su compleja historia climática y geológica. De hecho, aunque es considerada una unidad fisiográfica, en realidad, la FVTM está conformada por la sobreposición de cuatro arcos o episodios magmáticos (Ferrari *et al.*, 2012). De éstos, destaca el último episodio, que inició hace aproximadamente 3.5 Ma y se distinguió por un desplazamiento de la actividad volcánica en dirección noreste-suroeste hacia la zona de trinchera, lo que dio lugar a la formación de un frente o “archipiélago” continental, integrado por los principales estratovolcanes de la actual FVTM (Fig. 2).

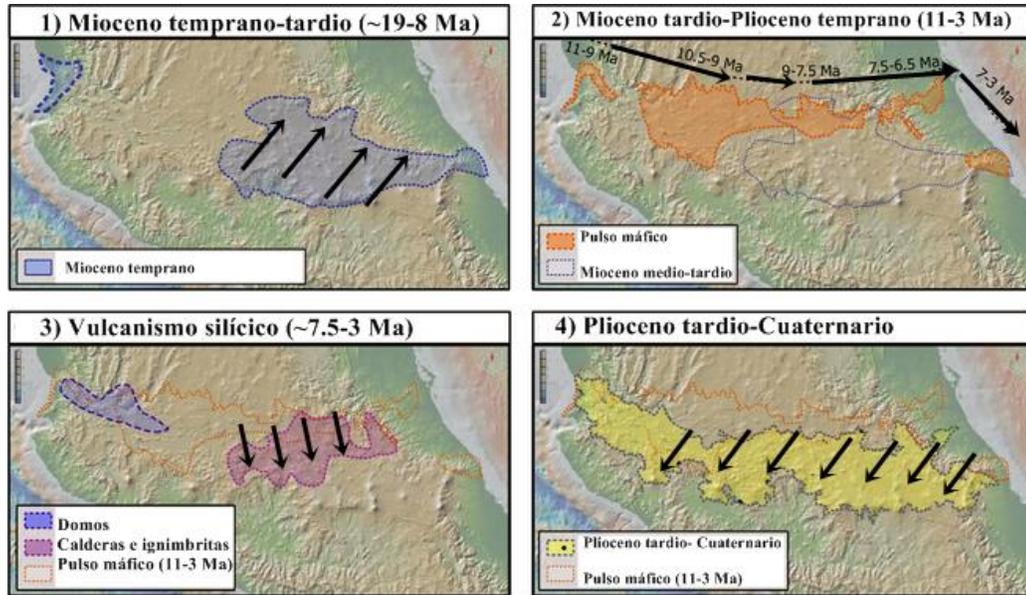


Fig. 2. Etapas de formación de la FVTM. Las flechas negras indican la dirección de migración de la actividad magmática para cada periodo. Modificado de Ferrari *et al.*, (2012)

Por otra parte, los procesos de deformación de la corteza terrestre han sido frecuentes en la FVTM (Ferrari *et al.*, 2012). Estas modificaciones en la topografía fueron importantes en la región occidental de la FVTM, donde la actividad tectónica resultó en la formación de extensos valles y cuencas lacustres. Los sistemas más importantes según su longitud son el *Rift* de Tepic-Zoacalco, el *Rift* de Colima y el *Rift* de Chapala (Fig. 3), cuya actividad tectónica empezó hace aproximadamente 6 Ma y terminó durante el Pleistoceno (Ferrari *et al.*, 2012).

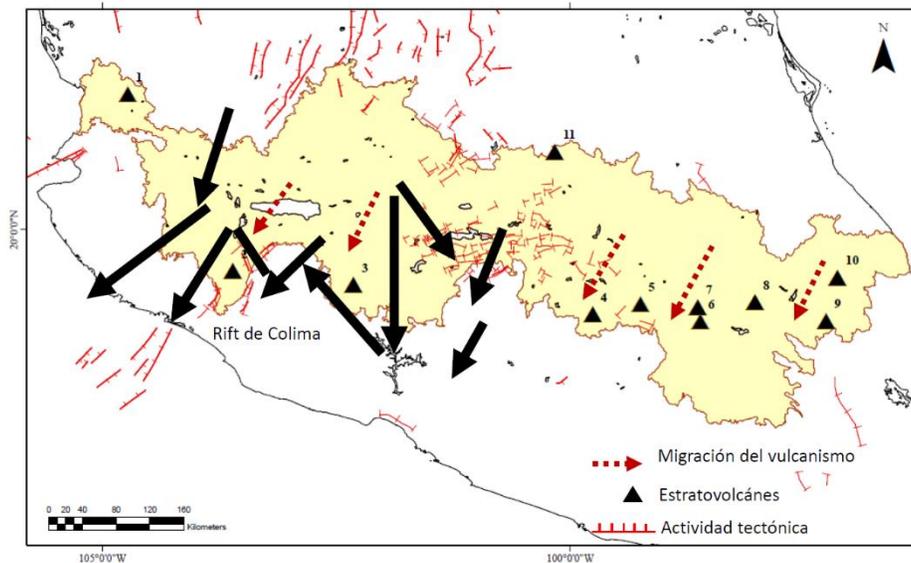


Fig. 3. Escenario geológico durante el último episodio de formación de la FVTM. Los principales valles de origen tectónico se encuentran en la región centro-occidente y representan barreras potenciales a la dispersión de la flora de montaña. Las flechas rojas indican la dirección de migración del vulcanismo, mientras que las flechas negras representan los límites genéticos obtenidos con el algoritmo de Monmonier para las poblaciones de *Abies* (Jaramillo-Correa *et al.*, 2008)

Evolución climática del centro de México durante los últimos 17 Ma

La preservación del registro paleoclimático en el centro de México es escasa debido a la actividad geológica intensa de los últimos 17 Ma (Caballero *et al.*, 2010), por lo que el conocimiento de su situación ambiental durante el Mioceno y el Plioceno es limitado. Sin embargo, se ha determinado que durante el Mioceno medio (~17-15 Ma), la temperatura ambiental del planeta fue cálida y alcanzó un “Máximo Óptimo” (Mudelsee *et al.*, 2014). En contraste, el Mioceno tardío y el Plioceno temprano (~10-4 Ma) se distinguieron por un decaimiento gradual de la temperatura, lo que llevó al crecimiento de los principales casquetes de hielo de la Antártida y del hemisferio norte (Zachos *et al.*, 2001; Mudelsee *et al.*, 2014). Durante el Plioceno tardío (~3-2.5 Ma) se calcula que la temperatura ambiental estuvo 2-3°C por encima de la actual, lo que supone ambientes cálidos y húmedos (Salzmann *et al.*, 2011). En este escenario climático, se piensa que la vegetación de América del Norte estuvo dominada por amplios bosques caducifolios y matorrales xerófilos, mientras que Mesoamérica estuvo ocupada principalmente por bosques de coníferas de afinidad templada y bosques mixtos (Graham, 1999; Salzmann *et al.*, 2011).

El Pleistoceno (2.5 Ma - ~11,000 años) se caracteriza por la fluctuación climática abrupta entre condiciones ambientales cálidas (periodos interglaciares) y frías (periodos glaciares). Los registros paleolimnológico, palinológico y geomorfológico del centro de México indican que los periodos glaciares (e.g., Último Máximo Glacial, UMG) se distinguieron por el descenso de las temperaturas (al menos 8°C, Lachniet y Vázquez-Selem, 2005) y de la tasa de precipitación, consecuencia del desplazamiento de la Zona Intertropical de Convergencia hacia latitudes más bajas (Caballero *et al.*, 2010). No obstante, este escenario glacial pudo haber variado a escala local debido a la topografía compleja de la FVTM (Ramírez-Barahona y Eguiarte, 2013).

Durante el UMG se ha documentado un descenso de las masas de hielo, hoy circunscritas a las cimas de los principales estratovolcanes de la FVTM (Lachniet y Vázquez-Selem, 2005). Con base en el registro polínico de ciertos elementos templados (e.g., *Pinus*, *Picea*, *Quercus*), se ha propuesto que el desplazamiento vertical de los glaciares de montaña obligó a la migración de este tipo de vegetación hacia altitudes más bajas durante los máximos glaciares; y a su retracción en *sky-islands* durante los interglaciares (Ramírez-Barahona y Eguiarte, 2013; Fig. 4).

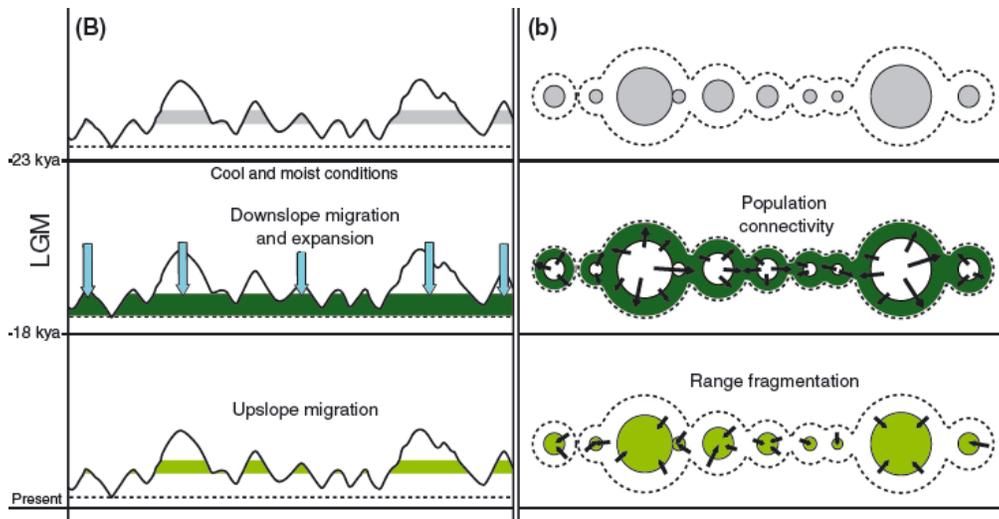


Fig. 4. Hipótesis de la distribución altitudinal de la vegetación de montaña durante los periodos interglaciares y glaciares del Pleistoceno, vista desde un perfil topográfico (B) y a lo largo del paisaje (b). Durante los glaciares, el crecimiento de las masas de hielo favoreció el desplazamiento de los bosques de coníferas hacia bajas altitudes, donde el flujo génico pudo haber sido común. Tomado de Ramírez-Barahona y Eguiarte (2013).

Hipótesis filogeográficas enfocadas a sky-islands de la FVTM

Se ha planteado que la migración altitudinal de la vegetación templada que compone las *sky-islands*, dirigida por las fluctuaciones climáticas del Pleistoceno (Fig. 4), puede explicar los patrones de diversidad y estructura genética poblacional a nivel intraespecífico (e.g., *Pinus strobiformis*, Moreno-Letelier y Piñero, 2009) e interespecífico (e.g., *Abies*, Aguirre-Planter *et al.*, 2000). Así, se propone que la contracción y aislamiento poblacional redujo el N_e de las poblaciones, lo que favoreció la fijación diferencial de alelos por deriva génica y/o selección durante los interglaciares. Por el contrario, en etapas glaciares, el movimiento (y expansión de área) de las poblaciones hacia altitudes más bajas permitió el intercambio de alelos y la hibridación entre linajes en divergencia (Fig. 4; Hewitt, 2004; McCormack *et al.*, 2009).

Sin embargo, para explicar la distribución de la variación genética y los procesos de divergencia que dieron lugar a la diversidad biológica de montaña en la FVTM, es necesario plantear nuevas hipótesis filogeográficas que consideren no sólo el cambio climático, sino también la evolución geológica y tectónica de la región (Mastretta-Yanes *et al.*, 2015). Un primer escenario alternativo surge al tomar en cuenta la dirección de migración de la actividad volcánica (vista como generadora de nuevos ambientes). En este escenario, se propone que el proceso de colonización (tipo *stepping-stone*) ocurrió con mayor frecuencia durante los ciclos

glaciares y en cierta dirección (la dirección de migración del vulcanismo) (Fig. 5). Una segunda hipótesis considera la formación de barreras efectivas (fragmentación) entre los elementos biológicos de dos *sky-islands*, consecuencia de la actividad tectónica de extensión (Fig. 5; Mastretta-Yanes *et al.*, 2015).

Reconocer individualmente cada uno de estos factores, así como los procesos evolutivos subyacentes, puede ser complicado debido a que co-ocurren y/u operan en diferentes escalas espaciales y temporales (e.g., Alberdi *et al.*, 2015). Esta dificultad puede ser mayor en el caso de organismos longevos y/o con tasas de evolución molecular lenta como las coníferas. No obstante, las herramientas que ofrece la filogeografía estadística y el análisis de la información genética de muchos loci puede ayudar a identificar con relativa confianza algunos de estos factores y procesos en este tipo de organismos (e.g., Li *et al.*, 2013).

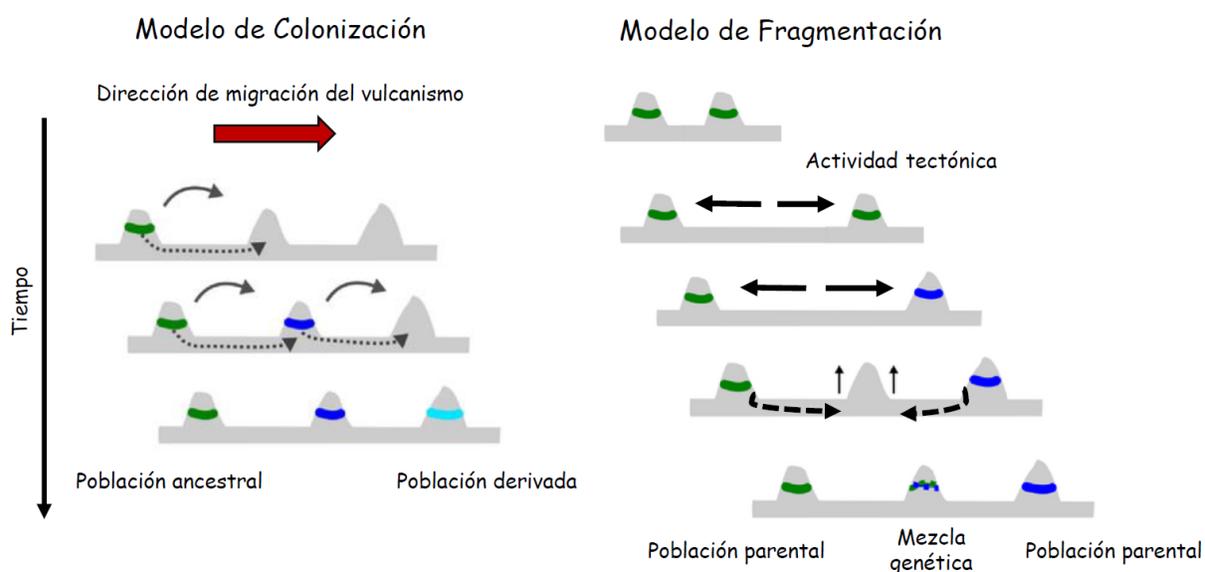


Fig. 5. Hipótesis filogeográficas que consideran la evolución geológica y climática de la FVTM, enfocadas a explicar los procesos de divergencia en la flora de montaña. El modelo de colonización propone el surgimiento de nuevos ambientes en dirección de la migración de la actividad magmática. Estos ambientes pudieron ser secuencialmente colonizados (*stepping-stone*) durante periodos climáticos fríos. El modelo de fragmentación explica el surgimiento de barreras como consecuencia de la actividad tectónica de extensión, así como el contacto secundario entre linajes, producto del surgimiento de ambientes intermedios. Modificado de Mastretta-Yanes *et al.*, (2015)

El género Abies (Pinaceae)

El género *Abies* Mill. (abetos, Pinaceae) es uno de los elementos arbóreos Neárticos más abundantes en las *sky-islands* de México (Velázquez *et al.*, 2000; Rzedowski, 2006). Mundialmente, el género está integrado por cerca de 48 especies ampliamente distribuidas en latitudes boreales y templadas de Eurasia y Norteamérica, pero también en regiones subtropicales, donde ocurren en poblaciones más pequeñas (Farjon y Rushforth, 1989; Eckenwalder, 2009).

Las sinapomorfías morfológicas que distinguen al género *Abies* de otras coníferas incluyen la formación de yemas vegetativas en arreglos de tres, al igual que la morfología de los megaestróbilos o conos femeninos, compuestos por un raquis central siempre erecto que sostiene las escamas ovulíferas, las semillas y las brácteas (Xiang *et al.*, 2015). Los abetos alcanzan la madurez sexual aproximadamente a los 60 años, momento a partir de cual la tasa de mortalidad incrementa dentro de las poblaciones (e.g., Sanchez-Velasquez y Pineda-López, 1991). Aunque los individuos son monoicos, la separación espacial de los conos masculinos y femeninos, al igual que su dispersión y polinización anemófilas (Eckenwalder, 2009), favorecen la exogamia como sistema de apareamiento. Aparentemente, los abetos se originaron cerca de la costa Norteamericana del Pacífico hace aproximadamente 47 Ma. Su biogeografía y divergencia está representada por un proceso complejo, conformado por eventos de migración intercontinental, aislamiento geográfico, extinción e hibridación (Xiang *et al.*, 2015).

Los bosques de oyamel en México

En el centro y sur de México, los bosques de *Abies* (conocidos como oyameles) crecen en parches poblacionales aislados en *sky-islands*, condicionados a bajas temperaturas y precipitación abundante. Se encuentran asociados a pendientes escarpadas y suelos profundos y fértiles, derivados del intemperismo de las rocas volcánicas (Velázquez *et al.*, 2000; Rzedowski, 2006). En el norte, las poblaciones de oyamel pueden ocurrir en condiciones ambientales más secas y frías (Martínez-Méndez *et al.*, 2016). Su taxonomía es aún un tema de debate. Según sea la clasificación consultada, en México se reconocen entre seis y diez especies agrupadas dentro de las Secciones *Grandis* Engelm. emend. y *Oiamel* Franco emend (Farjon y Rushforth, 1989; enlistadas en Gernandt y Pérez-de la Rosa, 2014). Algunos análisis filogenéticos señalan que las especies de oyamel constituyen un grupo monofilético que divergió hace

aproximadamente 27 Ma, durante el Oligoceno tardío; un periodo climático de enfriamiento global que pudo haber dirigido la entrada del género a latitudes subtropicales (Aguirre-Planter *et al.* 2012; Xian *et al.*, 2015). En el territorio mexicano, los palinomorfos más antiguos han sido encontrados en las Formaciones Tepoztlán y Paraje Solo, mismas que datan del Mioceno temprano y el Plioceno tardío, respectivamente (Graham, 1999; Lenhardt *et al.*, 2013). Esto supone una reciente diversificación del género en México, lo que podría explicar los límites morfológicos y genéticos poco claros entre las especies (Aguirre-Planter *et al.*, 2012).

Abies flinckii y *Abies religiosa*

La Faja Volcánica Transmexicana alberga las áreas de distribución de oyamel con mayor extensión en México. En esta región, el género *Abies* se encuentra representado por dos especies ubicadas a lo largo de un gradiente longitudinal: *A. religiosa* distribuida en el centro y oriente de la Faja Volcánica; y *Abies flinckii*, restringida en la zona occidente (Fig. 6). Ambas especies pueden distinguirse según ciertos atributos morfológicos y de acuerdo a su fenología. Cualitativamente, las dos difieren según la forma y color de los megaestróbilos, la longitud y diámetro de los troncos, y en el tamaño y ápice de las acículas (Tabla 2). Recientemente, el análisis cuantitativo de estos mismos caracteres ha justificado su separación taxonómica (Shalisko, 2014).

En lo que refiere a su fenología, el crecimiento vegetativo (*bud flush*) en *A. flinckii* inicia durante febrero y marzo, mientras que en *A. religiosa* éste comienza al menos dos meses después. Adicionalmente, este mismo desfase ha sido observado en el desarrollo y maduración de los conos femeninos, donde los conos femeninos de *A. religiosa* y *A. flinckii* alcanzan la madurez en septiembre y noviembre, respectivamente (Tabla 2). Si bien la heredabilidad de estos caracteres aún debe ser estudiada en ensayos de procedencias/progenies, estas diferencias podrían estar señalando algún tipo de aislamiento reproductivo pre-cigótico. El modelado de nicho ecológico de *A. flinckii* y *A. religiosa* también ha revelado diferencias ecológicas significativas entre ellas, circunscrita a variables ambientales relacionadas con la precipitación y el tipo de suelo (Cruz, 2017; *en preparación*). Aunque pueden ocurrir en simpatría (e.g., Sierra de Manantlán, Aguirre-Planter *et al.*, 2000), generalmente las dos especies se mantienen segregadas en distintas altitudes (Tabla 2). La hibridación de las mismas aún debe ser estudiada.

Tabla 2. Diferencias morfológicas, fenológicas y ecológicas entre *Abies flinckii* y *A. religiosa*

Característica	<i>Abies flinckii</i>	<i>Abies religiosa</i>
Localidad tipo	El Izote, Jalisco.	¿?
Tronco	20-35 m largo, 1 m diámetro.	45-60 m largo, 1.5-2 m diámetro.
Acículas	Generalmente pectinadas; 2-9 cm de longitud y 0.15-0.2 ancho; ligeramente inclinadas hacia adelante, con ápices puntiagudos.	Planas, con (1-)3-5 (-9) cm de longitud, de color verde a verde oscuro, con un ápice puntiagudo o redondeado; con dos canales de resina en cada lado.
Estomas	Una o ninguna banda de estomas en el haz de la acícula; y dos bandas en el envés.	Cinco líneas interrumpidas de estomas en el haz de la acícula, especialmente cerca de la punta, o ausente; y con 8-12 líneas de estomas en cada banda de estomas, en el envés.
Conos masculinos	3-4 cm de largo por 0.7 cm de ancho, cilíndricos con un ápice redondeado, resinosos.	(1.2-) 2-4 cm de largo, rojos.
Conos femeninos	Oblongo-cónico, con un ápice pronunciado, 12-16 cm de longitud por 4-4.5 cm de ancho, de color verde olivo, con un raquis estrecho y cónico.	Cilíndrico-oblongos, (8-) 12-16 cm de longitud, 4-6.5 (-8) cm de diámetro, de color púrpura cuando son inmaduros y de color violeta oscuro o café cuando son maduros, con un raquis estrecho, ligeramente cónico.
Escamas ovulíferas	Alcanzan la madurez en noviembre. Flabeladas, 2.5-2.7 cm de largo por 3-4 cm de ancho.	Alcanzan la madurez en septiembre-octubre. ¿?
Brácteas	Oblongas-ovoales, 2.5 cm de largo por 0.7 cm de ancho, excertas, con la porción excerta de forma triangular (3-4 mm x 7 mm).	Tan largas como las escamas ovulíferas o excertas. 8-10 mm más largas que las escamas ovulíferas (excertas), con la porción excerta en forma triangular.
Semillas	0.8 -0.9 cm por 0.4 cm, con un ala de 2-2.5 por 1.1 1.5 cm, color café claro.	(0.8-) 0.9-1.2 (-1.4) cm, con un ala 1.8-2.4 cm.
Yemas vegetativas	2-4 mm, globosas o cónicas, con un ápice globoso o redondeado, resinoso, de color gris-púrpura.	2-4 mm, cubiertas por una resina amarilla y gruesa.
Ruptura de la yema	Febrero-marzo.	Abril-mayo.
Altitud	1,900-2,400 msnm.	2,500-3,500 msnm.
Bibliografía	Farjon y Rushforth (1989); Vázquez-García <i>et al.</i> (2014).	Eckenwalder (2009); Vázquez-García <i>et al.</i> (2014).

Diversidad genética de los bosques de oyamel

El estudio genético del oyamel, particularmente de *A. flinckii* y *A. religiosa*, sugiere que su historia evolutiva ha estado dirigida tanto por procesos selectivos como por procesos neutrales y cambios importantes en su demografía poblacional, mismos que han co-ocurrido en distintas escalas espaciales y temporales. Algunos análisis filogenéticos encontraron que si bien los *Abies* mexicanos constituyen un grupo monofilético independiente (Aguirre-Planter *et al.*, 2012; Xian *et al.*, 2015), las relaciones de ancestría entre las especies permanecen poco claras.

A escala poblacional (filogeográfica), la distinción de variantes alélicas de 14 isoenzimas en poblaciones de oyamel del centro y sur de México mostró un déficit de heterocigosis respecto al esperado por el modelo de H-W y en relación a otras coníferas de amplia distribución. Sin embargo, de todas las especies mesoamericanas, *Abies flinckii* y *A. religiosa* exhibieron los niveles de polimorfismo más altos, distribuidos principalmente entre las poblaciones dentro de cada linaje (Aguirre-Planter *et al.*, 2000). Estos mismos patrones de diferenciación y estructura intra e interespecíficos han sido observados también con dos marcadores mitocondriales y tres SSRs cloroplásticos. La distribución de las frecuencias alélicas de estos últimos sugiere la integridad genética de *A. concolor* y *A. flinckii*. En contraste, el resto de las especies parecen estar en un estado incipiente de divergencia (Aguirre-Planter *et al.*, 2012), consecuencia del flujo génico reciente y/o de la retención de la variación genética ancestral en las poblaciones (Jaramillo-Correa *et al.*, 2008). Particularmente en *A. flinckii* y *A. religiosa*, se han genotipado cuatro SSRs nucleares en individuos de dos y cuatro poblaciones de cada linaje respectivamente. Contrario a lo observado con isoenzimas y ADN mitocondrial, la heterocigosis dentro de las poblaciones es similar a lo reportado en otras coníferas con amplia distribución. Sin embargo, los patrones de diferenciación genética y la asignación de los individuos a distintos grupos sugieren cierto nivel de estructura al interior de *A. flinckii* (Múgica-Gallart, 2013).

La distribución de las frecuencias alélicas y los patrones de estructura genética observados en el oyamel han sido interpretados como resultado de distintos procesos demográficos históricos que operaron en distintas escalas espaciales (e.g., migración altitudinal de las *sky-islands*, Aguirre-Planter *et al.*, 2000; Jaramillo-Correa *et al.*, 2008; Múgica-Gallart, 2013; dinámica metapoblacional, Méndez-González *et al.*, 2017). No obstante, las diferencias morfológicas, ecológicas y en su fenología (Tabla 2) sugieren que la selección también ha jugado un papel importante en su evolución. Por ejemplo, a una escala espacial fina se encontró evidencia de que

la selección disrruptiva ha (o está) operando sobre 12 loci, cuya variación parece explicar la mayor parte de la diferenciación genética entre subpoblaciones asociadas a distintos tipos de suelos (Méndez-González *et al.*, 2017).

2. JUSTIFICACIÓN

Frente a los cambios ambientales que ha experimentado la FVTM en los últimos 10 Ma (Caballero *et al.*, 2010; Ferrari *et al.*, 2012), a riesgo de extinguirse localmente, las coníferas en general y los bosques de oyamel en particular, han tenido la capacidad de responder a través de plasticidad fenotípica, adaptación y migración hacia sitios con condiciones climáticas adecuadas (Aitken *et al.*, 2007). La distribución del polimorfismo genético neutral y adaptativo da cuenta de la mayoría de estas respuestas. De tal suerte que la variación genética en las poblaciones constituye un acervo de información valioso en la predicción de escenarios futuros para las especies forestales (Petit *et al.*, 2008) y, por tanto, para su adecuado manejo y conservación.

Los bosques de *Abies* en el centro de México se distribuyen en parches poblacionales aislados (Velázquez *et al.*, 2000; Rzedowski, 2006). Se espera que el actual escenario de calentamiento global y el impacto antropogénico (e.g., deforestación) aceleren la fragmentación y/o extinción local de estas poblaciones (Gernandt y Pérez-de la Rosa, 2013), lo que hace de los bosques de oyamel susceptibles a la erosión genética y, con ello, a una reducción en su capacidad para responder a los cambios en su ambiente (pero ver Kramer *et al.*, 2008).

Por lo tanto, para mitigar el efecto negativo de la fragmentación en el oyamel es importante:

- 1) Conocer la distribución actual del polimorfismo genético en las poblaciones, y
- 2) Entender dicha distribución como una consecuencia de la dinámica ambiental histórica y de los procesos evolutivos que ocurrieron en las poblaciones en el pasado.

Si bien la diversidad genética del oyamel ha sido estudiada mediante distintos marcadores moleculares (ver Introducción. - Antecedentes genéticos de los bosques de oyamel), su resolución ha sido insuficiente para dilucidar las respuestas evolutivas de las poblaciones frente a los cambios geológicos y climáticos del pasado.

La labor de este estudio es ampliar y analizar la información genética del oyamel en el centro de México, con el fin de identificar los principales procesos evolutivos que explican la distribución de su variación genética, en un contexto ambiental complejo como lo es el de la FVTM.

3. OBJETIVOS

Investigar los niveles de variación genética y su distribución dentro y entre las poblaciones de *Abies flinckii* y *A. religiosa*, distribuidas a lo largo de un gradiente longitudinal en la Faja Volcánica Transmexicana; y analizar dicha variación con métodos de inferencia estadística robustos para determinar sus causas putativas, dentro del contexto histórico ambiental de la región.

Los objetivos particulares son:

- Explorar los niveles de variación genética nuclear, tanto con marcadores SSRs como con secuencias nucleotídicas; así como su distribución dentro y entre 20 poblaciones de oyamel distribuidas a lo largo de la FVTM.
- Determinar la estructura genética poblacional reciente y compararla con su clasificación taxonómica más aceptada (Farjon and Rushforth, 1989).
- Inferir si las poblaciones han experimentado distintas presiones de selección a través del análisis de 11 genes nucleares y en vista del gradiente climático longitudinal que presenta la FVTM (Niza-Gómez *et al.*, 2011).
- Poner a prueba distintas hipótesis de divergencia y demográficas, construidas explícitamente a partir del conocimiento de los principales eventos geológicos y climáticos en la FVTM; y determinar cuál(es) modelo(s) explican mejor la distribución de la diversidad.

4. HIPÓTESIS

Dadas las características biológicas y de historia de vida de las coníferas (Petit y Hampe, 2006; Prunier *et al.*, 2016) los bosques de oyamel, al igual que otras coníferas subtropicales mexicanas, albergan una diversidad genética alta y baja respectivamente dentro y entre sus poblaciones.

Anteriormente se ha descrito que el complejo de especies de *Abies* en Mesoamérica comparten entre ellas gran parte de su variación (Jaramillo-Correa *et al.*, 2008; Aguirre-Planter *et al.*, 2012), por lo que la estructura genética poblacional de *A. flinckii* y *A. religiosa* es débil pero congruente con su separación taxonómica.

La distribución poblacional de *A. flinckii* y *A. religiosa* coincide con un gradiente climático a lo largo de la FVTM (Niza-Gómez *et al.*, 2011). Por lo tanto, algunos de los genes analizados en este estudio están implicados en procesos de selección y adaptación local.

La divergencia y demografía histórica de los grupos genéticos de oyamel es explicada por una dinámica de *sky-islands*, con eventos de colonización favorecidos durante etapas climáticas glaciales y con una dirección definida por la migración del vulcanismo durante la última etapa de formación de la FVTM.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Muestreo poblacional y análisis de SSRs nucleares

Se muestrearon 399 individuos en seis y 14 poblaciones de *A. flinckii* y *A. religiosa*, respectivamente (Tabla 3; detalles de colecta en Aguirre-Planter *et al.*, 2000; Méndez-González *et al.*, 2017; González-Linares, en prep), de los cuales se extrajo el ADN según el protocolo CTAB 2% mini-prep modificado por Vázquez-Lobo (1996).

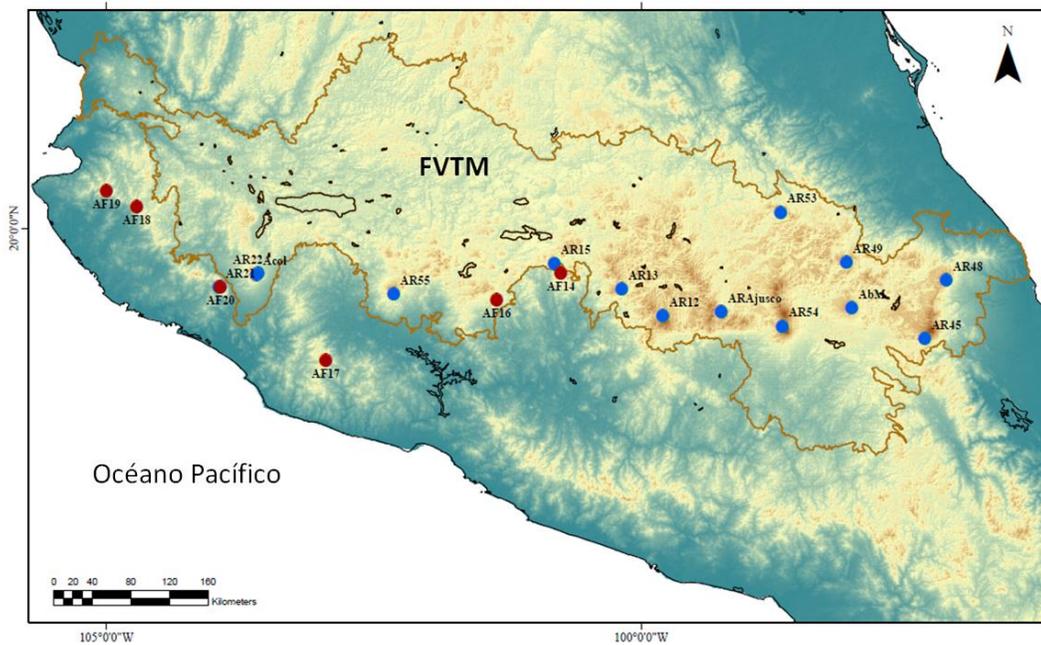


Fig. 6. Distribución de las poblaciones de *Abies flinckii* (puntos rojos) y *Abies religiosa* (puntos azules) muestreadas y analizadas en el presente estudio.

Tabla 3. Coordenadas geográficas y altitud (msnm) de las poblaciones de oyamel investigadas en el presente estudio. Número de individuos analizados por población (N) y por marcador molecular (microsatélites (SSRs) ó secuencias de ADN (sec)). Los datos de SSRs de las poblaciones marcadas con * fueron obtenidos anteriormente (Múgica-Gallart, 2013) y re-analizados en este estudio.

Especie	Localidad	Clave	Lat	Long	Altitud	N (SSRs)	N(sec)
<i>A. flinckii</i>	El Cuale	Af19	20.35	-105.00	2490	20	7
<i>A. flinckii</i>	Cumbre de Guadalupe	Af18*	20.20	-104.72	2100	22	5
<i>A. flinckii</i>	El Terreno	Af20	19.45	-103.93	2500	20	7
<i>A. religiosa</i>	Sierra Manantlán	Ar21	19.45	-103.95	2500	18	7
<i>A. religiosa</i>	Nevado de Colima	Ar22*	19.58	-103.58	3330	20	7
<i>A. religiosa</i> ¿?	Nevado de Colima	Acol	19.57	-103.60		19	-
<i>A. flinckii</i>	Dos Aguas	Af17	18.77	-102.95	2500	20	7
<i>A. flinckii</i>	Los Sauces	Af16	19.33	-101.35	2250	20	7
<i>A. flinckii</i>	El Caracol	Af14*	19.58	-100.75	2340	20	4
<i>A. religiosa</i>	Tancítaro	Ar55*	19.38	-102.32	3030	20	7
<i>A. religiosa</i>	Puerta Garnica	Ar15	19.67	-100.82	2880	20	7
<i>A. religiosa</i>	La Cañada	Ar13	19.43	-100.18	2800	20	7
<i>A. religiosa</i>	Nevado de Toluca	Ar12	19.18	-99.80	3240	20	7
<i>A. religiosa</i>	Ajusco	Ajus	19.22	-99.25		20	7
<i>A. religiosa</i>	Volcán Popocatepetl	Ar54	19.08	-98.68	3330	19	7
<i>A. religiosa</i>	Malinche	AbM	19.26	-98.03		19	-
<i>A. religiosa</i>	El Chico	Ar53*	20.15	-98.70	2940	19	7
<i>A. religiosa</i>	Tlaxco	Ar49	19.68	-98.08	2760	20	7
<i>A. religiosa</i>	Volcán Atlítzin	Ar45	18.97	-97.35	3060	21	7
<i>A. religiosa</i>	Cofre de Perote	Ar48*	19.52	-97.15	3510	22	7

Para corroborar la concentración y calidad del ADN, se corrieron alícuotas de 2 µl de ADN y 3 µl de buffer de carga (5x go TAQ Flexi, Promega) en geles de agarosa al 0.8 % en TBE 0.5x, teñidos con bromuro de etidio durante 25 minutos y a una intensidad de 120 V. Los geles fueron visualizados con luz UV para evaluar la calidad de la extracción según la integridad e intensidad de las bandas y para obtener un aproximado de la concentración de ADN según una referencia de pesos moleculares específicos (1,000pb, Thermo Scientific™). Se determinó que cada volumen de extracción contenía entre 20 y 200 ng de ADN.

Amplificación y Genotipificación de SSRs nucleares

Se amplificaron cuatro microsatélites nucleares previamente diseñados para *Abies guatemalensis* (Rasmussen *et al.*, 2008) y adaptados para *A. flinckii* y *A. religiosa* (Apéndice 1, Múgica-Gallart, 2013). Todas las reacciones se realizaron en volúmenes finales de 20 μ l, con ~10 ng de ADN y a las concentraciones descritas en el Apéndice 1. En el caso del locus *Ab20*, el volumen final incluyó 0.15% de Triton X-100 y 5% de albúmina sérica bovina (BSA). Las condiciones de PCR para cada microsatélite se encuentran especificadas en el Apéndice 2. Los *primers* fueron marcados con distintas fluorescencias para su posterior reconocimiento y genotipado (Apéndice 1). Las amplificaciones fueron verificadas en geles de agarosa al 1.3% teñidos con bromuro de etidio. Se corrieron 2 μ l de cada producto de amplificación por 20 minutos a 120v. Durante la visualización de los geles en luz UV, se consideró que la amplificación fue exitosa cuando se observaron una o dos bandas en el intervalo de tamaño reportado previamente (Múgica-Gallart, 2013). Para determinar el tamaño aproximado de las bandas, se utilizó un marcador de pesos molecular de 100 pb (100pb, Thermo Scientific™).

Los productos de PCR fueron analizados en un secuenciador ABI Prism 3730xl Analyzer (Applied Biosystems®), en la Universidad de Illinois, con el marcador de peso molecular Liz 600 Size Standar (Applied Biosystems®). Para optimizar recursos, los productos de PCR fueron mezclados según la fluorescencia de los *primers* y el tamaño esperado de los alelos. La lectura de los cromatogramas se realizó con el programa GeneMarker v.2.2.0 (Hulce *et al.*, 2011). Para cada producto de PCR, se definió el tamaño alélico y su condición genética (homócigo o heterócigo) mediante su comparación directa con el patrón de tamaño Liz 600 (Applied Biosystems®).

Se interpretaron como alelos a los picos más altos en los cromatogramas (como describe Selkoe y Toonen, 2006) dentro o cercanos al intervalo alélico reportado para *A. religiosa* (Múgica-Gallart 2013). La base de datos final fue inspeccionada en el programa Micro-Checker v2.2.3 (Van Oosternhout *et al.*, 2004) para detectar errores durante el genotipado. Para cada locus se cuantificó la probabilidad y frecuencia de alelos nulos con el software ML-NullFreq (Kalinowski y Taper, 2006). Este programa calcula una función de verosimilitud para estimar la frecuencia de alelos nulos más probable, dadas las frecuencias genotípicas observadas en las poblaciones, así como un valor β asociado a cualquier otro tipo de error.

Diversidad genética y consanguinidad.

Se calcularon distintos estimadores con los programas GenAlex 6.503 (Peakall y Smouse, 2012) y la librería *hierfstat* (Goudet y Jombart, 2015) en *R* (R Core Team, 2013). Estos incluyeron el número de alelos (N_a), el número efectivo de alelos (N_{ea}), la riqueza alélica (R_a , en este caso los valores fueron ponderados por el número mínimo de alelos encontrado en una población), la heterocigosis esperada (H_e), la heterocigosis observada (H_o) y el número de alelos privados (A_p).

Los niveles de consanguinidad por locus y población fueron cuantificados mediante el estadístico F_{IS} (Nei, 1987) en el programa FSTAT (Goudet, 2001) y con la librería *hierfstat* (Goudet y Jombart, 2015) en *R*. Se construyeron intervalos de confianza (95%) mediante 10,000 *bootstrap* para determinar la significancia de estos valores. También se realizaron pruebas exactas para verificar la presencia de equilibrio Hardy-Weinberg (H-W) por población mediante simulaciones de Monte Carlo (Guo y Thompson, 1992), bajo el supuesto de que los apareamientos ocurren de manera aleatoria dentro de cada población (y se encuentran en equilibrio H-W). Cuando la hipótesis nula fue rechazada, se estimaron los valores P asociados al déficit o exceso de heterocigos. La segregación independiente de los alelos entre pares de loci fue corroborada mediante una prueba de desequilibrio de ligamiento gamético. Esta prueba calcula un cociente de verisimilitud entre pares de loci mediante simulaciones de Monte Carlo para aproximar al valor P , donde la hipótesis nula es la segregación independiente. Estas dos últimas pruebas se realizaron en el programa Genepop v. 4.6. (Rousset, 2008), con 10,000 *dememorizaciones*, 20 *batches* y 5,000 iteraciones por *batch*.

Diferenciación genética y estructura.

Con el objetivo de cuantificar la varianza en las frecuencias alélicas entre las poblaciones, se calcularon los índices F_{ST} (Weir y Cockerham, 1984) y R_{ST} (Slatkin, 1995). Mientras que el primero considera un locus bi-alélico para cuantificar la diferenciación genética, el segundo además presupone un modelo de mutación por pasos. Ambos índices, así como su significancia estadística, fueron estimados en el software Arlequin 3.5 (Excoffier y Lischer, 2010) con 10,000 permutaciones y a un nivel de significancia del 0.05. Debido a que la probabilidad de alelos nulos fue alta para el locus *Ab27*, se realizó una corrección de F_{ST} por exclusión de alelos nulos (ENA, por sus siglas en inglés) en el programa FreeNa (Chapuis y Estoup, 2006). Este software calcula la frecuencia esperada de alelos nulos y les asigna un tamaño alélico para construir una segunda matriz de F_{ST}

corregida. Se utilizó una prueba no paramétrica de Wilcoxon para identificar si la distribución de los valores de las matrices F_{ST} y F_{ST} corregida por alelos nulos se distribuyen de manera diferente.

Los microsatélites se distinguen por tener tasas de mutación elevadas, por lo que estadísticos como F_{ST} podrían subestimar los niveles de diferenciación genética entre las poblaciones. Por esta razón, se calcularon los índices G_{ST} (Nei, 1973; construido para más de dos alelos), G'_{ST} (Hedrick, 2005; G_{ST} estandarizada por la heterocigosis subpoblacional más alta) y D_{EST} (Jost, 2008; que mide la fracción de la variación alélica entre poblaciones). Los tres índices se estimaron entre pares de poblaciones y con intervalos de confianza del 95% mediante 10,000 *bootstraps*, con la librería *diveRsity* (Keenan *et al.*, 2013) en R. Para identificar si los patrones de diferenciación dados por los distintos estadísticos son consistentes entre sí, se llevó a cabo una prueba de congruencia entre las matrices de diferenciación genética con la librería *ape* (Paradis *et al.*, 2004) en R. En su modalidad global, esta prueba calcula un valor W de congruencia general entre las matrices y un valor P asociado. En este caso, si $P < 0.05$, se rechaza la hipótesis nula de incongruencia entre las matrices. En su modalidad parcial, el programa calcula un valor M (correlación de Mantel) que cuantifica la contribución de cada matriz a la totalidad de la congruencia, así como un valor P corregido, que mide la significancia con la que cada matriz aporta o no a la totalidad de la congruencia.

Para inferir el número de grupos genéticos en las poblaciones se utilizaron dos aproximaciones. La primera utiliza simulaciones MCMC para generar una distribución de probabilidad multivariada de frecuencias alélicas (y proporciones de mezcla genética) bajo el supuesto de que los genotipos observados han sido muestreados de una de las “ K ” poblaciones ancestrales (valores entre 1 y 10). Este análisis de asignación bayesiana se realizó con el programa STRUCTURE 2.1 (Pritchard *et al.*, 2000). Se utilizó un modelo de mezcla genética (*admixture*) con frecuencias alélicas correlacionadas a través de procesos de migración. Para cada K ($K = 1-10$) se llevaron a cabo 10 réplicas, con un *burnin* de 100,000 pasos seguidos por una longitud de cadena de 1,000,000 de iteraciones. Se llevó a cabo una prueba estadística *ad hoc* de ΔK (Evanno *et al.*, 2005) en el software STRUCTURE HARVESTER (Earl, 2012) para identificar el valor de K que explica mejor los genotipos observados. No obstante, ya que las diferentes K pueden estar reflejando distintos procesos demográficos y/o selectivos (Meirmans, 2015), se analizaron los resultados de agrupamiento del valor K más probable y de los valores K inmediatos a éste. Se eligió el patrón de agrupamiento que garantizó una explicación geográfica y biológica.

El segundo método implementado fue un análisis discriminante de componentes principales (DAPC, por sus siglas en inglés). En un primer paso, el análisis DAPC resume la variación genética de los individuos en componentes principales (PC). Esta información se usa después en un análisis discriminante (DA) para crear variables que maximizan la variación genética dada por la divergencia entre los grupos y minimizan aquella que se encuentra entre los individuos dentro de las subpoblaciones (Jombart *et al.*, 2010). Con el fin de recuperar la mayor parte de la información genética, se utilizaron 120 PC, se seleccionó el número de unidades genéticas según el criterio de información bayesiano (BIC) y se consideraron cuatro discriminantes lineales. Este análisis se llevó a cabo con la librería *adegenet* (Jombart *et al.*, 2015) en *R*.

Para corroborar si las poblaciones exhiben algún patrón de SGS, se realizaron análisis de aislamiento por distancia con la librería *adegenet* (Jombart *et al.*, 2015) en *R*. Se estimó la correlación entre una matriz de distancias geográficas (euclidiana) y una matriz de distancias genéticas (distancias de Nei, 1972 y de Reynolds *et al.*, 1983). Los datos fueron permutados con el fin de generar una distribución esperada bajo un modelo sin estructura geográfica con el fin de evaluar la significancia estadística del valor observado. Se hizo una prueba para todas las poblaciones, otra que sólo incluyó las poblaciones de *Abies religiosa* y del grupo genético mezclado; y una más para analizar las poblaciones de los grupos genéticos occidentales y las poblaciones de mezcla genética (ver resultados de STRUCTURE).

Cuando las pruebas estadísticas requirieron la comparación simultánea de múltiples hipótesis, se utilizó la corrección FDR (tasa de descubrimientos falsos) que predice estadísticamente la proporción de falsos positivos (Benjamini, y Hochberg, 1995).

5.2 Análisis de secuencias nucleares

Se seleccionaron entre cuatro y siete individuos por población de oyamel (Tabla 3) para secuenciar once genes nucleares de copia única. Para ocho de estos genes, las secuencias de los *primers* fueron obtenidas a partir del transcriptoma anotado de *Abies alba* (Roschanski *et al.*, 2013), mientras que para el resto (factores de transcripción MYB), los oligos fueron diseñados anteriormente para *A. religiosa* (Ramírez-Lerma, 2012) (Tabla 4). Estos mismos marcadores fueron secuenciados respectivamente en uno y tres individuos de *Abies nordmanniana* y *A. balsamea*, mismos que fueron utilizados como grupo externo. La amplificación y secuenciación de los genes se llevó a cabo en el Departamento de Ciencias Genómicas de la Universidad de Washington. Las secuencias

resultantes fueron alineadas manualmente en el programa BioEdit v 7.2.6 (Hall, 1999) y los sitios polimórficos fueron corroborados mediante la inspección visual de los cromatogramas en el software CodonCode Aligner (CodonCode Corporation). Se utilizaron las secuencias de mRNA de *A. alba* y *Picea glauca* para identificar las regiones codificantes y no codificantes en cada uno de los genes.

Se infirieron las fases o haplotipos de cada gen mediante el algoritmo coalescente-bayesiano PHASE implementado en el software DnaSP v 5.10.01 (Librado y Rozas, 2009), con un *burnin* de 1,000 pasos, 10,000 iteraciones y presuponiendo un modelo general de recombinación. Para describir la cantidad de variación genética, se estimó el número total de sitios segregantes (S), sinónimos (S_{syn}) y no sinónimos (S_n); la diversidad nucleotídica θ_w (Watterson, 1975) y θ_π (Tajima, 1983); el número de haplotipos (h) y la diversidad haplotípica (Hd). Adicionalmente, se calculó el número mínimo de eventos de recombinación (Rm) mediante la prueba de cuatro gametos (Hudson y Kaplan, 1985). También se estimaron los estadísticos Za y ZZ (Rozas *et al.*, 2001), con los que es posible identificar respectivamente los patrones de correlación entre sitios segregantes adyacentes y entre la totalidad de éstos. De tal forma que, cuando $ZZ > 0$, se infiere que el desequilibrio de ligamiento entre los sitios polimórficos es bajo. Tanto los estadísticos de diversidad como los de recombinación y desequilibrio de ligamiento fueron calculados para cada gen en cada población y grupo genético (según el análisis en STRUCTURE) en el programa DnaSP v 5.10.01 (Librado y Rozas, 2009).

Con el fin de conocer los patrones de diferenciación genética dados por cada uno de los genes nucleares, se estimó F_{ST} entre pares de poblaciones y grupos genéticos en el programa Arlequin 3.5 (Excoffier y Lischer, 2010) utilizando 10,000 iteraciones para evaluar su significancia estadística. La consistencia entre los patrones de diferenciación observados para cada gen fue analizada con una prueba de congruencia implementada en la librería *ape* (Paradis *et al.*, 2004) en R tal como se describió anteriormente para los SSRs.

Tabla 4. Nombre, longitud de las secuencias (pb), número de regiones no codificantes y función biológica de los 11 genes nucleares secuenciados en las poblaciones de oyamel. El ID corresponde al asignado en el transcriptoma de *A. alba* (ver Roschanski *et al.*, 2013).

Gen	ID	Pb	Intrón	Función biológica
<i>CesA1</i>	3918	332	0	Síntesis de celulosa; organización de la pared celular; biogénesis de pared celular secundaria.
<i>COBRA-like</i>	9652	468	1	Síntesis y regulación de deposición de celulosa.
Porina <i>Mip1</i>	8248	728	1	Respuesta a estrés por déficit de agua y/o ambientes salinos; transporte transmembranal.
α -1, 6 <i>xilosiltransferasa</i>	14455	759	0	Elongación del pelo radicular; biosíntesis de xiloglucano.
<i>Fructosa 1,6 difosfato aldolasa</i>	14514	308	0	Glicólisis.
Porina <i>Mip1</i>	23660	749	1	Respuesta a estrés por déficit de agua y/o ambientes salinos; transporte transmembranal.
<i>Heat shock</i>	27033	422	0	Respuesta a patógenos microbianos; biosíntesis de auxinas, respuesta a estrés por calor y/o radiación solar.
<i>Lhca4</i>	8855	850	2	Fotosíntesis.
<i>ArMybVI</i>		721	1	Regulación de la transcripción.
<i>ArMybIX</i>		409	1	Regulación de la transcripción.
<i>ArMybSTR</i>		566	1	Regulación de la transcripción

Neutralidad y selección.

Algunos de los genes analizados en este estudio potencialmente están implicados en procesos selectivos en otras coníferas (revisados en Jaramillo *et al.*, 2015), por lo que un paso obligado en la inferencia histórico-demográfica del oyamel es poner a prueba la neutralidad selectiva de los marcadores. Ya que el espectro de frecuencias da cuenta de los cambios demográficos y/o selectivos que han ocurrido en las poblaciones (Zeng *et al.*, 2006), se calcularon los estadísticos de neutralidad D (Tajima, 1989), F_s (Fu, 1997), H (Fay y Hu, 2000) y H_{norm} (Zeng *et al.*, 2006), mismos que permitieron la descripción de los espectros de frecuencias de cada gen, en cada población y grupo genético (según STRUCTURE). Para explorar la demografía histórica de los linajes, se simularon 15 posibles escenarios en el programa *mlcoalsim* (Ramos-Onsins y Mitchell-Olds, 2007). Los modelos más simples suponen una demografía estable (i.e., escenario 10: sin cambios en el N_e de la población), un cuello de botella o una expansión demográfica exponencial (Apéndice 12). El resto de los escenarios considera que las poblaciones atravesaron por cuellos de botella y expansión demográfica de forma alternada, en congruencia con la hipótesis de migración

altitudinal de las *sky-islands* durante el Pleistoceno (con especial énfasis en los eventos glaciales MIS XII y UMG). Los detalles específicos de cada escenario pueden ser consultados en el Apéndice 12. Las simulaciones coalescentes se realizaron con 10,000 iteraciones y bajo el supuesto de los valores de θ_w y R ($R = 4N_e r$, donde r es la tasa de recombinación) observados en cada grupo genético y calculados en el software DnaSP v 5.10.01 (Librado y Rozas, 2009). Para identificar cuál(es) de los modelos demográficos se ajustan mejor a los datos genéticos empíricos, se compararon los estadísticos de neutralidad observados con los obtenidos en las simulaciones coalescentes. Cuando más de un escenario fue compatible con los datos observados, se calculó la verosimilitud de cada uno con el fin de reconocer al escenario más probable. Para identificar si la selección está actuando sobre alguno de los genes, se calculó la significancia estadística de las pruebas de neutralidad mediante la comparación los valores observados con la de su distribución esperada, según el modelo demográfico más probable para cada grupo genético.

Para complementar los resultados de los estadísticos de neutralidad, para cada gen en cada grupo genético, se comparó la tasa de sustitución sinónima y no sinónima mediante el estadístico ω ($\omega = d_N/d_S$, donde d_N es la tasa de sustitución no sinónima por sitio no sinónimo y d_S es la tasa de sustitución sinónima por sitio sinónimo), calculadas en el programa DnaSP v 5.10.01 (Librado y Rozas, 2009). Adicionalmente, se realizaron pruebas HKA de Máxima Verosimilitud en el programa MLHKA (Wright y Charlesworth, 2004). En un escenario neutral, la relación entre el polimorfismo intraespecífico y la divergencia interespecífica es consistente entre todos los loci. La prueba MLHKA utiliza el cociente de verosimilitud para comparar un escenario neutral con los distintos modelos en los que uno o más loci están sujetos a selección. La significancia de cada prueba fue evaluada comparándola con una distribución χ^2 esperada. Las pruebas MLHKA se llevaron a cabo para cada grupo genético, asumiendo los valores de S , θ_w , y el número de diferencias pareadas interespecíficas observados (usando a *Abies balsamea* como grupo externo), con una longitud de la MCMC de 100,000 pasos.

Demografía histórica y divergencia de los linajes.

Una vez descartados aquellos loci potencialmente sujetos a selección y/o recombinación histórica, se usó la información genética de los genes nucleares restantes (ver resultados) para elucidar los procesos demográficos y la divergencia de los grupos genéticos de oyamel en la FVTM. Se implementaron múltiples análisis ABC en el programa DIYABC v 2.1.0 (Cornuet *et al.*, 2008) con

el fin de identificar aquellas hipótesis históricas que mejor explicaran los patrones de variación genética observados. Inicialmente se modelaron y probaron ocho escenarios basados en los procesos de colonización y fragmentación propuestos para la FVTM (Fig. 5; Mastretta-Yanes *et al.*, 2015). Los primeros cuatro escenarios proponen que *A. jaliscana*, *A. flinckii* y las poblaciones de *Abies* de Manantlán (de ahora en adelante *Abies* sp. Manantlán) divergieron secuencialmente a medida que su ancestro común migraba de este a oeste a lo largo de la FVTM, siguiendo un patrón de colonización de paso a paso (*stepping-stone*). Esto se basó principalmente en los patrones de migración del vulcanismo durante la última etapa de formación de la FVTM (escenarios 1-4, Fig. 7). Particularmente, dos de estas hipótesis (escenarios 1 y 2, Fig. 7) suponen que *A. religiosa* y *A. jaliscana* divergieron temprano en la evolución del género en México ($t4$), al inicio de la actividad tectónica en el Occidente de México. Otros tres escenarios plantean que *A. jaliscana*, *A. flinckii* y *Abies* sp. Manantlán comparten un ancestro común (escenarios 5-7, Fig. 8), y que la divergencia de este ancestro y *A. religiosa* debió ocurrir de manera temprana ($t4$). Estos escenarios proponen la divergencia de los grupos genéticos del occidente de la FVTM es congruente temporalmente con la evolución de los principales valles tectónicos en la región ($t3$, $t2$). Una última hipótesis supone que *A. jaliscana*, *A. flinckii* y *Abies* sp. Manantlán divergieron de manera simultánea, hacia finales del UMG (h , escenario 8, Fig. 8). Todas las hipótesis filogeográficas proponen el contacto secundario y mezcla genética entre *Abies* sp. Manantlán (o del ACOcc) y *A. religiosa* (según los resultados del análisis STRUCTURE), así como la expansión demográfica de este último linaje hace aproximadamente 1 Ma ($t1$), cuando los principales estratovolcanes pudieron fungir como “puentes” entre poblaciones previamente separadas (ver Mastretta-Yanes *et al.*, 2015).

Los tiempos de divergencia se ajustaron a una distribución uniforme, con límites superiores e inferiores congruentes con las dataciones disponibles para los principales eventos geológicos y climáticos en la FVTM (ver apéndice 15) transformados a número de generaciones de *Abies* (1 generación = 60 años; Sanchez-Velasquez y Pineda-López, 1991). De igual modo, las distribuciones previas de los tamaños poblacionales fueron uniformes, cuyos límites fueron definidos según los resultados de simulaciones preliminares.

En un escenario neutral, la tasa de mutación (μ) obedece la expresión: $\mu=Ks/2T$ (revisado en Baer *et al.*, 2007). Para obtener un estimado de μ , se calculó la divergencia en los sitios silenciosos (Ks , en DnaSP v 5.10.01; Librado y Rozas, 2009) entre cada uno de los grupos genéticos y *Abies nordmanniana* (usada como grupo externo) para cada locus y se consideró un tiempo de

divergencia (T) de 43.1 Ma que es el estimado para la separación entre las secciones *Abies* y *Oiamel* (Xiang *et al.*, 2015). La media geométrica de μ para todos los loci fue de 4.31×10^{-10} mutaciones por sitio por año, lo que corresponde a 2.59×10^{-8} mutaciones por sitio por generación. Por lo tanto, en los análisis ABC se asignó una tasa de mutación con una distribución previa tipo gamma y con un límite superior e inferior amplios de 1×10^{-7} y 1×10^{-9} mutaciones por sitio por generación respectivamente.

Con el fin de capturar la mayor parte de información genética y evitar la redundancia, se seleccionaron cinco estadísticos para resumir la variación en las simulaciones: 1) el número de haplotipos, 2) D (Tajima, 1989), 3) el promedio de los números del nucleótido más raro en sitios segregantes, 4) la diferenciación media pareada (B) y 5) F_{ST} (Hudson *et al.*, 1992). Para cuantificar la distancia (euclidiana) entre los datos observados y las simulaciones coalescentes, se utilizaron en total 35 estadísticos (ver manual de DIYABC v. 2.1).

Tabla 5. Parámetros de las distribuciones previas utilizadas en el análisis ABC. Los límites superiores e inferiores de los tiempos de divergencia son congruentes con los registros cronológicos de los principales eventos geológicos y climáticos en la FVTM, transformados a número de generaciones

Parámetros	Distribución	Mínimo	Máximo	Media
t4	Uniforme	16666	88333	
t3	Uniforme	10000	50000	
t2	Uniforme	10000	50000	
t1	Uniforme	250	16666	
h	Uniforme	50	250	
N1	Uniforme	100	100000	
N2	Uniforme	100	100000	
N3	Uniforme	100	100000	
N4	Uniforme	100	100000	
N5	Uniforme	100	500000	
Na5	Uniforme	100	100000	
Nanc	Uniforme	1000	500000	
NA	Uniforme	100	100000	
ra	Normal	0.001	0.999	0.5
μ	Gamma	1×10^{-9}	1×10^{-7}	1×10^{-8}

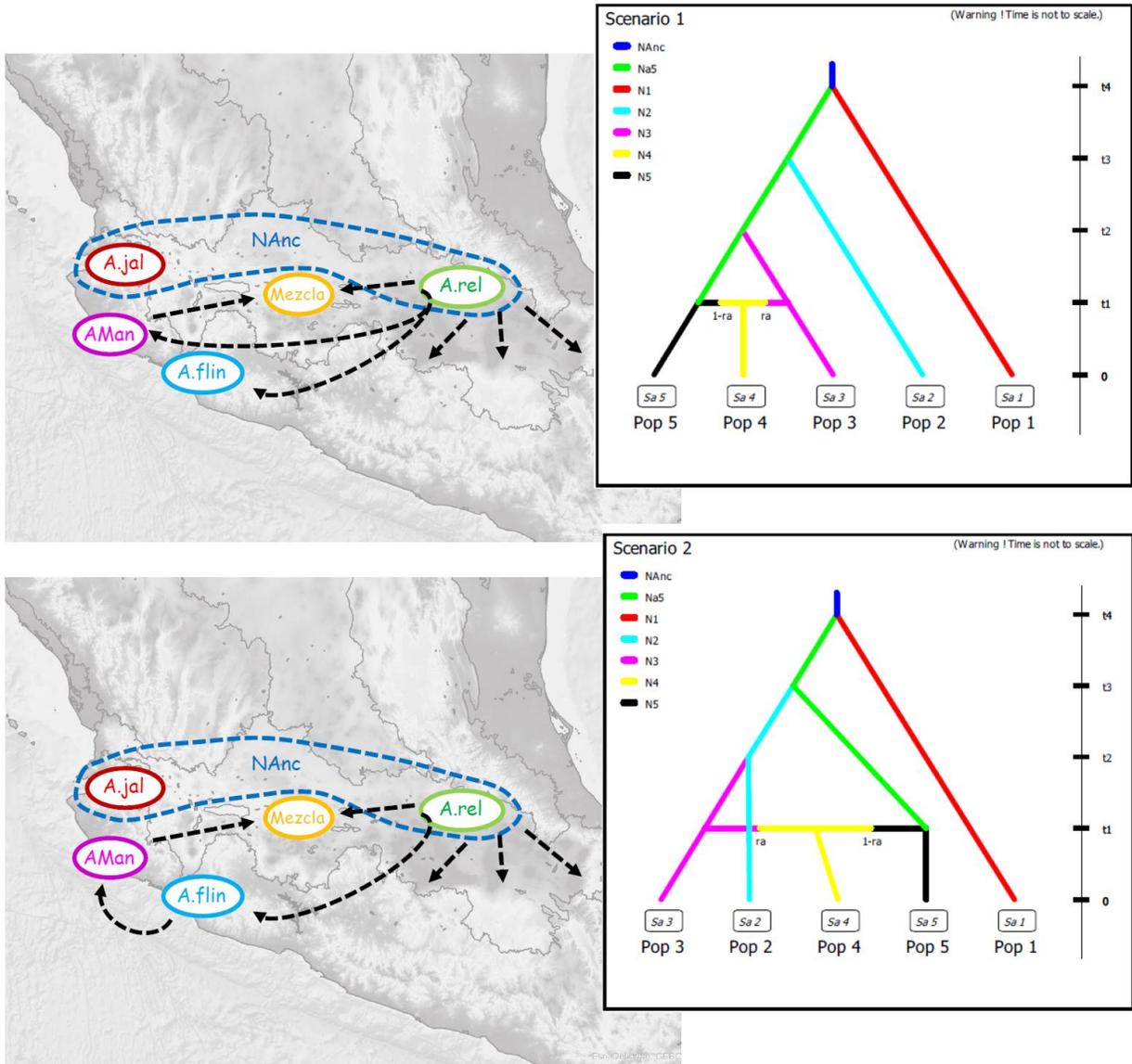


Fig. 7. Hipótesis filogeográficas probadas para identificar el origen de los grupos genéticos de *Abies* en el centro de México por procesos de colonización tipo *stepping-stone*. Los escenarios 1 y 2 proponen la divergencia inicial de *A. jaliscana* y *A. religiosa*. La subsecuente colonización de este último linaje dio origen a *A. flinckii* y *Abies* sp. Manantlán. Ambas hipótesis proponen la expansión del área de distribución de *A. religiosa* y el contacto secundario de este linaje con *Abies* sp. Manantlán.

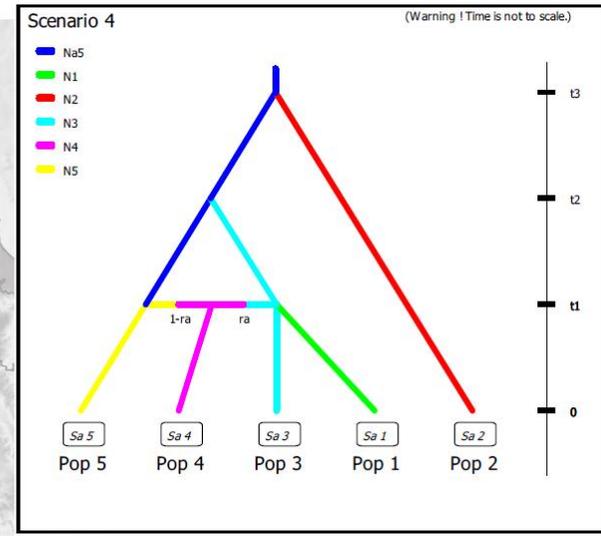
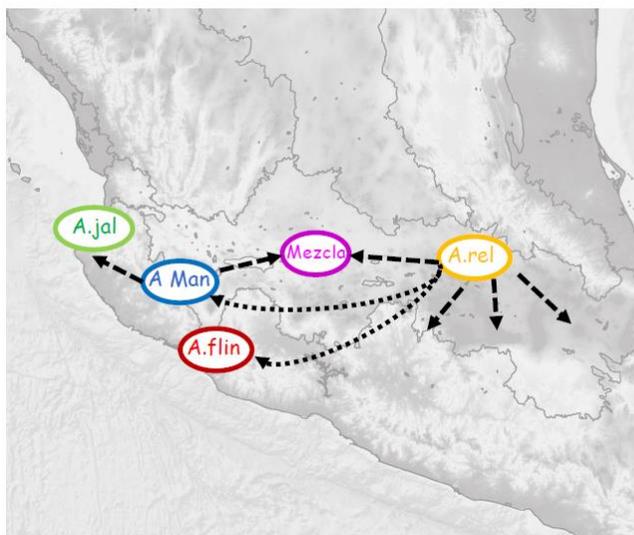
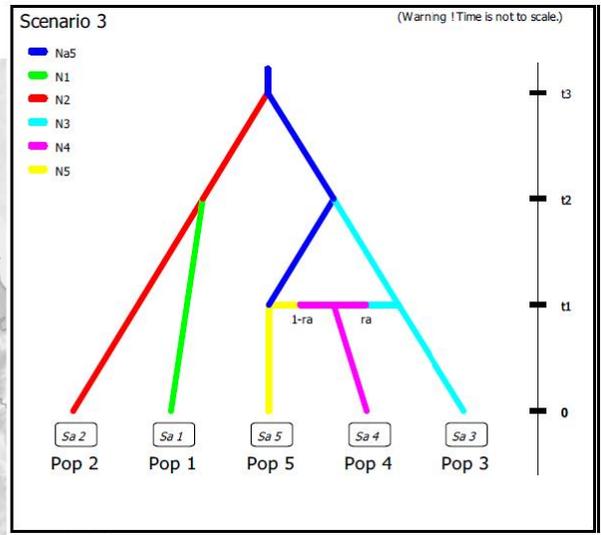
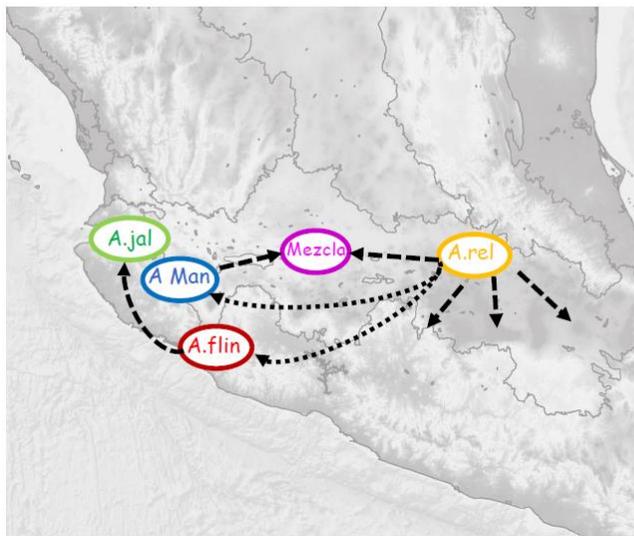


Fig. 7 (continuación). Hipótesis filogeográficas probadas para identificar el origen de los grupos genéticos de *Abies* en el centro de México por procesos de colonización tipo *stepping-stone*. Los escenarios 3 y 4 proponen a *A. religiosa* como ancestro de los grupos genéticos occidentales, mismos que divergieron por colonización. Ambas hipótesis proponen la expansión de área de distribución de *A. religiosa* y el contacto secundario de este linaje con *Abies* sp. Manantlán.

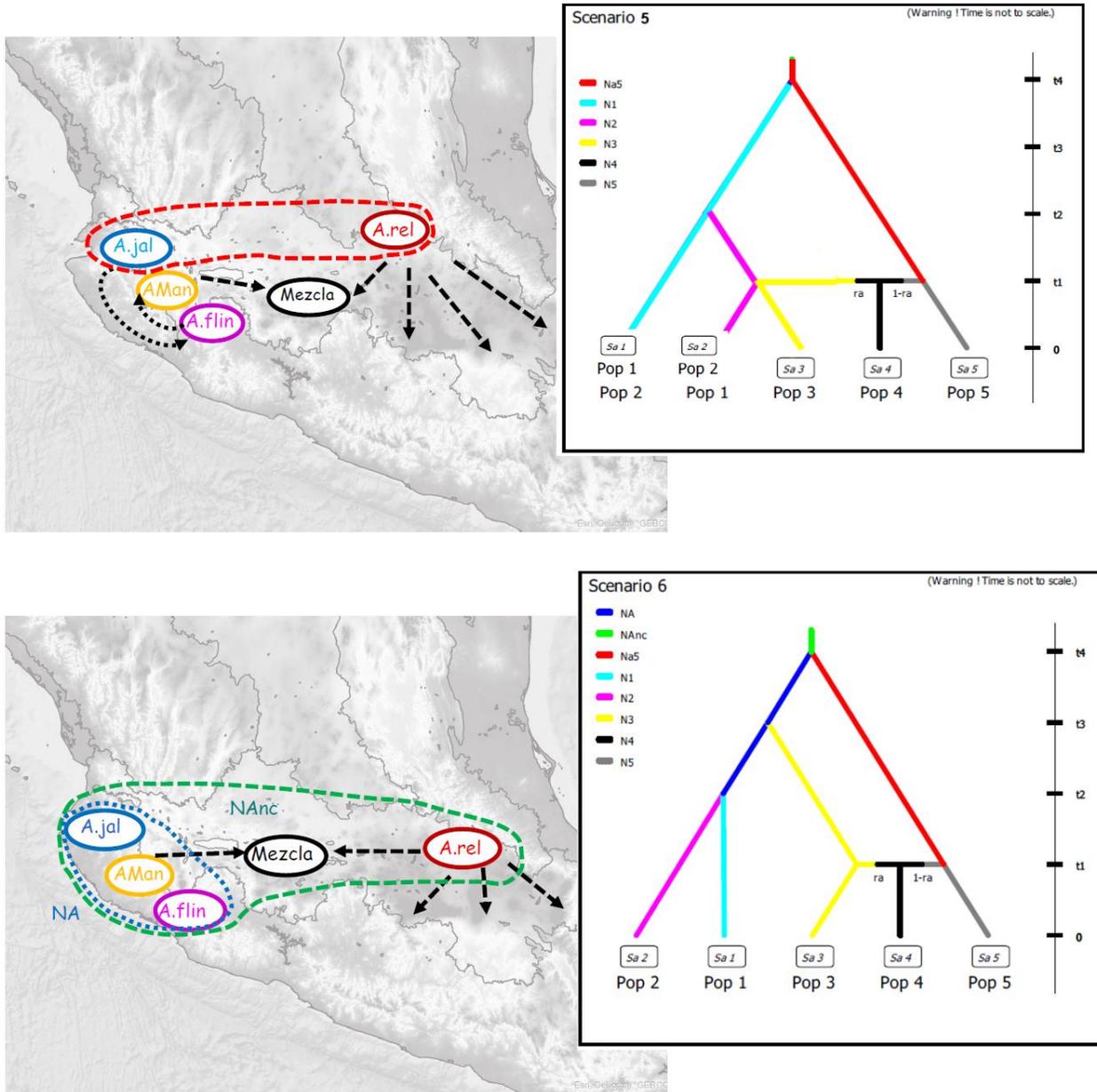


Fig. 8. Hipótesis filogeográficas probadas para identificar el origen de los grupos genéticos de *Abies* del centro de México a través de procesos de fragmentación. El escenario 5 supone que *A. jaliscana* divergió de *A. religiosa*, y luego hubo un evento de colonización local en el occidente de México. El escenario 6 propone la fragmentación de una población ancestral que dio origen a *A. religiosa* y un ancestro putativo (ACOcc). Posteriormente, el resto de los linajes divergieron por fragmentación en distintos tiempos. Ambas hipótesis proponen la expansión de área de distribución de *A. religiosa* y el contacto secundario de este linaje con *Abies* sp. Manantlán.

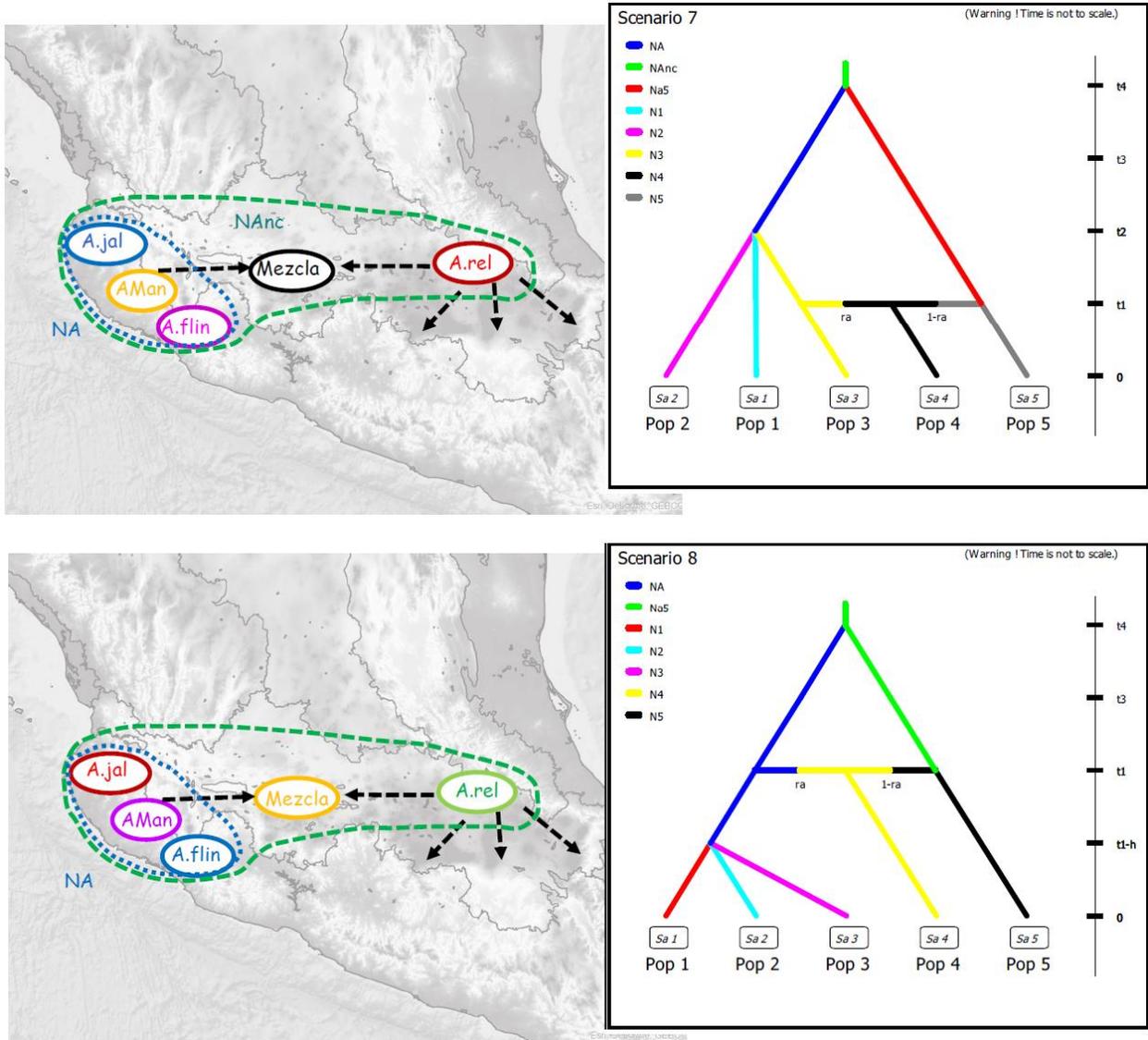


Fig. 8 (continuación). Hipótesis filogeográficas probadas para identificar el origen de los grupos genéticos de *Abies* del centro de México a través de procesos de fragmentación. Los escenarios 7 y 8 proponen la fragmentación de una población ancestral que dio origen a *A. religiosa* y un ancestro putativo (ACOCC). Posteriormente, el resto de los linajes divergieron por fragmentación en distintos tiempos. La hipótesis 7 propone la expansión del área de distribución de *A. religiosa* y el contacto secundario de este linaje con *Abies* sp. Manantlán; mientras que en la hipótesis 8 el contacto secundario ocurre entre ACOCC y *A. religiosa*.

Se simularon 8×10^6 sets de datos (un millón por escenario) y se implementó una regresión logística lineal politómica (Cournet *et al.*, 2008) para seleccionar el 1% de las simulaciones que mostraran estadísticos de resumen similares (i.e., con la menor distancia euclidiana posible) a los valores observados. Con ellas se estimó la probabilidad posterior (*PP*) de cada escenario. La robustez estadística con la que se seleccionó al escenario más probable fue evaluada mediante el cálculo de los errores tipo I y tipo II. Para ello, se simularon 1,000 datos pseudo-observados (pods) con valores de parámetros muestreados a partir de las distribuciones previas del mejor escenario; al igual que 1,000 pods con valores de parámetros tomados de las distribuciones previas del resto de las hipótesis. Respectivamente, se calculó la *PP* de cada escenario en cada pod para estimar el riesgo de excluir al mejor modelo, cuando éste es verdadero (error tipo I), así como el riesgo de seleccionar un mejor escenario, cuando éste es falso (error tipo II).

Para estimar los parámetros demográficos y tiempos de divergencia de cada grupo genético, se realizaron 1×10^6 simulaciones bajo el supuesto del escenario más probable. Posteriormente, se implementó el método de regresión lineal local ponderada (Beaumont *et al.*, 2002) sobre el 1% de las simulaciones menos distantes a los datos genéticos observados para obtener la distribución posterior de los parámetros, transformados por la función *logit*. Luego, para verificar si el escenario seleccionado como el más probable se ajustaba bien a los datos genéticos observados, se realizó una prueba de “bondad de ajuste”. Para ello, se simularon 5,000 pods cuyos valores de parámetros fueron obtenidos a partir de las distribuciones posteriores de los parámetros demográficos. Para la simulación de los pods, además de considerar a los estadísticos de resumen utilizados en la selección del modelo más probable (35 estadísticos), se incluyó el número de sitios segregantes privados (en total 40 estadísticos). Cada estadístico de resumen observado fue comparado con la distribución de los estadísticos de resumen en los pods simulados mediante el cálculo de un valor *P*.

La elección de poblaciones individuales como representantes de una unidad genética tiene un impacto significativo sobre las inferencias histórico-demográficas con el método de ABC (e.g., Lombaert *et al.*, 2014). Para evitar sesgos se conformaron cuatro *subsets* de datos que incluyen a todas las poblaciones de *A. jaliscana*, *A. flinckii* y *Abies* sp. Manantlán; y sólo dos poblaciones del grupo genético mezclado y de *A. religiosa* (ver apéndice 14). Con cada *subset* se realizó un análisis ABC independiente, considerando las tres hipótesis filogeográficas

con la mayor *PP* para la totalidad de datos (escenarios 3,4, Fig. 7; escenario 8, Fig. 8), así como dos nuevas hipótesis que sugieren que el origen del grupo genético mezclado fue resultado del contacto secundario entre *A. flinckii* y *A. religiosa* (escenarios 3a y 3b Fig. 9). Se utilizaron las distribuciones previas, los estadísticos de resumen y los controles descritos anteriormente para la totalidad de los datos.

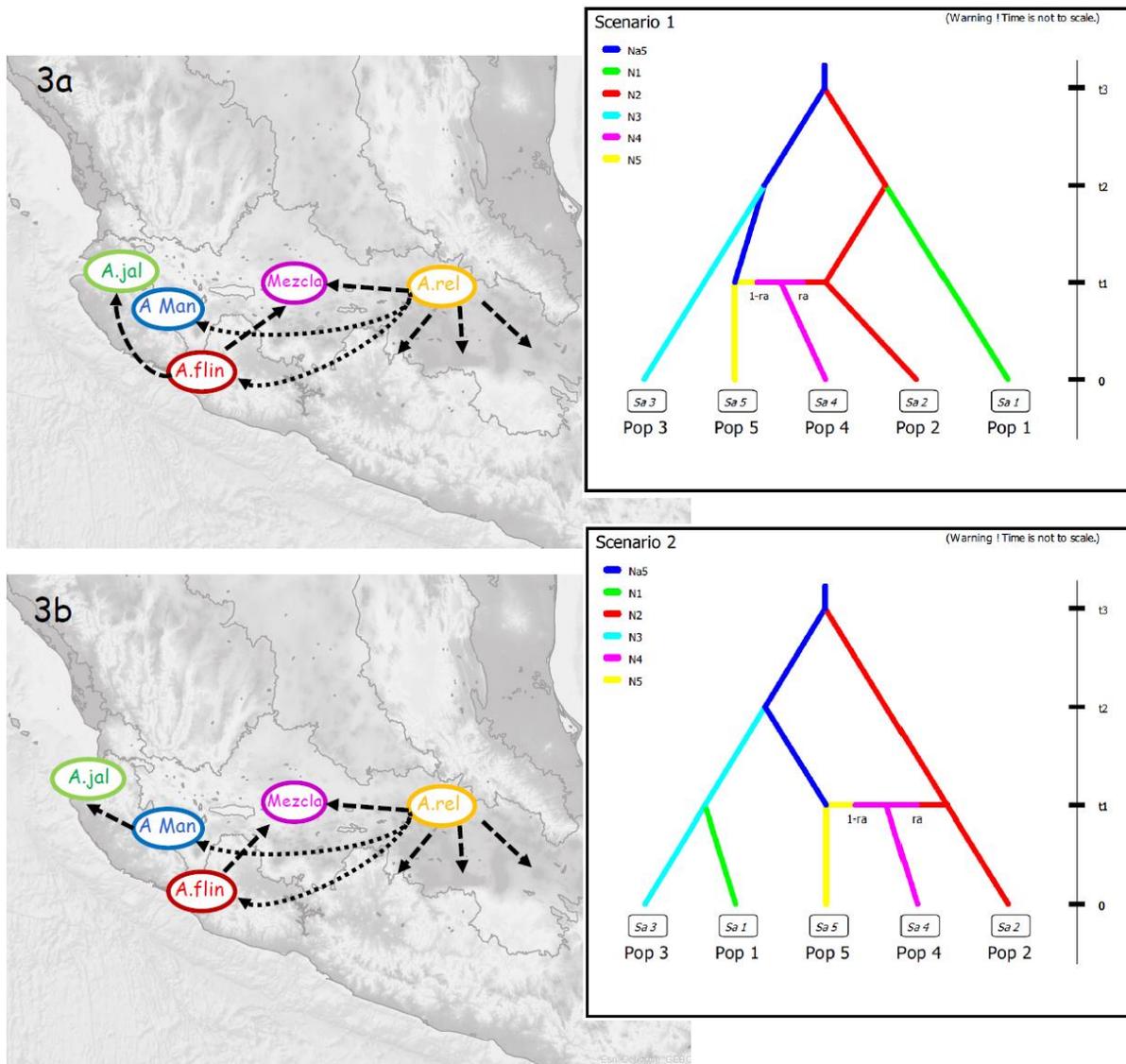


Fig. 9. Hipótesis filogeográficas que sugieren el origen de los grupos genéticos por procesos de colonización y contacto secundario entre *A. flinckii* y *A. religiosa* puestas a prueba para cada subset poblacional.

Aislamiento con migración

Dado que todos los análisis anteriores presuponen que la divergencia de las poblaciones estuvo acompañada de su aislamiento (divergencia sin flujo génico) y que estas hipótesis pueden ser poco realistas para especies con altos niveles de flujo génico como las coníferas, se decidió también probar un modelo de aislamiento con migración. Para obtener un estimado del número efectivo de migrantes histórico entre los linajes, se retomaron las genealogías mejor soportadas en los análisis ABC (escenarios 3 y 3a) y se realizaron simulaciones coalescentes que asumen un modelo de aislamiento con migración (IM, Nielsen y Wakeley, 2001) en el programa IMA2 (Hey, 2010). Se analizó la información genética de ocho genes nucleares que no mostraron evidencia de selección y/o recombinación en los análisis previos y se excluyeron a aquellas poblaciones que mostraron señales de mezcla genética en los resultados de STRUCTURE.

Se usaron distribuciones previas (*priors*) uniformes para los tamaños poblacionales (q máxima de 8), los tiempos de divergencia (t máxima de 3) y las tasas de migración (m máxima de 1). El esquema consistió de 80 cadenas “calientes”, cuatro intercambios entre cadenas por paso y un modelo geométrico con parámetros $h1$ y $h2$ de 0.95 y 0.5 respectivamente. Se realizaron dos análisis independientes con diferente número de partida (*seeds*), cada uno con una longitud de *burn-in* de 50 millones de pasos y 50 millones de pasos subsecuentes. Las muestras se tomaron cada 50,000 genealogías. Una vez alcanzado un buen nivel de mezcla (reflejada en los valores de autocorrelación de estados y de tamaño de muestra efectivo, “ESS”) y convergencia, las genealogías de cada análisis fueron utilizadas para calcular la distribución posterior conjunta de los parámetros poblacionales, ajustados a la escala de la tasa de mutación. Se utilizó la media geométrica de la tasa de mutación (μ) de todos los genes (2.31×10^{-7} mutaciones por secuencia, por año) para obtener parámetros ajustados del número de individuos para el tamaño poblacional efectivo (N_e) y de años para los tiempos de divergencia (T) respectivamente.

6. RESULTADOS

6.1 Diversidad genética en microsatélites nucleares

El número de alelos (N_a) promedio varió entre 11.60 (± 3.76) y 12.70 (± 4.61) para los loci *Ab12* y *Ab27* respectivamente. Por poblaciones, el N_a promedio más bajo se observó en la Sierra de Manantlán (poblaciones Af20 y Ar21), Dos Aguas y Los Sauces (Af17 y Af16), todas en el occidente de México; los más altos se registraron en las poblaciones de *A. religiosa* del centro-oriente de la FVTM ($F= 20.833$, $df= 19$, $P= 6.47e^{-10}$; Fig. 10). Tanto para cada locus, como para las poblaciones, el número efectivo de alelos (N_{ea}) promedio fue más bajo pero consistente con el gradiente de diversidad observado con el N_a (Fig. 10).

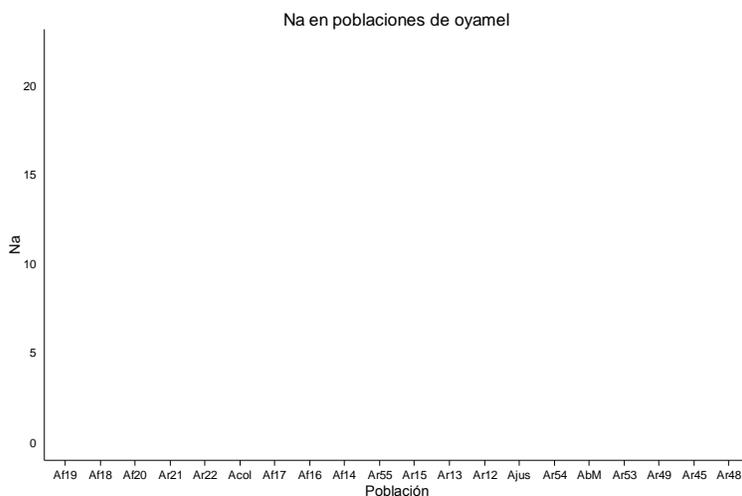


Fig. 10. Promedios por población para el número de alelos (N_a , en rojo) y el número efectivo de alelos (N_{ea} , en azul). Las barras representan la desviación estándar de los estimados. Las poblaciones están ordenadas de izquierda a derecha, según su distribución geográfica longitudinal a lo largo de la FVTM.

De igual modo, la riqueza alélica (R_a) promedio ponderada por el número mínimo de alelos (36 alelos) reveló que las poblaciones de *Abies religiosa* localizadas en el centro-oriente de la FVTM albergan valores superiores ($R_{a_{prom}} = 13.1$) a los observados en las poblaciones del oeste ($F= 25.819$, $df= 19$, $P= 7.34e^{-11}$; Fig. 11). Se detectaron de uno a dos alelos privados en al menos un locus, en 13 de las 20 poblaciones (ver Apéndice 3).

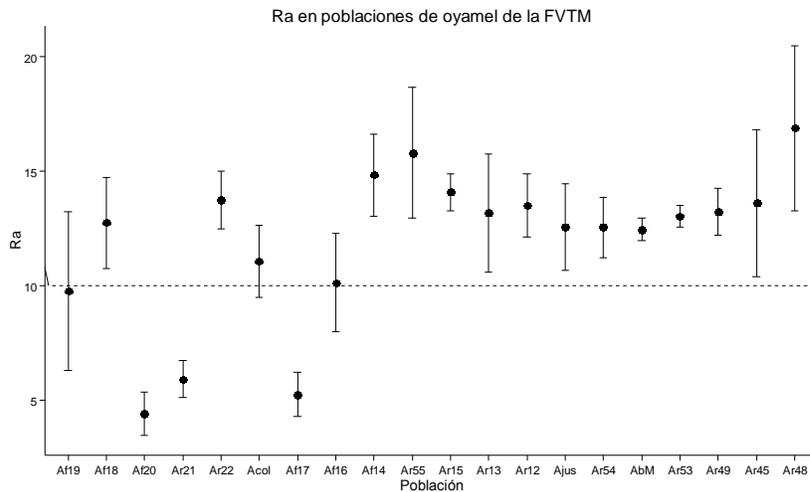


Fig. 11. Riqueza alélica (R_a) promedio por población para *Abies* del centro de México. Las barras representan la desviación estándar de los estimados. La línea horizontal punteada es solo para fines comparativos. Las poblaciones están ordenadas de izquierda a derecha, según su distribución geográfica longitudinal a lo largo de la FVTM.

La heterocigosis observada (H_o) promedio siguió un patrón similar. Esta fue baja en las poblaciones del oeste (Af20 (0.475, ± 0.155), Ar21 (0.565, ± 0.307) y Af17 (0.520, ± 0.268)), y más alta en el este de la FVTM (varió entre 0.660 y 0.813). Sin embargo, la desviación estándar fue alta para todos los estimados. La heterocigosis esperada (H_e) promedio fue más alta que H_o , con valores entre 0.825 y 0.912 para todas las poblaciones. Particularmente, las poblaciones de Sierra de Manantlán (Af20 y Ar21) tuvieron una H_e promedio significativamente más baja que H_o ($\chi^2=49.70$, $df= 19$, $P= 0.00014$; Fig. 12).



Fig. 12. Promedios por población para las heterocigosis esperadas (H_e , en rojo) y observadas (H_o , en azul) para *Abies* del centro de México. Las barras representan la desviación estándar de los estimados. Las poblaciones están ordenadas de izquierda a derecha, según su distribución geográfica longitudinal a lo largo de la FVTM.

Los resultados de las pruebas exactas de H-W mostraron que todas las poblaciones exhiben una desviación significativa ($P < 0.05$, ó 0.01) del equilibrio en al menos un locus (e.g., Acol, Ar49). Esta desviación fue recurrente para el locus *Ab27* (Apéndice 4), en donde se observó un déficit de heterócigos en prácticamente todas las poblaciones. Este patrón fue el mismo para todas las combinaciones de loci y población que fueron significativos (Tabla 6).

Tabla 6. Valores de probabilidad obtenidos para la prueba exacta de H-W para cada locus y población de *Abies* del centro de México. Todos los valores significativos indican un déficit de heterócigos. *: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$. Los valores P fueron ajustados por pruebas de hipótesis múltiples con el método FDR.

Población	Ab07	Ab12	Ab20	Ab27
Af19	0.205	1.000	0.097	0.000**
Af18	0.000**	0.069	0.001**	0.006**
Af20	1.000	0.024*	0.022*	0.536
Ar21	0.027*	0.979	0.399	0.001**
Ar22	0.136	0.006**	0.249	0.000**
Acol	0.006**	1.000	0.578	0.002**
Af17	1.000	0.093	0.065	0.000**
Af16	0.276	0.025*	0.083	0.000**
Af14	0.000**	0.023*	0.069	0.000**
Ar55	0.058	0.718	0.001**	0.009**
Ar15	0.000**	0.824	0.000**	0.118
Ar13	0.212	0.295	0.185	0.000**
Ar12	0.000**	0.371	0.000**	0.000**
Ajus	0.004**	0.718	0.149	0.000**
Ar54	0.012*	0.340	0.001**	0.000**
AbM	0.000**	0.890	0.182	0.008**
Ar53	0.000**	0.000**	1.000	0.000**
Ar49	0.824	0.387	0.000**	0.183
Ar45	0.182	0.276	0.495	0.000**
Ar48	0.000**	0.022*	0.803	0.000**

En congruencia con las pruebas exactas de H-W, el índice de fijación F_{IS} (Nei, 1987) fue positivo en todas las poblaciones y varió entre 0.027 (en la población Af20) y 0.270 (en la población Ar54) (Apéndice 5). Sin embargo, sólo en 13 de las 20 poblaciones F_{IS} fue significativamente diferente de cero (Fig. 13).

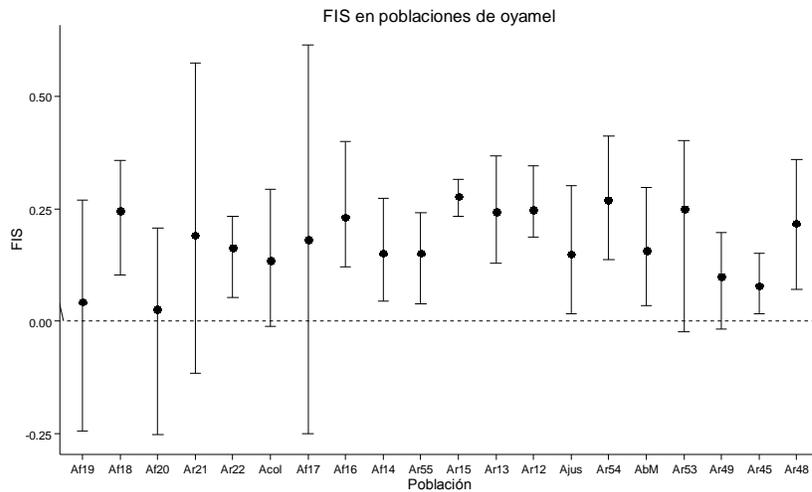


Fig. 13. Índices de fijación (F_{IS} ; Nei, 1987) estimados para cada población de *Abies* del centro de México. Las barras representan los intervalos de confianza (95%) estimados a partir de 10,000 permutaciones. Las poblaciones están ordenadas de izquierda a derecha, según su distribución geográfica longitudinal a lo largo de la FVTM.

Los análisis de desequilibrio de ligamiento globales no mostraron una desviación significativa del supuesto de segregación alélica independiente. Pero cuando se analizó a cada población, se encontró evidencia de asociación no aleatoria entre alelos en las poblaciones Af18 y Ar55. La frecuencia de alelos nulos más probable fue baja para los loci *Ab07*, *Ab12* y *Ab20*, y alta para el locus *Ab27*, mientras que el valor β fue bajo para todos los SSRs (Tabla 7). Los alelos nulos son causa de una sobreestimación de los niveles de estructura genética y una subestimación del polimorfismo presente en las poblaciones (Putman y Carbone, 2014). Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas al comparar la distribución de F_{ST} entre pares de poblaciones con una segunda distribución de F_{ST} corregida por alelos nulos (Wilcoxon = 23388, $P = 0.2822$).

Tabla 7. Frecuencia de alelos nulos (AN) y valor β asociado a otras fuentes de error, calculadas para cada locus.

Locus	β	AN
Ab07	0.000	0.083
Ab12	0.000	0.030
Ab20	0.000	0.048
Ab27	0.004	0.171

Diversidad genética entre las poblaciones

Para identificar los patrones de diferenciación poblacional, se calcularon de manera pareada cinco índices. De éstos, D_{EST} y G'_{ST} mostraron los valores de diferenciación más altos, mientras que los más bajos fueron calculados con F_{ST} (Figs. 14-16). La congruencia entre las matrices de diferenciación fue relativamente alta ($W=0.774$) y significativa ($P=0.001$), por lo que es posible rechazar la hipótesis nula de incongruencia. Si bien R_{ST} mostró los patrones de diferenciación con mayor disimilitud ($M=0.352$, $P=0.018$), en general, los otros índices revelaron que las poblaciones del occidente de la FVTM (excepto las poblaciones Af14 y Af16) se encuentran bien diferenciadas entre sí, y en relación a las poblaciones de *A. religiosa*. Por el contrario, los niveles de diferenciación genética entre las poblaciones de *A. religiosa* fueron bajos y frecuentemente no significativos. Es interesante señalar que la población del Nevado de Colima (Acol), considerada recientemente como una nueva subespecie (Vázquez-García *et al.*, 2014), mostró valores de diferenciación bajos y no significativos respecto a la población Ar22, considerada taxonómicamente como *A. religiosa* (Aguirre-Planter *et al.*, 2000).

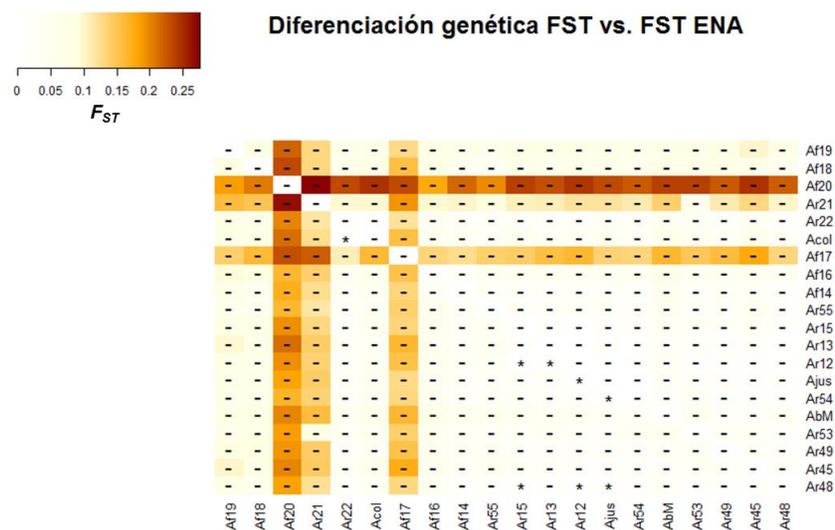


Fig. 14. Gráfico de calor para el índice de diferenciación F_{ST} (Weir y Cockerham, 1988) multilocus entre pares de poblaciones de *Abies* del centro de México (bajo la diagonal). Por encima de la diagonal, se representan los valores F_{ST} corregidos luego de excluir los alelos nulos. Las poblaciones están ordenadas de izquierda a derecha, según su distribución geográfica longitudinal a lo largo de la FVTM. *: $P > 0.05$, ajustados por pruebas de hipótesis múltiples con el método FDR.

Estructura genético-poblacional

El análisis *ad hoc* de ΔK (Evanno *et al.*, 2005) indicó que la partición más probable incluye cuatro grupos genéticos ($K=4$) (Fig. 17, 18, Apéndice 7). A partir de este resultado, se inspeccionaron otros patrones de agrupamiento. Los análisis de STRUCTURE (Pritchard *et al.*, 2000) que consideraron tres *clusters* genéticos ($K=3$) agruparon a las poblaciones Af20 y Af17, por un lado, y a los sitios Af19, Af18 y Ar21 en otra unidad genética distinta. El resto de las poblaciones conformaron un tercer grupo, mismo que se distinguió por una ancestría mezclada para todos los individuos (Fig. 17). Cuando se consideraron cuatro grupos, $K=4$, las poblaciones Af19 y Af18 se separaron de la población Ar21 e integraron dos unidades genéticas independientes. Aunque la ancestría de los individuos fue mezclada para las poblaciones del centro y oriente de la FVTM, se identificó una cuarta unidad genética, conformada por poblaciones de *A. religiosa* que se distribuyen desde el Cofre de Perote (Ar48) hasta Puerta Garnica (Ar15), la mayoría con una probabilidad posterior de ancestría mayor a 0.5 (Fig. 17, 18, Apéndice 8). La situación geográfica de las poblaciones que no pudieron ser asignadas a un grupo genético en particular (Ar22, Acol, Ar55, Af14, Af16), supone que conforman una zona de contacto entre los linajes mejor definidos (Fig. 17, 18, Apéndice 8). Cuando se consideraron cinco grupos genéticos, $K=5$, no se separaron nuevas poblaciones o subconjuntos de individuos (Fig. 17).

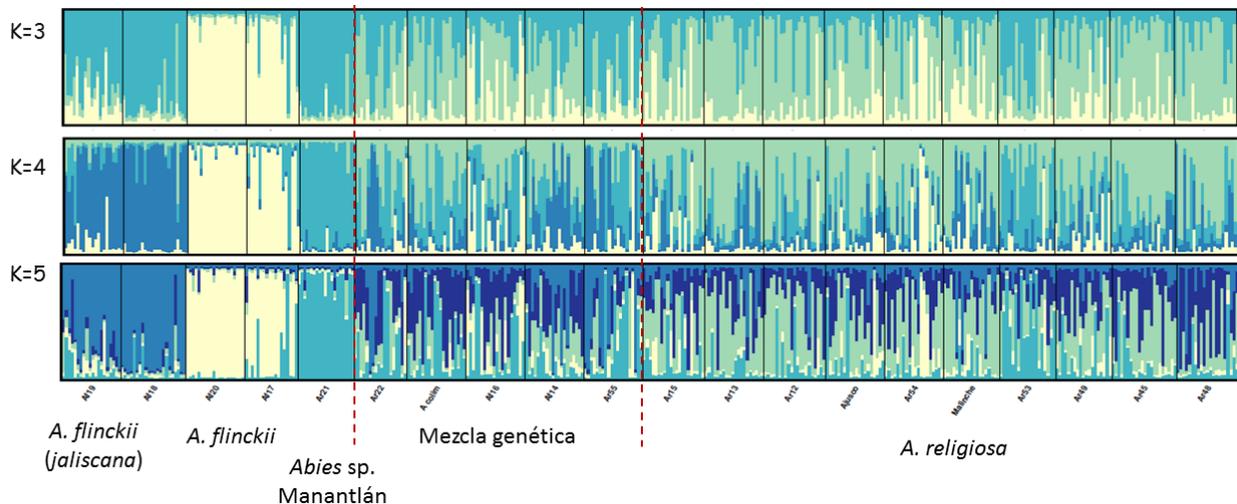


Fig. 17. Gráfico de barras de las probabilidades de asignación (ancestría) para cada individuo definidas en el análisis STRUCTURE (Pritchard *et al.*, 2000). Se muestran los resultados obtenidos para $K=3$, $K=4$ y $K=5$. Las poblaciones están ordenadas de izquierda a derecha, según su distribución geográfica longitudinal a lo largo de la FVTM.

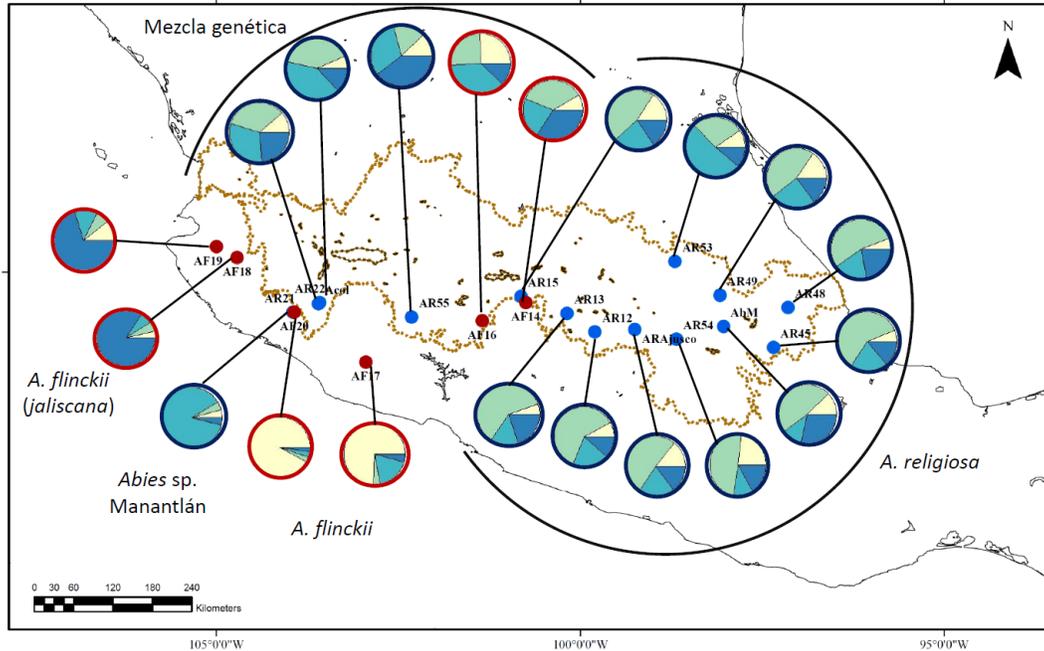


Fig. 18. Gráficos de pastel indicando la proporción de ancestría de cada población cuando se consideran cuatro grupos genéticos, $K=4$. El borde rojo o azul de cada gráfico corresponden a la clasificación taxonómica de las poblaciones (*A. flinckii* y *A. religiosa*, respectivamente).

Los resultados del análisis DAPC fueron notablemente diferentes a los del análisis STRUCTURE. Según el valor BIC, el número de grupos genéticos más probable estuvo entre $K=10$ y $K=15$ (Apéndice 9). Los resultados se presentan para el nivel de estructura más bajo (Fig. 19). Los grupos genéticos 1, 2, 6, 8 y 9 estuvieron conformados principalmente por individuos de las poblaciones Af19, Af18, Af20, Ar21, y Af17, respectivamente. Por otro lado, los grupos 4 y 5 estuvieron integrados por representantes de las poblaciones de *A. religiosa* del oriente y centro de la FVTM, mientras que los grupos 3, 7 y 10 agruparon individuos procedentes tanto de poblaciones de *A. flinckii* como *A. religiosa* (Fig. 19, Apéndice 9). Al considerar cuatro funciones discriminantes, se observó que las unidades genéticas más distantes fueron el grupo 1 (~Af19), el grupo 2 (~Af18), el grupo 3 y el grupo 10. Cuando se inspeccionaron las funciones discriminantes 2 y 3, los grupos 7, 8 (~Ar21) y 9 (~Af17) mostraron ser menos distantes entre sí, al igual que los grupos 4 y 5 (~*A. religiosa*).

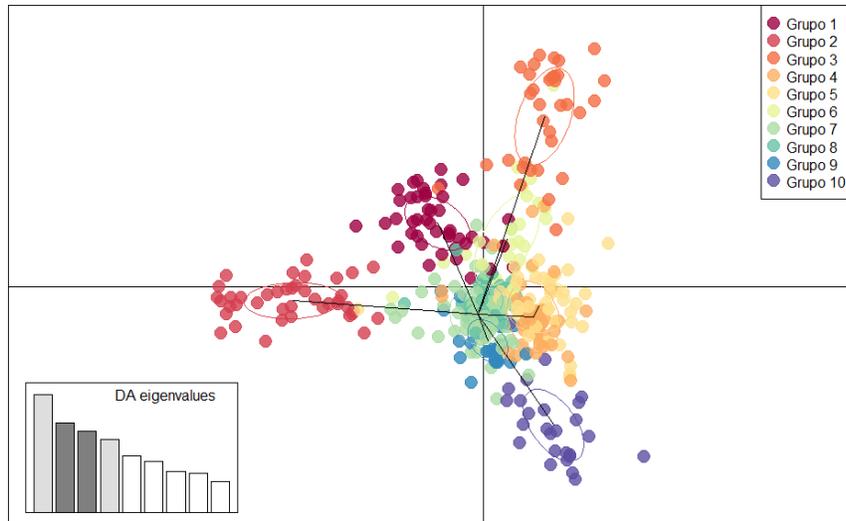


Fig. 19. Gráfico de dispersión indicando la distancia entre los diez grupos genéticos detectados por el análisis DAPC para poblaciones de *Abies* del centro de México. En la gráfica se ilustran las funciones discriminantes dos y tres (barras sombreadas en la parte inferior izquierda del gráfico) que son las que muestran mayor concordancia con los resultados de STRUCTURE.

Cuando se consideró a la totalidad de las poblaciones, se obtuvo una correlación positiva ($r = 0.391$) y significativa ($P = 0.001$) entre la distancia geográfica (Euclidiana) que separa a las poblaciones y su distancia genética (Nei). Las pruebas de Mantel realizadas únicamente para las poblaciones de oyamel de la región centro-oriente de la FVTM mantuvieron dicha correlación positiva y significativa ($r = 0.367$, $P = 0.003$; Fig. 20). No obstante, las poblaciones del occidente-centro, mostraron una correlación no significativa entre dichas matrices ($r = -0.120$, $P = 0.735$; Fig. 20). Los valores de correlación y su significancia estadística fueron similares cuando las matrices de distancia genética fueron construidas con el método de Reynolds.

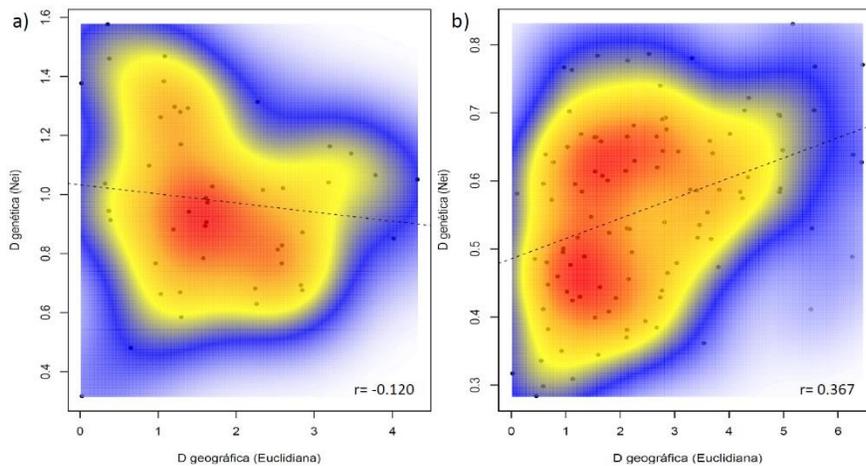


Fig. 20. Patrón de aislamiento por distancia entre las poblaciones de oyamel del a) occidente-centro y b) centro-oriente de la FVTM. Las áreas rojas y azules en los gráficos denotan una densidad de observaciones alta y baja, respectivamente.

6.2 Diversidad genética en secuencias nucleares

Los patrones de diversidad genética fueron variables entre los grupos genéticos y los loci. Los genes *fructosa 1,6-difosfato aldolasa* y *Heat shock protein* fueron monomórficos en la mayoría de las poblaciones (e.g., *A. jaliscana* y *A. flinckii*) y sólo en algunas, se observaron hasta un máximo de tres sitios segregantes (*S*). Por el contrario, los loci *COBRA-like protein*, *CesA1* y *Porina Mip1a* fueron altamente polimórficos en todas las poblaciones, con un valor de *S* mínimo de 10 (Apéndice 10).

De forma consistente a lo observado en los microsatélites, el número de haplotipos (*h*) promedio fue bajo para *Abies jaliscana*, *A. flinckii* y *Abies* sp. Manantlán (*h* = 3.7, 3.0, y 2.3, respectivamente); y alto en el grupo genético considerado como de ancestría mezclada (*h*= 6.9) y *A. religiosa* (*h* =14.9) (Tabla 8). Las diferencias observadas entre las poblaciones fueron significativas ($\chi^2 = 31.563$, *df*= 17, *P* = 0.017). Por otro lado, los índices de diversidad nucleotídica, θ_w y θ_π , no fueron significativamente diferentes entre las poblaciones, ni entre los grupos genéticos ($\chi^2 \theta_w = 10.805$, *df*= 17, *P* $\theta_w = 0.866$; $\chi^2 \theta_\pi = 10.805$, *df*= 17, *P* $\theta_\pi = 0.866$). Con excepción de los genes *CesA1* y *COBRA-like protein*, los índices θ_w y θ_π fueron bajos tanto entre las poblaciones como entre los linajes (Fig. 22; Tabla 8; Apéndice 10).

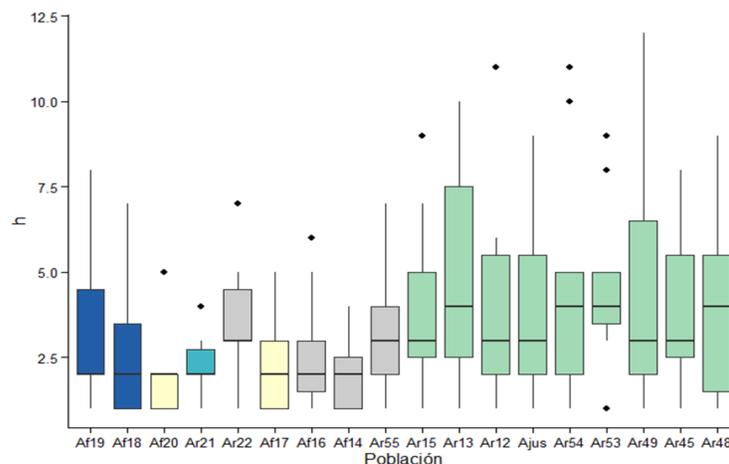


Fig. 21. Número de haplotipos (*h*) para cada población de *Abies* del centro de México. Las cajas representan el 50% de la totalidad de datos y las líneas horizontales dentro de estas representan la mediana. El color de las cajas corresponde al grupo genético al que fueron asignadas las poblaciones en el análisis STRUCTURE con los SSRs. Las poblaciones están ordenadas de izquierda a derecha según su localización geográfica longitudinal.

Tabla 8. Estadísticos de diversidad genética para cada gen y por cada grupo genético obtenido en el análisis de STRUCTURE de poblaciones de *Abies* del centro de México. *n*, número de individuos; *S*, número de sitios segregantes; *Snon*, número de sustituciones no sinónimas; *h*, número de haplotipos; *Hd*, diversidad haplotípica; θ_w , diversidad nucleotídica (Watterson, 1975); θ_π , diversidad nucleotídica (Tajima, 1983); *Za*, r^2 promedio entre todos los pares de sitios polimórficos adyacentes (Rozas *et al.*, 2001); *Rm*, número mínimo histórico de eventos de recombinación (Hudson y Kaplan, 1985).

Linaje	Gen	<i>n</i>	<i>S</i>	<i>Snon</i>	<i>h</i>	<i>Hd</i>	θ_π	θ_w	<i>Za</i>	<i>Rm</i>
<i>A. jaliscana</i>	CesA1	11	18	9	6	0.810	0.028	0.015	0.829	1
	COBRA-like	11	28	5	6	0.706	0.027	0.016	0.694	0
	Porina Mip1	11	1	0	2	0.312	0.000	0.000	na	0
	Lhca4	12	3	0	2	0.290	0.001	0.001	1.000	0
	α -1, 6 xilosiltransferasa	12	3	0	3	0.301	0.001	0.001	0.006	0
	Fructosa 1,6 difosfato aldolasa	12	1	0	2	0.464	0.002	0.001	na	0
	Porina Mip1	12	17	3	12	0.899	0.009	0.006	0.227	7
	Heat shock	8	0	0	1	0.000	0.000	0.000	na	na
	ArMybIX	10	0	0	1	0.000	0.000	0.000	na	na
	ArMybSTR	11	4	1	4	0.714	0.003	0.002	0.159	0
	ArMybVI	12	1	1	2	0.323	0.001	0.001	na	0
	Promedio	11.1	6.9	1.7	3.7	0.438	0.006	0.004	0.486	0.89
<i>A. flinckii</i>	CesA1	13	17	10	3	0.557	0.025	0.013	0.880	0
	COBRA-like	13	22	4	3	0.588	0.024	0.012	0.975	0
	Porina Mip1	12	4	1	5	0.616	0.002	0.002	0.025	0
	Lhca4	10	1	0	2	0.100	0.000	0.000	na	0
	α -1, 6 xilosiltransferasa	12	2	0	2	0.464	0.001	0.001	1.000	0
	Fructosa 1,6 difosfato aldolasa	14	0	0	1	0.000	0.000	0.000	na	na
	Porina Mip1	11	15	1	9	0.840	0.008	0.005	0.332	2
	Heat shock	9	0	0	1	0.000	0.000	0.000	na	na
	ArMybIX	9	3	0	3	0.627	0.003	0.002	0.541	0
	ArMybSTR	14	2	0	3	0.204	0.000	0.001	0.309	0
	ArMybVI	14	0	0	1	0.000	0.000	0.000	na	na
	Promedio	11.9	6.0	1.5	3.0	0.363	0.006	0.003	0.580	0.25
Manantlán	CesA1	7	11	7	2	0.538	0.018	0.010	1.000	0
	COBRA-like	6	26	5	2	0.167	0.009	0.018	1.000	0
	Porina Mip1	6	3	1	3	0.439	0.002	0.001	0.800	0
	Lhca4	7	6	0	4	0.659	0.004	0.002	0.800	1
	α -1, 6 xilosiltransferasa	6	1	0	2	0.303	0.000	0.000	na	0
	Fructosa 1,6 difosfato aldolasa	5	0	0	1	0.000	0.000	0.000	na	na
	Porina Mip1	na	na	na	na	na	na	na	na	na
	Heat shock	5	1	0	2	0.356	0.001	0.001	na	0
	ArMybIX	5	2	0	2	0.200	0.001	0.002	1.000	0
	ArMybSTR	6	1	0	2	0.167	0.000	0.001	na	0
	ArMybVI	7	2	2	3	0.615	0.002	0.002	0.222	0
	Promedio	6.0	5.3	1.5	2.3	0.344	0.004	0.004	0.804	0.11

Tabla 8 (continuación). Estadísticos de diversidad genética para cada gen y por cada grupo genético obtenido en el análisis de STRUCTURE de poblaciones de *Abies* del centro de México.

Linaje	Gen	<i>n</i>	<i>S</i>	<i>S_{non}</i>	<i>h</i>	<i>H_d</i>	$\theta\pi$	θ_w	<i>Z_a</i>	<i>R_m</i>
Admixia	CesA1	24	21	14	10	0.793	0.025	0.014	0.447	4
	COBRA-like	24	27	6	7	0.605	0.024	0.013	0.689	0
	Porina Mip1	24	8	2	10	0.801	0.002	0.003	0.032	2
	Lhca4	21	9	1	7	0.510	0.002	0.002	0.281	0
	α -1, 6 xilosiltransferasa	25	6	0	6	0.728	0.002	0.002	0.015	0
	Fructosa 1,6 difosfato aldolasa	25	0	0	1	0.000	0.000	0.000	na	na
	Porina Mip1	21	23	2	19	0.879	0.009	0.007	0.117	9
	Heat shock	20	2	0	3	0.229	0.001	0.001	0.003	0
	ArMybIX	21	7	0	4	0.398	0.002	0.005	0.503	0
	ArMybSTR	23	4	0	5	0.244	0.000	0.002	0.001	0
	ArMybVI	22	3	1	4	0.167	0.001	0.002	0.326	0
	Promedio		22.7	10.0	2.4	6.9	0.487	0.006	0.005	0.241
<i>A. religiosa</i>	CesA1	63	40	32	30	0.899	0.023	0.022	0.117	6
	COBRA-like	60	43	9	21	0.749	0.025	0.017	0.302	3
	Porina Mip1	56	14	1	13	0.493	0.001	0.004	0.077	0
	Lhca4	57	12	0	11	0.811	0.003	0.003	0.198	0
	α -1, 6 xilosiltransferasa	62	9	2	10	0.329	0.001	0.002	0.001	0
	Fructosa 1,6 difosfato aldolasa	63	3	0	4	0.151	0.001	0.002	0.001	0
	Porina Mip1	55	35	5	43	0.940	0.010	0.009	0.091	10
	Heat shock	52	5	3	5	0.094	0.000	0.002	0.000	0
	ArMybIX	56	10	0	8	0.526	0.003	0.005	0.323	0
	ArMybSTR	60	15	0	12	0.344	0.001	0.005	0.223	0
	ArMybVI	62	8	4	7	0.417	0.001	0.004	0.001	0
	Promedio		58.7	17.6	5.1	14.9	0.523	0.006	0.007	0.121

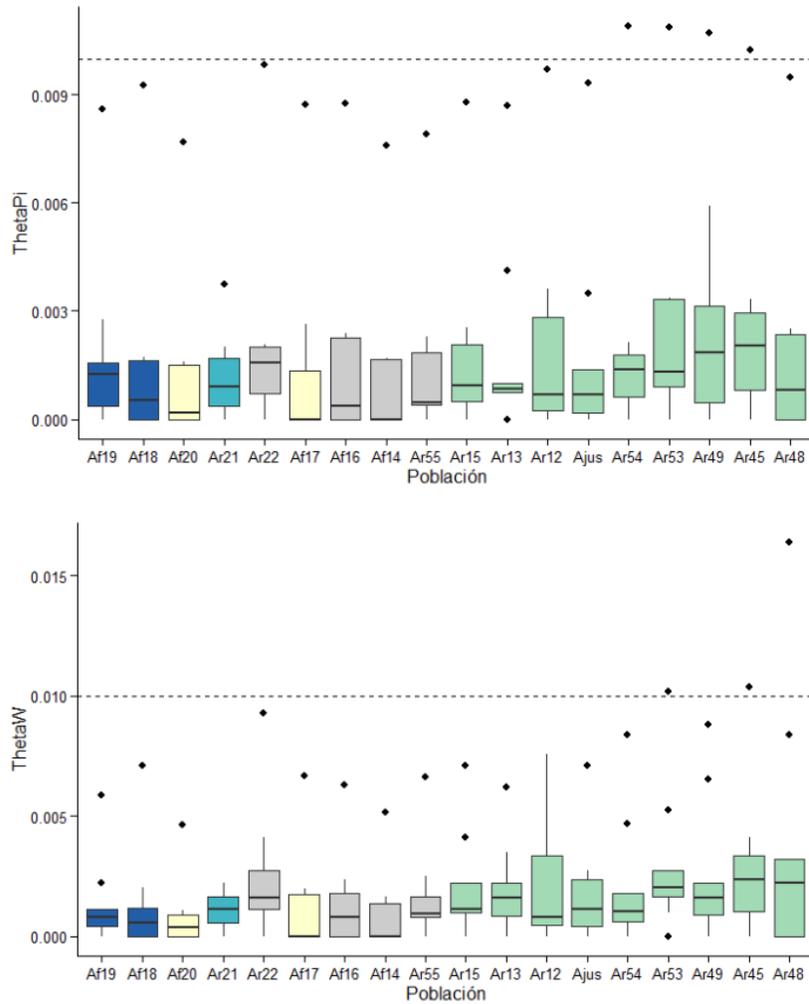


Fig. 22. Diversidad nucleotídica, θ_w y θ_π , para cada población de *Abies* del centro de México. Las cajas representan el 50% de la totalidad de datos y las líneas horizontales dentro de estas representan la mediana. El color de las cajas corresponde al grupo genético al que fueron asignadas las poblaciones en el análisis STRUCTURE con los SSRs. Las poblaciones están ordenadas de izquierda a derecha según su localización geográfica longitudinal. Para realizar estos cálculos se descartaron a los genes *CesA1* y *COBRA-like protein* dados sus elevados niveles de diversidad nucleotídica (ver texto).

Los genes *CesA1*, *Lhca4* y *ArMybIX* tuvieron valores *ZZ* superiores a 0.1, y de *Za* por encima de a 0.5. Sin embargo, este patrón se limitó a ciertas poblaciones (Fig. 23). Por otro lado, sólo el gen *Porina Mip1a* mostró una alta frecuencia de eventos de recombinación ancestrales (*Rm*) en todas las poblaciones (Apéndice 10). Los resultados de estos estadísticos sugieren que la recombinación intralocus no ocurre con frecuencia para ninguno de los genes, a excepción del gen *Porina Mip1a*.

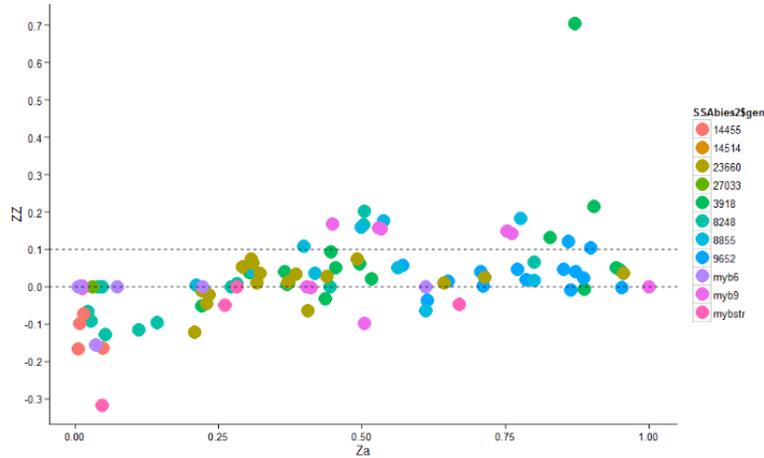


Fig. 23. Gráficas de dispersión de los estadísticos ZZ y Za (Rozas *et al.*, 2001) para inferir disequilibrio de ligamiento intralocus. Cada punto corresponde a una población. El color de los puntos está definido según el marcador nuclear. El nombre de los genes corresponde a su ID en la Tabla 4.

Diversidad genética entre las poblaciones

Los niveles de diferenciación genética entre poblaciones y linajes genéticos variaron entre los distintos marcadores (e.g., Fig. 24). Con el gen *Porina Mip1*, las poblaciones tuvieron el valor F_{ST} pareado promedio más alto ($F_{ST} = 0.339$), en tanto que con el gen *COBRA-like protein*, éstas no mostraron diferenciación ($F_{ST} = -0.010$). Aun cuando estas diferencias fueron significativas ($\chi^2 = 380.956$, $df = 10$, $P < 2.2e^{-16}$), el análisis de congruencia de matrices de distancia indicó que los patrones de diferenciación entre las poblaciones son consistentes entre genes ($W = 0.233$, $\chi^2 = 355.033$, $P = 0.001$), pero con diferencias notorias en los loci *COBRA-like protein* y *heat shock protein* (Tabla 9). Para estos últimos, los niveles de diferenciación en las localidades Ar21 (*Abies* sp. Manantlán) y Ar22 (Nevado de Colima) fueron altos y significativos (Fig. 24 b). Por otro lado, el índice F_{ST} en los loci *ArMybSTR*, *fructosa 1,6 difosfato aldolasa* y *α -1,6 xilosiltransferasa* indicaron una mayor diferenciación en *A. jaliscana* (Af19 y Af18) en relación a los otros linajes (Fig. 24 a). Con el resto de los marcadores, los valores F_{ST} más altos y/o significativos se observaron entre las poblaciones de *A. religiosa*-*Abies* sp. Manantlán y *A. jaliscana*-*A. flinckii* (Apéndice 11).

El promedio de F_{ST} pareada para cada población sugiere que *Abies* sp. Manantlán ($F_{ST} = 0.247$), *A. flinckii* ($F_{ST} = 0.187$ - 0.170) y *A. jaliscana* ($F_{ST} = 0.241$ - 0.162) son los linajes más divergentes. Los niveles de diferenciación fueron intermedios entre las poblaciones que

componen el grupo genético mezclado ($F_{ST}= 0.140-0.097$), y cercano a cero entre las poblaciones de *A. religiosa* ($F_{ST} = 0.094-0.072$).

Tabla 9. Prueba de congruencia entre matrices F_{ST} para 10 genes nucleares en poblaciones de *Abies* del centro de México. Los valores de la prueba de Mantel miden la correlación de una matriz respecto al total de matrices. La hipótesis nula es la incongruencia de las matrices. En negritas, los genes en los que no es posible rechazar la hipótesis nula.

Gen	<i>CesA1</i>	<i>Mip 1</i>	<i>Lhca4</i>	<i>COBRA-like</i>	α -1-6 <i>xilosiltr</i>	<i>Fruc. 1-6 difos ald</i>	<i>Heat shock</i>	ArMyb VI	ArMyb IX	ArMyb STR
Mantel	0.273	0.273	0.167	0.097	0.133	0.118	0.027	0.218	0.034	0.168
<i>P</i>	0.010	0.010	0.016	0.372	0.275	0.275	0.592	0.016	0.592	0.078

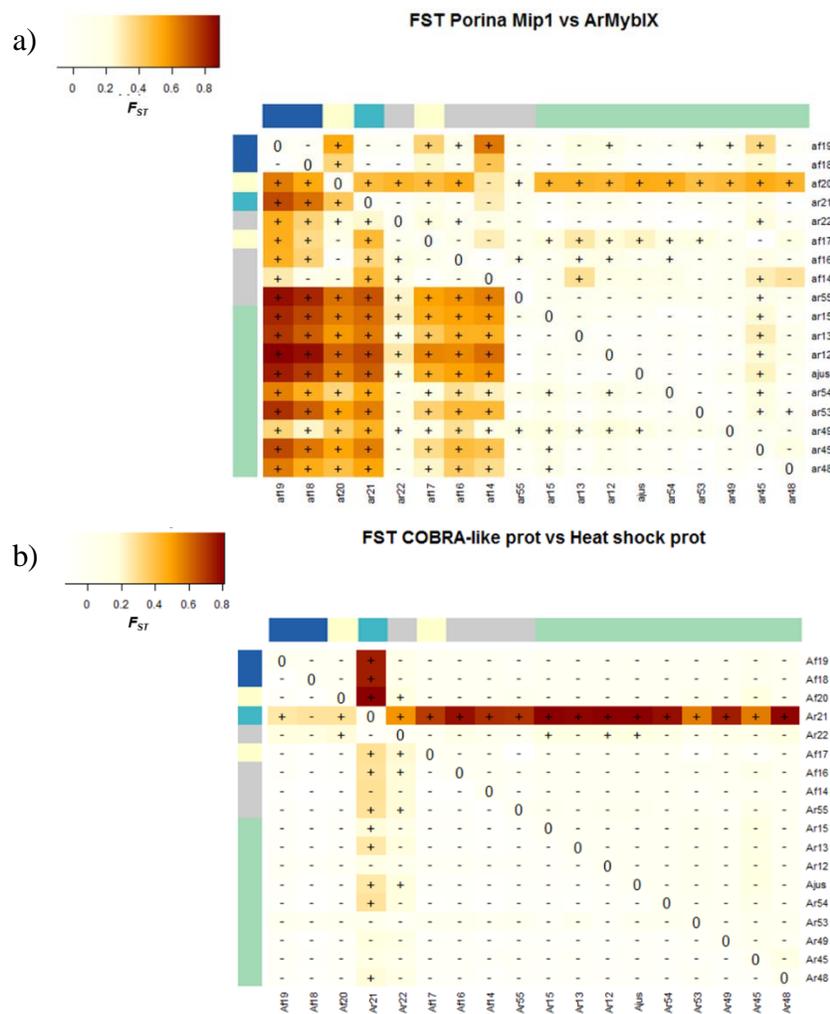


Fig. 24. Gráficas de calor de los niveles de diferenciación F_{ST} (Weir y Cockerham, 1988) entre pares de poblaciones de *Abies* del centro de México para cuatro genes nucleares: **a)** *Porina Mip1* (bajo la diagonal), *ArMybIX* (sobre la diagonal); **b)** *COBRA-like protein* (bajo la diagonal) y *Heat shock protein* (sobre la diagonal). Las poblaciones están ordenadas de izquierda a derecha, según su distribución geográfica longitudinal a lo largo de la FVTM. El color de la barra lateral izquierda corresponde al grupo genético al que fueron asignadas las poblaciones en el análisis STRUCTURE con SSRs nucleares. +: $P < 0.05$.

Pruebas de neutralidad

En relación al resto de los genes, los loci *CesAI*, *COBRA-like protein* y *Porina Mip1a* tuvieron una frecuencia alta de mutaciones no sinónimas en todos los grupos genéticos (Tabla 10). Los valores del estadístico ω fueron menores a 1 para la mayoría de los genes, en todos los linajes (Tabla 13). Sólo en el grupo genético admítico y en *A. religiosa* se observó una proporción $d_N/d_S > 1$ para el gen *Porina Mip1* (Tabla 10). A nivel poblacional, este resultado sólo se pudo calcular en las poblaciones Ar22 y Ar49 ($\omega = 1.096$ y 1.174 , respectivamente) debido a que d_S fue igual a cero en el resto de los casos.

Los estadísticos de neutralidad fueron variables, lo que se reflejó en espectros de frecuencias distintos entre los linajes (Tabla 13). Mientras que D (Tajima, 1989) y F_S (Fu, 1997) tuvieron valores positivos para casi todos los genes en las poblaciones de *A. jaliscana* y *A. flinckii*, en *A. religiosa*, estos estadísticos mostraron valores frecuentemente negativos o cercano a cero (Fig. 25 a, b; Tabla 10). Estas diferencias entre grupos genéticos fueron significativas ($\chi^2_D=10.855$, $df= 4$, $P= 0.028$; $\chi^2_{F_S}=18.574$, $df= 4$, $P= 0.0009$). Por otro lado, los estadísticos H (Fay y Hu, 2000) y H_{norm} (Zeng *et al.*, 2006) fueron negativos con mayor frecuencia entre los grupos genéticos y poblaciones en el occidente de la FVTM; y positivos o cercanos a cero, en *A. religiosa* (Tabla 10, Fig. 25 c, d). Sin embargo, estas diferencias cualitativas no fueron significativas ($\chi^2_H= 31.187$, $df= 4$, $P= 0.527$; $\chi^2_{H_{norm}}= 3.955$, $df= 4$, $P= 0.412$).

En *Abies* sp. Manantlán, así como en algunas poblaciones de *A. religiosa* y del grupo genético mezclado, el gen *COBRA-like protein* mostró valores atípicamente positivos para el estadístico F_S y negativos para los estadísticos H y H_{norm} . Sólo en algunas poblaciones de *A. religiosa*, los genes *Porina Mip1a* y *ArMybIX* tuvieron valores de H atípicamente positivos y H_{norm} negativos, respectivamente (Apéndice 10). Al integrar los resultados de las distintas aproximaciones utilizadas en el presente estudio para inferir selección (ver en Discusión, *Neutralidad y Selección*), los genes *COBRA-like protein* y *CesAI* fueron descartados de los análisis demográficos.

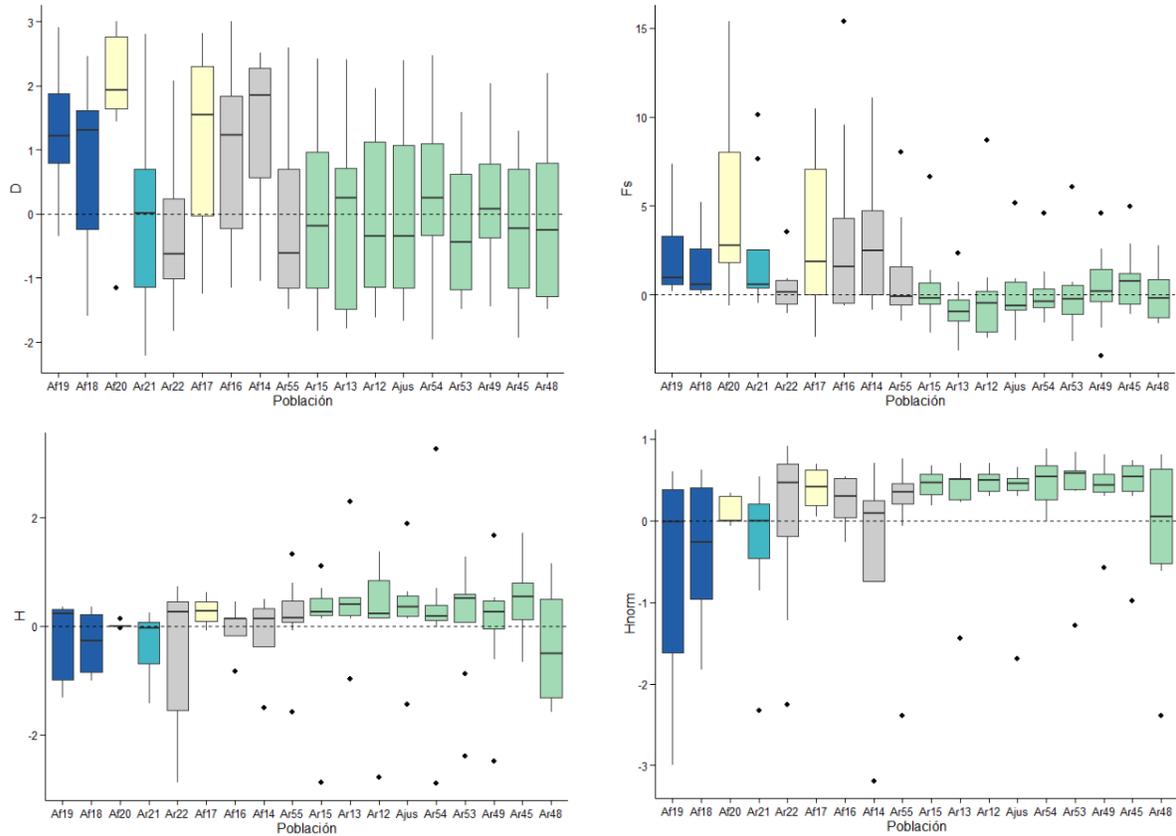


Fig. 25. Estimados de pruebas de neutralidad por población para *Abies* del centro de México. a) D (Tajima, 1989), b) F_s (Fu, 1997), c) H (Fay y Hu, 2000) y d) H_{norm} (Zeng *et al.*, 2006). En c) y d) se descartaron los genes *COBRA-like protein*, *Porina Mip1a* y *ArMybIX* para realizar los cálculos dado que estos tuvieron valores atípicos. Las cajas representan el 50% de la totalidad de datos y las líneas horizontales dentro de estas representan la mediana. El color de las cajas corresponde al grupo genético al que fueron asignadas las poblaciones en el análisis STRUCTURE con SSRs nucleares.

Simulaciones coalescentes y prueba MLHKA

Los niveles de polimorfismo genético observados en cada linaje se ajustaron a varios modelos demográficos (Apéndice 13). Los cuatro estadísticos de neutralidad en *A. jaliscana*, *A. flinckii* y *Abies* sp. Manantlán fueron compatibles con su distribución simulada, asumiendo un escenario de cuello de botella severo (Escenario 15: reducción de la población a un 14.28% de su N_e original; Apéndice 13). Por otro lado, el grupo genético mezclado se ajustó mejor a los escenarios de cuello de botella de intensidad baja e intermedia. De éstos, el que tuvo la mayor probabilidad fue el de intensidad baja ($L_{Escenario13} = -794.135$; Apéndice 13). Finalmente, se encontró que la diversidad genética de *A. religiosa* es compatible con un escenario demográfico

inestable, que se distinguió por una expansión poblacional de poco más de tres veces su N_e ancestral (Escenario 4, Apéndice 13).

Para identificar señales putativas de selección, se calculó el nivel de significancia de los estadísticos de neutralidad para cada gen, al asumir los escenarios demográficos que mejor se ajustaron al polimorfismo observado en cada grupo genético. Los genes *CesA1*, *COBRA-like protein*, *Lhca4*, *Heat shock protein* y los *ArMyb* mostraron valores atípicos para alguno de los estadísticos de resumen calculados. El primero tuvo valores de D positivos y significativos en todos los linajes salvo *A. religiosa* (Tabla 10). Asimismo, el gen *COBRA-like protein* tuvo valores de D y F_s significativos y con signos opuestos entre linajes, y valores significativamente negativos de H_{norm} en *Abies* sp. Manantlán (Tabla 10). Otros genes como el *Lhca4* presentaron estadísticos de D y F_s positivos y significativos en *Abies* sp. Manantlán y *A. religiosa*; y de H_{norm} negativos en *A. jaliscana*. Por último, genes como el *Heat shock protein* y los *ArMyb* mostraron estadísticos negativos y significativos en *A. religiosa* y el grupo genético mezclado (Tabla 10).

Los resultados de las pruebas de neutralidad realizadas en el software MLHKA (Wright y Charlesworth, 2004) están resumidas en el Apéndice 14. Se encontró que la probabilidad del modelo selectivo (lnLS) fue significativamente mayor que la probabilidad de un modelo neutral (lnLN) para el gen *CesA1* en todos los grupos genéticos ($P < 0.043$). De igual modo, se encontró evidencia de selección en el gen *COBRA-like protein* en *A. jaliscana* y *Abies* sp. Manantlán ($P < 0.034$); en el gen *Porina Mip1* en *A. jaliscana* y *A. flinckii* ($P < 0.037$); y en el locus *ArMybSTR* en *A. flinckii* y *Abies* sp. Manantlán ($P < 0.048$). Los genes *Lhca4* y *Porina Mip1a* mostraron una mayor probabilidad del modelo selectivo en *A. flinckii* ($P < 0.046$) (Tabla 10).

Tabla 10.- Número de sustituciones no sinónimas (*Snon*), proporción de sustituciones no sinónimas y sinónimas (ω), estadísticos de neutralidad *D* (Tajima, 1989), *F_s* (Fu, 1997), *H* (Fay y Hu, 2000) y *Hnorm* (Zeng *et al.*, 2006) y valor *P* de la prueba MLHKA para poblaciones de *Abies* del centro de México. Los asteriscos señalan los valores que son significativos bajo los escenarios demográficos más probables para cada linaje, *: $0.01 \leq P \leq 0.05$; **: $P \leq 0.01$. En negritas, los valores $P < 0.05$ en el análisis MLHKA. En líneas punteadas están señalados los genes que mostraron evidencia de selección para la prueba MLHKA y al menos un estadístico de neutralidad.

Linaje	Gen	<i>Snon</i>	ω	<i>D</i>	<i>F_s</i>	<i>H</i>	<i>Hnorm</i>	MLHKA		
<i>A. jaliscana</i>	CesA1	9	0.432	3.236	**	6.446	0.468	0.149	0.043	
	COBRA-like	5	0.217	2.545		8.867	0.069	0.015	0.034	
	Porina Mip1	0	0.000	0.237		0.648	-1.091	-2.614	0.001	
	Lhca4	0	0.000	0.207		2.749	-2.319	-3.744	*	
	α -1, 6 xilosiltr	0	0.000	-1.279		-0.529	0.355	0.444	1.000	
	Fruct. 1,6 dif. ald	0	0.000	1.232		1.362	-0.464	-1.122	0.858	
	Porina Mip1a	3	0.401	1.642		-0.708	1.101	0.375	0.065	
	Heat shock	0	0.000	na		na	na	na	na	
	ArMybIX	0	0.000	na		na	na	na	na	
	ArMybSTR	1	-	0.959		1.055	0.277	0.283	0.155	
	ArMybVI	1	-	0.381		0.784	0.246	0.601	0.235	
	<i>A. flinckii</i>	CesA1	10	0.572	3.118	*	13.486	0.074	0.025	0.025
		COBRA-like	4	0.199	3.554	**	16.904	*	-0.185	-0.051
Porina Mip1		1	-	0.124		-0.594	0.355	0.444	0.037	
Lhca4		0	0.000	-1.164		-0.879	0.095	0.225	0.013	
α -1, 6 xilosiltr		0	0.000	1.609		2.923	-0.232	-0.374	0.611	
Fruct. 1,6 dif. ald		0	0.000	na		na	na	na	na	
Porina Mip1a		1	0.114	1.716		0.909	1.385	0.517	0.046	
Heat shock		0	0	na		na	na	na	na	
ArMybIX		0	0	0.718		1.335	-0.392	-0.473	1.000	
ArMybSTR		0	0	-0.994		-1.128	-0.764	0.243	0.044	
ArMybVI		0	0	na		na	na	na	na	
Manantlán		CesA1	7	0.958	2.808	*	10.124	0.000	0.000	0.034
		COBRA-like	5	0.223	-2.218	*	7.622	-25.15	-5.288	*
	Porina Mip1	1	0.000	0.422		0.923	-0.576	-0.854	0.107	
	Lhca4	0	0.000	2.453	*	2.528	-0.088	-0.072	1.000	
	α -1, 6 xilosiltr	0	0.000	-0.195		0.297	0.242	0.541	0.717	
	Fruct. 1,6 dif. ald	0	0.000	na		na	na	na	na	
	Porina Mip1a		na	na		na	na	na	na	
	Heat shock	0	0.000	0.015		0.417	-1.067	-2.331	0.217	
	ArMybIX	0	0.000	-1.401		0.586	-1.422	-2.063	1.000	
	ArMybSTR	0	0.000	-1.141		-0.476	0.152	0.338	0.048	
	ArMybVI	2	-	0.700		0.375	0.044	0.066	0.748	

Tabla 10 (continuación). - Número de sustituciones no sinónimas (*Snon*), proporción de sustituciones no sinónimas y sinónimas (ω), estadísticos de neutralidad *D* (Tajima, 1989), *F_s* (Fu, 1997), *H* (Fay y Hu, 2000), *Hnorm* (Zeng *et al.*, 2006) y valor *P* de la prueba MLHKA en poblaciones de *Abies* del centro de México.

Linaje	Gen	<i>Snon</i>	ω	<i>D</i>	<i>F_s</i>	<i>H</i>	<i>Hnorm</i>	MLHKA	
Mezcla genética	CesA1	14	0.746	2.433 *	4.847	2.598	0.824	-	
	COBRA-like	6	0.214	2.705 *	12.189 *	-2.890	-0.736	-	
	Porina Mip1	2	4.316	-0.230	-2.878	0.879	0.672	-	
	Lhca4	1	0.344	-0.440	-0.289	0.095	0.225	-	
	α -1, 6 xilosiltr	0	0.000	-0.360	-0.617	0.872	0.749	-	
	Fruct. 1,6 dif. ald	0	0.000	na	na	na	na	-	
	Porina Mip1a	2	0.228	0.650	-3.409	2.532	0.727	-	
	Heat shock	0	0.000	-0.946	-1.189	0.213	0.365	-	
	ArMybIX	0	0.000	-1.627 *	-0.307	-5.166 *	-3.876 *	-	
	ArMybSTR	0	0.000	-1.659 *	-4.070 **	-1.708	-1.920	-	
	ArMybVI	1	0.435	-1.326	-2.479 *	0.197	0.343	-	
	<i>A. religiosa</i>	CesA1	32	0.757	0.072	-9.298	2.019	0.420	0.032
		COBRA-like	9	0.222	1.391 **	3.080 *	-2.003	-0.388	0.429
		Porina Mip1	1	6.063	-1.865	-9.110	-0.498	-0.266	0.053
Lhca4		0	0.000	0.718 *	0.334 **	0.604	0.368	0.189	
α -1, 6 xilosiltr		2	0.025	-1.846	-9.213	0.412	0.291	0.795	
Fruct. 1,6 dif. ald		0	0.000	-1.240	-3.065	0.151	0.228	0.128	
Porina Mip1a		5	0.560	0.144 *	-17.879	3.054	0.684	0.159	
Heat shock		3	0.535	-1.862 *	-6.052 *	0.114	0.121	0.155	
ArMybIX		0	0.000	-1.107	-1.711	-4.335 *	-2.835 *	1.000	
ArMybSTR		0	0.000	-2.263 **	-12.286 *	-1.542	-0.741	0.303	
ArMybVI	4	0.927	-1.589	-3.719 *	0.392	0.337	1.000		

6.3 Divergencia y demografía histórica

Los resultados del análisis ABC para la totalidad de los datos genéticos están resumidos en Apéndice 16. Se consideró el 1% de los juegos de datos simulados más cercanos a los datos genéticos observados para calcular la probabilidad posterior de cada escenario. El escenario 8 tuvo la mayor probabilidad posterior ($PP= 0.775$), seguido de los escenarios 3 y 4. La confianza en la selección del mejor escenario reveló un error de tipo I de 0.119 y un error de tipo II de 0.029, lo que indica que un nivel de confianza relativamente bueno. Para corroborar el ajuste del escenario 8 y la distribución posterior de sus parámetros demográficos, se realizó un análisis de “bondad de ajuste”. Los resultados de este análisis señalaron que los datos simulados que asumen el escenario 8 y sus parámetros demográficos se ajustan bien a los datos genéticos observados en las poblaciones de oyamel (Apéndice 16).

Tabla 11. Distribución posterior de los parámetros demográficos calculados en el software DIYABC v. 2.1.0, según los mejores escenarios demográficos seleccionados para la totalidad de datos (General) y *subsets* poblacionales en *Abies* del centro de México. Se utilizó el 1% de los sets de simulaciones más cercanos a los datos observados. Se calculó el promedio para aquellos parámetros que resultaran ser comparativos entre los subsets.

Simulación	<i>S</i>	<i>PP</i>	N1(10 ⁴)	N2(10 ⁴)	N3(10 ⁴)	N4(10 ⁴)	N5(10 ⁴)	Na5(10 ⁴)	t1	t2	t3	<i>ra</i>
General	8	0.755 (0.742,0.769)	1.89 (1.00-3.56)	2.40 (1.16-3.67)	1.05 (0.44-3.16)	14.6 (8.50-14.80)	83.4 (30.30-96.70)	4.57 (2.89-7.58)			1.608 (1.188-3.042)	0.52 (0.37-0.97)
Subset W N4(Af14-Af16) N5(Ar45-Ar48)	3a	0.890 (0.873,0.906)	4.61 (2.40-8.84)	4.27 (2.30-8.77)	2.41 (1.03-7.69)	2.26 (0.87-8.14)	97.70 (26.90-97.50)	10.10 (5.20-13.50)	0.348 (0.125-0.930)	1.236 (0.768-2.334)	1.878 (1.158-2.886)	0.59 (0.42-0.72)
Subset X N4(Af14-Af16) N5(Ar12-Ajus)	3a	0.949 (0.938,0.960)	3.82 (2.01-8.60)	4.13 (2.01-8.41)	1.85 (0.89-7.52)	2.33 (0.84-7.65)	97.60 (22.60-97.00)	10.30 (5.41-13.50)	0.612 (0.167-0.942)	1.182 (0.744-2.226)	2.352 (1.290-2.916)	0.62 (0.46-0.76)
Subset Y N4(Ar22-Ar55) N5(Ar12-Ajus)	3	0.769 (0.749,0.788)	3.67 (1.89-8.49)	2.60 (1.43-7.68)	1.74 (0.92-7.90)	15.90 (4.79-15.60)	95.20 (17.50-96.40)	11.80 (6.85-13.60)	0.295 (0.043-0.292)	0.780 (0.648-1.812)	1.746 (1.014-2.844)	0.40 (0.27-0.57)
Subset Z N4(Ar22-Ar55) N5(Ar45-Ar48)	3	0.962 (0.956,0.968)	4.24 (2.06-8.59)	3.28 (1.83-8.35)	1.66 (0.93-8.04)	15.60 (4.04-15.50)	82.80 (15.70-95.70)	10.50 (6.08-13.50)	0.167 (0.031-0.284)	1.050 (0.708-2.286)	2.220 (1.152-2.904)	0.45 (0.30-0.60)
Prom.			4.09 (1.89-8.84)	3.57 (1.43-8.77)	1.92 (0.89-8.04)		93.33 (15.70-97.50)	10.68 (5.20-13.60)		1.06 (0.648-2.334)	2.05 (1.014-2.916)	0.51 (0.27-0.76)

S, mejor escenario; *PP*, probabilidad posterior e intervalos de confianza al 95% (números en paréntesis); N1, tamaño efectivo poblacional de *A. jaliscana*; N2, tamaño efectivo poblacional de *A. flinckii*; N3, tamaño poblacional efectivo de *Abies* sp. Manantlán; N4, tamaño efectivo poblacional del grupo genético admítico; N5, tamaño poblacional efectivo de *A. religiosa*; Na5, tamaño poblacional efectivo ancestral de *A. religiosa*; t1-t3, tiempos de divergencia (en millones de años); *ra*, tasa de admixia. Los valores son las modas (5-95% cuantiles) de cada distribución posterior.

La probabilidad posterior para los cuatro *subsets* fue mayor que la obtenida para el *set* de datos genéticos completos (Apéndice 16). Tanto la confianza en la selección del modelo como el ajuste de los datos genéticos simulados y observados confirmaron un nivel de certidumbre estadística alto (Apéndice 17). Al igual que con la totalidad de los datos, los estimados de error de tipo I y tipo II fueron relativamente bajos para todos los análisis. El análisis de revisión del modelo reveló un desajuste máximo de 0.15, calculado con el *subset* Y (Apéndice 16).

Asumiendo un tiempo generacional de 60 años, todos los escenarios seleccionados indicaron que *A. flinckii* divergió de *A. religiosa* hace aproximadamente 2.05 Ma (1.01 – 2.91) y que la divergencia de *A. jaliscana* y *Abies* sp. Manantlán ocurrió más tarde, hace 1.06 Ma (0.648-2.334 Ma). La expansión demográfica de *A. religiosa*, simulada en todas las hipótesis filogeográficas, se ajustó bien a los datos genéticos observados en todos los análisis (Apéndice 15). Con estos se determinó que el tamaño poblacional efectivo de *A. religiosa* se incrementó recientemente (0.03 - 0.93 Ma) en al menos nueve veces su tamaño ancestral (Tabla 11). En contraste, todos los escenarios seleccionados sugieren que los tamaños poblacionales efectivos de *A. jaliscana*, *A. flinckii* y *Abies* sp. Manantlán han sido históricamente bajos ($0.89 - 8.84 \times 10^4$, Tabla 11). Los escenarios más probables para las poblaciones con ancestría genética mezclada (Af14 y Af16) indicaron que estas surgieron por contacto entre *A. flinckii* y *A. religiosa* hace unos 0.48 Ma (0.125 - 0.942 Ma). Sin embargo, cuando el grupo genético mezclado estuvo representado por las poblaciones Ar22 y Ar55, los modelos más probables señalaron un origen mucho más reciente (0.031 – 0.292 Ma), resultado del contacto entre *A. religiosa* y *Abies* sp. Manantlán (Tabla 11).

Aislamiento con migración

Mediante las simulaciones coalescentes realizadas en el software IMA2 (Hey, 2010) se recuperó la distribución posterior marginal de 28 parámetros demográficos a partir de un muestreo de genealogías que considera la divergencia con migración entre los linajes de oyamel (Tabla 12, Fig. 26). Al igual que los resultados obtenidos en los análisis ABC, se estimó que el N_e de *A. jaliscana*, *A. flinckii* y *Abies* sp. Manantlán es bajo y se ha conservado así desde su divergencia (Fig. 26, Apéndice 18). De igual modo, el análisis IM sugirió N_e pequeños para las poblaciones ancestrales, con la única excepción del ancestro de *A. jaliscana* y *A. flinckii*, mismo que se

estimó en varias decenas de miles de individuos (media= 63.70×10^3 ; $16.70-144 \times 10^3$). Aunque el primer evento de divergencia fue relativamente similar al calculado mediante los análisis ABC (HiPt= 1.31 Ma), el análisis de aislamiento con migración sugirió que la divergencia de los cuatro grupos genéticos es mucho más reciente, durante el Pleistoceno medio (0.498- 0.291 Ma., Fig. 26, Apéndice 18).

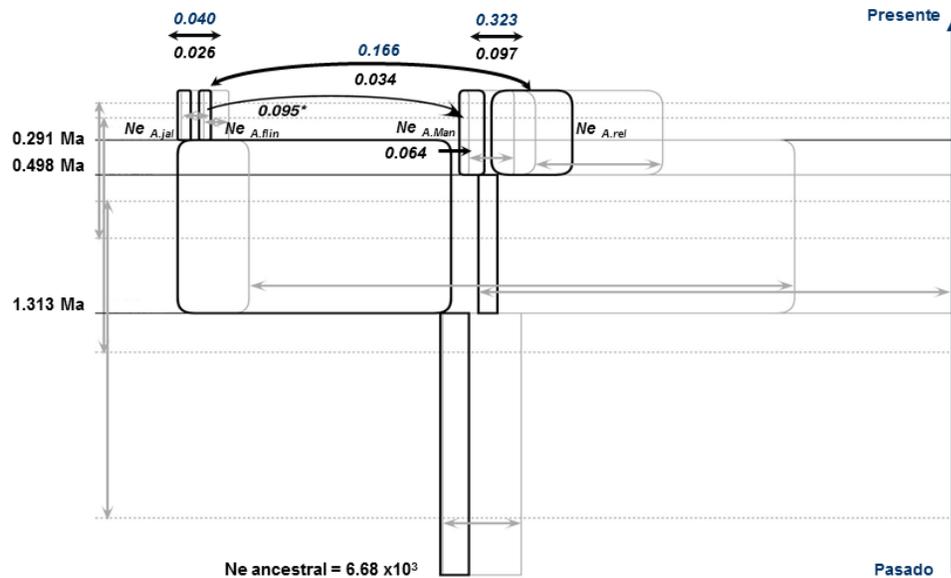


Fig. 26. Resumen del modelo de aislamiento con migración (IM) para los cuatro grupos genéticos de oyamel en la FVTM. El tamaño efectivo (N_e) de las poblaciones actuales y ancestrales está representado por rectángulos de contorno negro. Los intervalos del 95% de la distribución posterior más alta se muestra en rectángulos de contorno gris para los N_e y con líneas punteadas grises para los tiempos de divergencia. La dirección del flujo genético se muestra con flechas negras. Sólo se muestra el número efectivo de migrantes ($2Nm$) por encima de 0.002.

El número efectivo de migrantes ($2Nm$) fue asimétrico entre los grupos genéticos actuales (Fig. 26, Tabla 12). Los estimados de $2Nm$ más altos se observaron entre *A. flinckii* y *A. religiosa* ($2Nm = 0.166$) y entre *Abies* sp. Manantlán y *A. religiosa* ($2Nm = 0.323$). En ambos casos, el flujo de migrantes ocurrió principalmente hacia *A. religiosa* y fue menor en el sentido contrario (Fig. 26, Tabla 12). El modelo de IM también sugirió flujo genético bajo entre *A. flinckii* (y su ancestro) y *Abies* sp. Manantlán, siendo este último linaje un receptor de migrantes. Finalmente, el número efectivo de migrantes fue bajo ($2Nm = 0.026-0.040$) pero relativamente simétrico entre *A. jaliscana* y *A. flinckii*.

Tabla 12. Estimados de máxima verosimilitud (HiPt) e intervalos del 95% de la distribución posterior más alta (HPD95 Lo y Hi) de la tasa de migración ajustada al tamaño poblacional efectivo (N_e) para *Abies* del centro de México.

Parámetro	$2Nm_{HiPt}$	$2Nm_{HPD95Lo}$	$2Nm_{HPD95Hi}$
$2Nm_{A,jal} > A_{flin}$	0.026	0.000	0.132
$2Nm_{A,jal} > A_{Man}$	0.000	0.000	0.111
$2Nm_{A,jal} > A_{rel}$	0.000	0.000	0.117
$2Nm_{A,flin} > A_{jal}$	0.040	0.000	0.126
$2Nm_{A,flin} > A_{Man}$	0.001	0.000	0.111
$2Nm_{A,flin} > A_{rel}$	0.034	0.000	0.122
$2Nm_{A,Man} > A_{jal}$	0.001	0.000	0.215
$2Nm_{A,Man} > A_{flin}$	0.096	0.000	0.249
$2Nm_{A,Man} > A_{rel}$	0.097	0.000	0.247
$2Nm_{A,Man} > 4$	0.065	0.000	0.237
$2Nm_{A,rel} > A_{jal}$	0.002	0.000	0.498
$2Nm_{A,rel} > A_{flin}$	0.166	0.000	0.658
$2Nm_{A,rel} > A_{Man}$	0.323	0.000	0.744
$2Nm_{A,rel} > 4$	0.002	0.000	0.722
$2N4m4 > A_{Man}$	0.002	0.000	2.797
$2N4m4 > A_{rel}$	0.006	0.000	2.809
$2N4m4 > 5$	0.002	0.000	2.821
$2N5m5 > 4$	0.002	0.000	1.633

7. DISCUSIÓN

7.1 Diversidad y estructura genético-poblacional

Aún cuando la distribución del oyamel es discontinua (Rzedowski, 2006), la principal hipótesis con respecto a su diversidad genética fue que la mayor proporción de la variación se encontraría dentro de las poblaciones, mientras que una pequeña pero significativa parte se encontraría entre éstas. Esta hipótesis obedece a los rasgos biológicos de las coníferas tales como su longevidad, su sistema de entrecruzamiento abierto y su alta capacidad de dispersión (Petit y Hampe, 2006; Prunier *et al.*, 2016); así como a los antecedentes genéticos en otras Pinaceae en México (e.g., Moreno-Letelier y Piñero, 2009; Quiñones-Pérez *et al.*, 2017).

En general, el polimorfismo dentro de las poblaciones de oyamel del centro de México, tanto con marcadores SSRs como con secuencias nucleares, fue alto en el centro y este de la FVTM y bajo en el occidente (e.g., Fig. 10, 11 y 21). Aunque estas diferencias fueron particularmente pronunciadas con SSRs y significativas sólo para algunos parámetros de diversidad (N_a , R_a y H_e en SSRs; y h , en secuencias nucleotídicas), en principio sugieren que las poblaciones han estado sujetas a distintos procesos evolutivos neutrales y selectivos que contrastan entre regiones geográficas dentro de la FVTM. La variación genética en las poblaciones del centro y este de la FVTM es comparable con la observada en otras coníferas como *Pseudotsuga menziesii* var. *menziesii* (Loo *et al.*, 2015) y *Pinus hwangshanensis* (Zhou *et al.*, 2016), ambas con una amplia distribución en el suroeste de Canadá y la Meseta Tibetana, respectivamente. Por su parte, las poblaciones occidentales mostraron niveles de diversidad similares a los de otras especies con distribución fragmentada como *Taxus baccata* (Chybicki *et al.*, 2011; Mayol *et al.*, 2015), *Abies cilicica* (Sękiewicz *et al.*, 2015) y *Juniperus blancoi* (Moreno-Letelier *et al.*, 2014). Sin embargo, la variación genética en los oyameles del occidente fue aún mayor que la observada en otros *taxa* como *Abies fraseri* (Potter *et al.*, 2010), *Tsuga caroliniana* (Potter *et al.*, 2017), *Androcedrus chilensis* (Pomponio *et al.*, 2013) y *Juniperus microsperma* (Shang *et al.*, 2015), todos con una distribución restringida.

Un escenario de fragmentación similar al del oyamel en la FVTM, supone la disminución de la diversidad genética y el N_e de las poblaciones, así como un incremento en los niveles de consanguinidad (Young *et al.*, 1996; Tabla 1). Aún cuando la diversidad genética del oyamel parece ser alta o intermedia en relación a otras coníferas con distribución discontinua, casi todas

las poblaciones exhibieron una desviación del equilibrio H-W debido a una deficiencia de heterocigos (Tabla 6), que produce valores de F_{IS} positivos y significativamente diferentes de cero (Fig. 13). Ya que estos resultados fueron obtenidos con SSRs, el exceso de homocigosis pudo deberse a la ocurrencia de alelos nulos (Putman y Carbone, 2014), mismos que fueron particularmente frecuentes en el locus *Ab27*. No obstante, no se encontraron diferencias significativas entre la distribución de los datos de SSRs originales y la distribución corregida por este error de amplificación. Si bien la historia de vida de las coníferas parece suavizar el impacto genético de la fragmentación sobre los niveles de polimorfismo dentro de las poblaciones (Young *et al.*, 1996; Kramer *et al.*, 2008), los *Abies* del centro de México mostraron niveles de consanguinidad altos al interior de sus poblaciones, lo que puede ser interpretado como un primer síntoma genético de su situación actual de fragmentación y aislamiento en las *sky-islands*.

Diferenciación genética poblacional

Una de las hipótesis de este estudio propone que una pequeña fracción de la variación se encontraría entre las poblaciones. En consistencia con esta hipótesis, los niveles de diferenciación genética en los microsatélites y los genes nucleares fueron bajos entre las poblaciones del centro y este de la FVTM. Por el contrario, las poblaciones del occidente mostraron estar bien diferenciadas entre sí (Fig. 14-16, 23a). En el caso de los SSRs, la diferenciación entre pares de poblaciones fue baja cuando se cuantificó con F_{ST} y G_{ST} ; y alta cuando se utilizó G'_{ST} y D_{EST} (Fig. 14-16). Debido a que estimados como F_{ST} y G_{ST} subestiman los niveles de diferenciación reales cuando la heterocigosis dentro de las poblaciones es elevada (Whitlock, 2011), como suele ser el caso de los SSRs (Putman y Carbone, 2014), se consideraron a G'_{ST} y D_{EST} como los índices que mejor describen la diferenciación de las poblaciones, en tanto que F_{ST} fue utilizada con fines comparativos con otros estudios. Los estimados de G'_{ST} y D_{EST} fueron altos entre las poblaciones de oyamel en la región occidente (Af19, Af18, Af20, Af17 y Ar21) y respecto a las poblaciones en el centro-este de la FVTM (Fig. 16). Estos niveles de diferenciación fueron similares a los observados entre *Pseudotsuga menziesii* var. *menziesii* y *P. menziesii* var. *glauca*, ($D_{EST} = 0.301-0.839$), cuya divergencia se estima ocurrió durante el Pleistoceno medio (Loo *et al.*, 2015); pero también comparables con los calculados entre las poblaciones de *Abies cilicica* ($F_{ST} = 0.019-0.254$), cuya diversidad

genética supone una historia de aislamiento geográfico prolongado durante el Pleistoceno (Sękiewicz *et al.*, 2015). En contraste, los niveles de diferenciación entre las poblaciones del centro-este de la FVTM fueron bajos y/o no significativos (Fig. 16); similares a los estimados con SSRs nucleares entre las poblaciones de *Picea abies*, una especie de amplia distribución en el norte de Europa ($F_{ST}= 0.029$; Tollefsrud *et al.*, 2009).

Para seis de los 11 genes, la mayor parte de la variación se encontró entre las poblaciones de las dos especies taxonómicas (*A. flinckii* y *A. religiosa*, Farjon and Rushforth, 1989; e.g., Fig 24a) mientras que, para el resto, sólo algunas poblaciones del occidente mostraron estar bien diferenciadas (e.g., Fig. 24b). Los valores de F_{ST} que diferenciaron bien a las especies fueron similares (o más altos para ciertos genes) a los observados con seis genes nucleares en *Juniperus blancoi*, una conífera con poblaciones fuertemente fragmentadas, sobre las principales montañas de México ($F_{ST} = -0.008-0.557$, Moreno-Letelier *et al.*, 2014). Por otro lado, los niveles de diferenciación bajos, observados entre las poblaciones del centro y este de la FVTM, han sido reportados a nivel intraespecífico en *Picea likiangensis* ($F_{ST}= 0.002-0.023$, Li *et al.*, 2013). Las variedades ecológicas de esta especie divergieron en presencia de flujo génico, con eventos marcados de expansión de área de distribución hacia finales del Pleistoceno.

Estructura genética poblacional y espectros de frecuencia

Casi todas las poblaciones mostraron algo de ancestría mezclada; de hecho, sólo cinco de éstas pudieron ser asignadas a un grupo genético en particular (Fig. 17, Apéndice 8). De igual manera, aunque el análisis DAPC infirió 10 *clusters* genéticos, sólo dos mostraron ser significativamente distintos y tener congruencia geográfica (Fig. 19). Estos patrones suponen que las poblaciones comparten gran parte de la variación genética, una observación consistente con la distribución de los mitotipos y clorotipos en los *Abies* de Mesoamérica (Jaramillo-Correa *et al.*, 2008; Aguirre-Planter *et al.*, 2012).

En general, las poblaciones del occidente de la FVTM mostraron una fuerte estructura, definida por al menos tres unidades genéticas (Fig. 17 y 18, Apéndice 8). La primera incluyó a los sitios de El Cuale (Af19) y Cumbre de Guadalupe (Af18) (Fig. 17 y 18). Recientemente se ha descrito que la fenología de estas poblaciones varía sustancialmente a la del resto de las especies co-distribuidas en la región, lo que ha justificado su separación taxonómica con el nombre de *A. jaliscana* (Vázquez-García *et al.*, 2014). El segundo *cluster* estuvo conformado

por las poblaciones de El Terrero (Af20) y Dos Aguas (Af17), mismas que morfológicamente son consideradas como *A. flinckii* (Vázquez-García *et al.*, 2014) y que, en este estudio, mantienen tal denominación. Inesperadamente, una de las poblaciones en Sierra de Manantlán (Ar21) constituyó un tercer grupo genético (Fig. 17 y 18). Junto con el Nevado de Colima (Ar22), ambas poblaciones se distinguen por tener un mitotipo derivado y exclusivo (Jaramillo-Correa *et al.*, 2008) y una variabilidad isoenzimática notablemente baja (Aguirre-Planter *et al.*, 2000). En general, estos tres grupos genéticos se caracterizan por una abundancia de variantes alélicas derivadas de frecuencia intermedia (Fig. 25), lo que indica que la deriva ha sido un proceso importante en su evolución.

Al contrario de lo que se observó en el occidente de la FVTM, en el centro y este, las poblaciones no mostraron estar estructuradas genéticamente (Fig. 17 y 18). Al examinar la ancestría promedio de las poblaciones, se reconoció una cuarta unidad genética, integrada por poblaciones clasificadas taxonómicamente como *A. religiosa* y que se distribuyen desde Puerta Garnica (Ar15), hasta el extremo este de la FVTM (Fig. 18). A diferencia de los primeros tres grupos genéticos, los estadísticos de neutralidad revelaron una importante cantidad de alelos derivados de baja frecuencia (Fig. 25).

Sólo cuatro poblaciones, morfológicamente consideradas como *A. flinckii* y *A. religiosa*, no tuvieron una ancestría definida (Fig. 17). La distribución geográfica de estas poblaciones en el centro de la FVTM, así como su variación genética mitocondrial y de cloroplasto (Jaramillo-Correa *et al.*, 2008) fueron consideradas como evidencia de contacto secundario y mezcla genética en esta región (Fig. 18).

7.2 Neutralidad y selección

Las diferentes pruebas de neutralidad (S_{non} , ω , estadísticos de neutralidad, MLHKA) fueron consistentes entre sí y sugieren que los genes *COBRA-like protein* y *CesA1* no se ajustan a los patrones de polimorfismo esperados bajo un modelo de evolución neutral (Tabla 10). Algunos estudios han demostrado que los estadísticos de neutralidad son robustos para detectar selección cuando el alelo ventajoso incrementa su frecuencia y hasta poco después de la fijación del mismo (Zeng *et al.*, 2006), mientras que la prueba HKA ha mostrado tener suficiente poder estadístico en una ventana temporal más amplia (Zhai *et al.*, 2008). No obstante, ambos tipos de aproximaciones son susceptibles a la demografía histórica de las poblaciones (Wright y

Charlesworth, 2004; Zeng *et al.*, 2006). En ese sentido, la significancia estadística de las pruebas de neutralidad, calculada a partir del modelo demográfico más probable, supone una disminución de la tasa de falsos positivos. Aunque los modelos demográficos más probables simulados en *mlcoalsim* coinciden con la demografía histórica de los grupos genéticos inferida por métodos ABC, los resultados de las pruebas de neutralidad deben ser interpretados con precaución.

El gen *CesA1* tuvo una alta frecuencia de mutaciones no sinónimas y una probabilidad significativamente mayor de ajustarse a un modelo selectivo en todos los linajes (MLHKA, $P < 0.043$; Tabla 10). Asimismo, el estadístico D indicó que las variantes genéticas derivadas de frecuencia intermedia son significativamente más abundantes en relación a lo esperado bajo un escenario demográfico neutral en *A. jaliscana*, *A. flinckii* y *Abies* sp. Manantlán. Estos linajes se distribuyen en la región occidental de la FVTM, donde el clima se distingue por ser más cálido que en su contraparte oriental (Niza-Gómez *et al.*, 2011). En estas condiciones ambientales, la tasa de transpiración en las plantas puede llegar a ser muy alta y provocar una disminución en la capacidad de transporte de agua debido a la cavitación del xilema (Sperry e Ikeda, 1997). En coníferas como *Cunninghamia lanceolata*, los niveles de expresión de *CesA1* son particularmente altos en el xilema (Huang *et al.*, 2012), razón por la que se piensa que este gen podría estar implicado en respuestas a estrés por evapotranspiración (e.g., *Pinus cembra*, Mosca *et al.*, 2016) en los oyameles del occidente de la FVTM.

El locus *COBRA-like protein* tuvo una frecuencia alta de mutaciones no sinónimas y estadísticos de neutralidad significativos para la mayoría de los linajes del occidente de la FVTM. Los patrones de F_{ST} dados por este gen señalaron que *Abies* sp. Manantlán (Ar21) se encuentra diferenciada del resto de las poblaciones, un patrón distinto al observado con los otros genes nucleares (ver Fig. 24b). Sólo en este linaje, los estadísticos D , H_{norm} y la prueba MLHKA (Tabla 10) fueron consistentes en mostrar señales de selección. La morfología acicular de estos linajes es significativamente distinta de la observada en *A. religiosa* (Shalisko, 2014). En *C. lanceolata*, un gen COBRA (*CICOBLI*) ha mostrado niveles de expresión altos en la región del cambium y en las acículas. La sobreexpresión de *CICOBLI* en plantas de tabaco modificó significativamente la morfología de las hojas e inflorescencias, por lo que se piensa que *CICOBLI* cumple con un papel importante en la síntesis de pared celular y en la morfogénesis de acículas en las coníferas (Gao *et al.*, 2013). Por lo tanto, es posible que el gen *COBRA*

analizado en este estudio esté relacionado la diferenciación acicular entre los oyameles del occidente de la FVTM y *A. religiosa*.

7.3 Historia demográfica y de divergencia del oyamel en la FVTM

En este estudio se utilizaron tres métodos coalescentes (i.e., simulaciones en mlcoalsim, ABC e IM) para identificar la historia demográfica y de divergencia que mejor explica la distribución de la variación genética nuclear dentro y entre poblaciones de *Abies* en la FVTM. La combinación de estas tres aproximaciones permitió identificar distintos procesos evolutivos y establecer una relación entre la historia geológica y climática conocida de la FVTM con las características biológicas del oyamel.

Divergencia de A. flinckii y A. religiosa hacia finales de Plioceno

Las simulaciones coalescentes con métodos ABC (tanto para la totalidad de datos genéticos como para los subsets poblacionales) sugieren que *A. flinckii* divergió de *A. religiosa* hacia finales del Plioceno y principios del Pleistoceno (2.05 ± 1.0 Ma). Durante este periodo dio inicio la última fase de formación de la FVTM, definida por un cambio en la dirección de migración de la actividad volcánica hacia el suroeste y una intensa actividad tectónica en la región occidental (Ferrari *et al.*, 2012). Además, las condiciones climáticas eran relativamente estables, con temperaturas de 2-3°C por encima del actual interglaciar (Salzmann *et al.*, 2011). Este escenario ambiental es consistente con la inferencia de N_e poblacionales reducidos, estimados con ABC y parcialmente con el análisis IM (Tabla 11, Apéndice 18), lo que indica que el proceso de divergencia se vio favorecido por un fuerte aislamiento geográfico (Fig. 27). Esta hipótesis se ve reforzada por la divergencia morfológica de ambas especies (ver Tabla 2; Farjon and Rushforth, 1989) y por la separación casi completa observada con ADN de cloroplasto (Jaramillo-Correa *et al.*, 2008; Aguirre-Planter *et al.*, 2012).

Divergencia de los grupos genéticos en el occidente de la FVTM: fragmentación y colonización

El tiempo de divergencia medio de *A. jaliscana* y *Abies* sp. Manantlán, calculado por métodos ABC, fue de 1.06 Ma; y de entre 0.498 y 0.291 Ma, asumiendo un modelo de aislamiento con migración (Tabla 11, Apéndice 18). Aunque las regiones de alta probabilidad posterior (95%) de los tiempos de divergencia se superponen, estas diferencias posiblemente se deben a que la

simulación del coalescente por el primer método no asume migración (y por lo tanto los migrantes tardan más generaciones en coalescer, Hamilton *et al.*, 2011), mientras que en el segundo, la migración es uno de los supuestos.

Hacia finales de Pleistoceno temprano (≈ 1.0 Ma), la actividad volcánica de la FVTM se caracterizó por el surgimiento de los actuales estratovolcanes, orientados más o menos en una horizontal que atraviesa el centro de México (Ferrari *et al.*, 2012). Desde el punto de vista biológico, los estratovolcanes mexicanos fungen como hábitats para la biota de montaña (Mastretta-Yanes *et al.*, 2015). En el caso de las coníferas, la probabilidad de colonización de estos ambientes va a depender de que las condiciones climáticas favorezcan su desplazamiento. Ya que se piensa que la temperatura global atmosférica continuó siendo cálida y con una alta concentración de humedad en el centro de México (Cohen y Gibbard, 2016; Isráde-Alcántara *et al.*, 2010), una primera hipótesis es que *A. jaliscana* y *Abies* sp. Manantlán divergieron de sus ancestros respectivos por aislamiento geográfico (Fig. 27). No obstante, si la divergencia de estos linajes ocurrió durante el Pleistoceno medio (como lo sugiere el análisis IM, Apéndice 18), la expansión de su área de distribución y divergencia por colonización constituye una hipótesis igualmente plausible (Fig. 27). Las consecuencias genéticas esperadas en un proceso de aislamiento y uno de colonización son distintas entre sí (ver Tabla 1 y sus referencias). La distribución de la variación genética del oyamel sugiere al menos dos dinámicas histórico-demográficas contrastantes a lo largo de la FVTM, consecuencia de la complejidad topográfica de dicha región (Ramírez-Barahona y Eguiarte, 2013).

Fragmentación en el occidente de la FVTM

Las simulaciones coalescentes con ABC, *mlcoalsim* y parcialmente en el análisis IM, sugieren N_e poblacionales reducidos para *A. flinckii*, *A. jaliscana* y *Abies* sp. Manantlán (ver Tabla 11; Apéndice 13 y 18). Esto fue congruente con la baja de diversidad genética dentro de las poblaciones, compuesta por variantes de frecuencia intermedia y con los altos niveles de diferenciación cuantificados tanto con microsatélites como con secuencias nucleares. Adicionalmente, no se encontró evidencia de una correlación significativa entre la distribución de la variación y la distancia geográfica actual entre las poblaciones (Fig. 20), lo que soporta la divergencia de *A. flinckii*, *A. jaliscana* y *Abies* sp. Manantlán por procesos de fragmentación prolongados, con niveles de flujo génico reducido o nulo (Fig. 27).

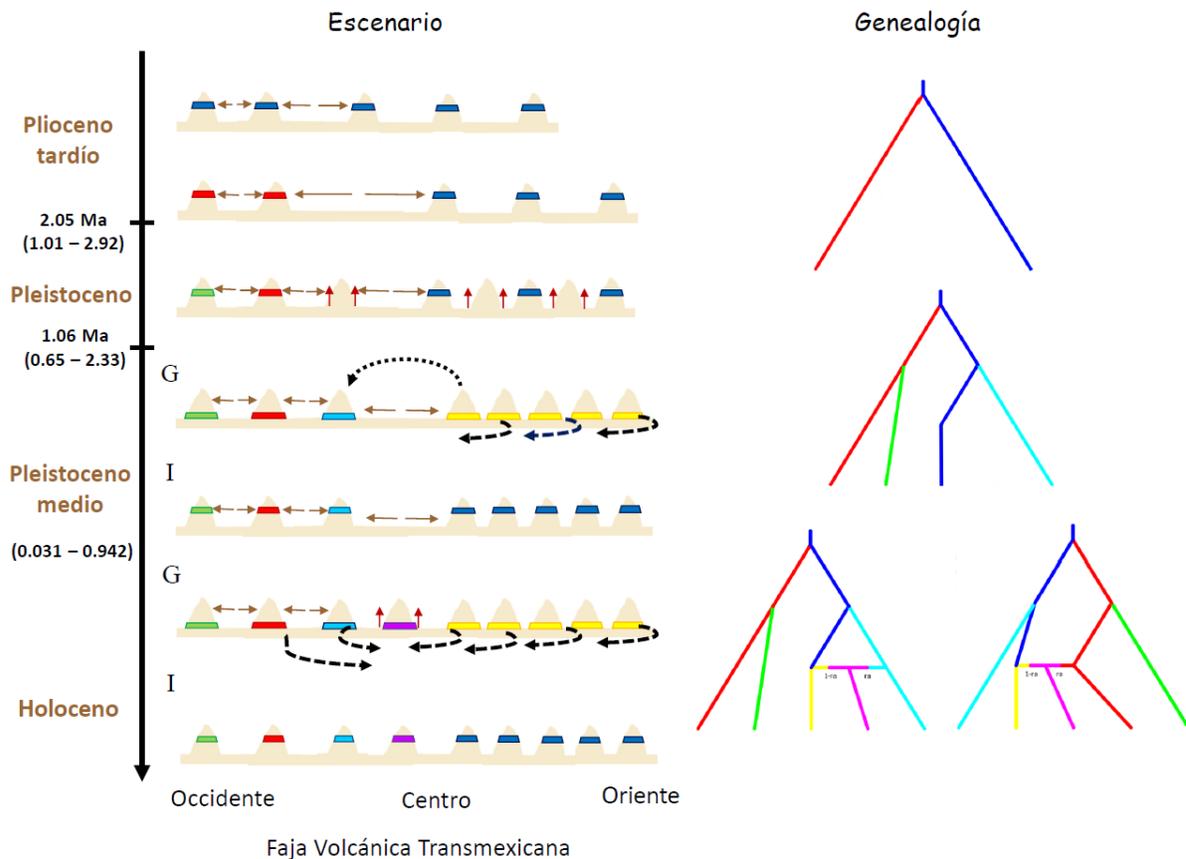


Fig. 27. Resumen de la divergencia y los procesos demográficos históricos del género *Abies* en el centro de México. *A. flinckii* (en rojo) y *A. religiosa* (en azul marino) divergieron hace aproximadamente 2.05 Ma, posiblemente por la fragmentación (e.g., por la formación de valles tectónicos extensos, en flechas horizontales cafés) y aislamiento de las poblaciones en ambientes de *sky-islands*. Hace más o menos 1 Ma, la migración del vulcanismo en dirección noreste-suroeste dio lugar a la formación de los principales estratovolcanes en la FVTM (flechas verticales, rojas), lo que a) disminuyó la distancia geográfica efectiva entre los ambientes de montaña de la región este y, b) permitió el contacto secundario entre linajes del occidente de la FVTM y *A. religiosa*. (poblaciones con ancestría mezclada, en color rosa) Durante los ciclos glaciales (G), las poblaciones descendieron a altitudes bajas, lo que favoreció la colonización de nuevos ambientes (i.e., expansión de área de distribución, denotado con color amarillo) en la región este y centro de la FVTM. Por el contrario, es probable que las poblaciones del occidente (i.e., *A. jaliscana*, en verde; *Abies* sp. Manantlán, en azul; y *A. flinckii*) hayan permanecido aisladas debido a que la distancia geográfica efectiva que las separa es mayor (Mastretta-Yanes, en revisión). Esta condición de aislamiento genético debió haber perdurado tanto en los ciclos glaciales como interglaciales (I).

La intensa actividad tectónica en la región occidental de la FVTM ha dado lugar a la formación de extensos valles (Ferrari *et al.*, 2012) que incrementan significativamente la distancia geográfica efectiva entre las poblaciones afines a ambientes de montaña (Mastretta-Yanes *et al.*, 2015). Por lo tanto, en una dinámica de migración altitudinal de *sky-islands*, la probabilidad de contacto secundario entre poblaciones (o de expansión de área) durante etapas climáticas frías debió ser baja respecto a la región centro-este de la FVTM, lo que pudo garantizar la evolución de los linajes y las poblaciones en aislamiento, con N_e poblacionales pequeños (Fig. 27). La influencia de los valles tectónicos sobre la distribución de la variación genética ha sido indirectamente corroborada en plantas. Por ejemplo, mediante el algoritmo de Monmonier se han inferido barreras al flujo génico, en su mayoría distribuidas en el occidente de la FVTM (e.g., ver Fig. 3; *Nolina parviflora*, Ruiz-Sánchez y Specht, 2013).

Expansión de área de distribución de A. religiosa durante el Pleistoceno medio y tardío
Los tres métodos de inferencia sugieren que *A. religiosa* incrementó su N_e de cuatro (IM) a nueve veces (ABC) durante el Pleistoceno medio (Tabla 11, Apéndice 18). En México, el registro palinológico del oyamel es escaso, lo que ha limitado la inferencia demográfica en relación a otros géneros de coníferas como *Pinus* (Lozano-García *et al.*, 2005). En los sedimentos lacustres de Valle de Santiago, Guanajuato, se ha encontrado granos de polen del género *Abies* que corresponden al final del UMG (Park, 2005). Este registro es particularmente interesante porque ocurre en una zona de la FVTM que, en la actualidad, no cuenta con vegetación de montaña (Rzedowski, 2006), lo que indica que los bosques de oyamel pudieron tener una distribución más amplia en el pasado reciente.

En los últimos 700,000 años, la fluctuación en las condiciones ambientales empezó a ser más drástica (Cohen y Gibbard, 2016). Los periodos glaciares en el centro de México se distinguieron por un decremento de la temperatura y la tasa de precipitación (e.g., UMG), lo que pudo haber favorecido el descenso de los bosques de oyamel a sitios de menor altitud (Caballero *et al.*, 2010, Mastretta-Yanes *et al.*, 2015). En contraste con el occidente, este descenso altitudinal potencialmente facilitó la expansión de área de *A. religiosa* en el centro-oriente de la FVTM debido a que la distancia geográfica efectiva que separa a las principales elevaciones montañosas es menor en esta región (Fig. 27; e.g., *Juniperus monticola*, Mastretta-Yanes, en revisión).

Ya que las montañas y sierras en la FVTM están arregladas espacialmente en forma de archipiélago (Ferrari *et al.*, 2012), se ha propuesto que la expansión de área de la biota de montaña pudo haber seguido la dirección de migración del vulcanismo y comportarse como lo predice un modelo tipo *stepping-stone* (Mastretta-Yanes *et al.*, 2015). El exceso de variantes de frecuencia baja y la estructura genética espacial revelada por el análisis de aislamiento por distancia (Fig. 20b) en *A. religiosa*, corrobora parcialmente el ajuste de la diversidad genética de esta especie a dicho modelo demográfico. Cabe señalar que este escenario podría explicar bien sólo la divergencia de *Abies* sp. Manantlán por colonización a larga distancia (Fig. 27), ya que su ancestro (*A. religiosa*) fue el único que mostró señales genéticas de expansión (Tabla 11).

Cuando una población no se ajusta al modelo panmítico de Wright-Fisher, los métodos para inferir la dinámica demográfica de una especie (i.e., estadísticos de resumen, simulaciones coalescentes) pueden indicar cambios en el N_e de la población, aun cuando ésta haya permanecido estable (Städler *et al.*, 2009; Chikhi *et al.*, 2010). Entonces, la probabilidad de detectar falsos cuellos de botella o eventos de expansión demográfica va a depender de factores como el nivel de diferenciación genética entre los *demes* (y por tanto del número efectivo de migrantes, Nm) y el tipo de muestreo (Chikhi *et al.*, 2010; Mona *et al.*, 2014), de tal forma que una expansión demográfica espuria puede ser resultado de muestrear y agrupar individuos en una población, cuando éstos provienen de diferentes *demes* (Städler *et al.*, 2009). En el caso del grupo genético de ancestría mezclada, esta predicción teórica explica la inferencia de N_e poblacionales grandes y pequeños cuando se consideró a la totalidad de las poblaciones y a los *subsets* poblacionales, respectivamente (Tabla 11). Al aplicar este mismo control para inferir la demografía histórica de *A. religiosa*, los estimados de N_e poblacional resultaron ser consistentes y soportaron bien un proceso de expansión demográfica (Tabla 11).

Contacto genético de los linajes de oyamel en el centro de la FVTM

Las características de historia de vida de las Pinaceae garantizan una tasa de evolución molecular bastante lenta (Prunier *et al.*, 2016). En consecuencia, este grupo de plantas generalmente muestra variación genética compartida, especialmente cuando las especies divergieron recientemente y/o cuando los niveles de flujo génico son altos entre las poblaciones (Bouillé y Bousquet, 2005). En este contexto evolutivo, identificar el efecto de la separación incompleta

de linajes y el flujo génico no es trivial y requiere del análisis de una buena cantidad de loci (Sousa *et al.*, 2012; Hey *et al.*, 2015), lo que obliga a interpretar los resultados de este estudio con cautela.

Los resultados del análisis IM proporcionaron evidencia de flujo génico asimétrico entre *A. flinckii*, *Abies* sp. Manantlán y *A. religiosa* durante el Pleistoceno medio y tardío (Fig. 26, Tabla 12). Estos estimados fueron bajos en relación a lo observado en otras coníferas como *Picea likiangensis*, a nivel intraespecífico ($2Nm= 2.4$; Li *et al.*, 2013); o a nivel interespecífico entre *Pinus massoniana* y *P. hwangshanensis* ($2Nm= 0.871-1.015$; Zhou *et al.*, 2017). Mediante distintos análisis de procedencia, se ha estimado que el polen de especies como *Abies alba* y *A. pinsapo* se dispersa (de manera efectiva) en promedio poco más de 100 m (Sánchez-Robles *et al.*, 2014; Leonarduzzi *et al.*, 2016), muy por debajo del calculado para otras Pinaceae como *Pinus sylvestris* (Poska y Pidek, 2010). Ya que el polen es el principal vector de dispersión en las coníferas, es posible que los niveles bajos de flujo génico inferidos en el presente estudio sean resultado de la baja capacidad de dispersión efectiva inherente al género. Sin embargo, cabe señalar que para ajustar el proceso de divergencia del oyamel al modelo IM, se descartó la información genética de las poblaciones con señales de ancestría mezclada, por lo que es probable que los estimados de flujo génico reflejen sólo el número de copias genéticas que de manera efectiva pasan de un linaje a otro, a través de las poblaciones del centro de la FVTM (Fig. 27).

La simulación coalescente de la mezcla genética entre *A. religiosa*, *A. flinckii* y *Abies* sp. Manantlán en el centro de la FVTM generó estadísticos de resumen similares a los calculados con los datos genéticos reales (Apéndice 17). Por lo tanto, si la mezcla genética fuera un proceso poco plausible, esto se reflejaría en un valor de probabilidad bajo para todos los escenarios, lo cual no fue el caso (Apéndice 16). Si bien los análisis ABC sustentaron la hipótesis de que las poblaciones del centro de la FVTM constituyen una zona de contacto entre linajes, la estrategia de analizar *subsets* poblacionales reveló que el proceso ocurrió en regiones y entre linajes específicos. Los resultados con los *subsets* W y X indicaron que *A. religiosa* entró en contacto con *A. flinckii* en las poblaciones de los Sauces (Af16) y el Caracol (Af14) (escenario 3a, Fig. 9); mientras que con los *subsets* Y y Z, la interacción entre *A. religiosa* y *Abies* sp. Manantlán en las poblaciones del Nevado de Colima (Ar22) y Tancítaro (Ar55) recibió mayor soporte (escenario 3, Fig. 9). Es interesante señalar que el análisis con el *subset* Y mostró un valor de

probabilidad relativamente alto también para el escenario 3a (mezcla genética entre *A. flinckii* y *A. religiosa*; Apéndice 16), lo que supone que tanto el Nevado de Colima como Tancítaro representan puntos de interacción genética entre *Abies* sp. Manantlán, *A. flinckii* y *A. religiosa*. Esta hipótesis es congruente con la inferencia de flujo génico histórico entre los tres linajes en el análisis IM (Fig. 26, Tabla 12).

La interacción genética entre linajes en el centro de México es consistente con los patrones de variación genética compartida descritos con marcadores mitocondriales y de cloroplasto para los *Abies* mesoamericanos (Jaramillo-Correa *et al.*, 2008). Ya que los genomas de mitocondria y cloroplasto fácilmente introgresan entre coníferas cercanamente emparentadas (Du *et al.*, 2011), el origen híbrido de la población Af14, por ejemplo, podría explicar que su variación genética mitocondrial es compartida con *A. religiosa*, mientras que la del cloroplasto la relaciona más con *A. flinckii* (Jaramillo-Correa *et al.*, 2008).

Filogeografía comparada

La distribución de la variación genética del oyamel es reflejo de procesos histórico-demográficos contrastantes a lo largo de la FVTM. Este patrón ha sido observado en otras especies de afinidad templada como *Lophodermium nitens* (Salas-Lizana *et al.*, 2012) y *Psittacanthus calyculatus* (Pérez-Crespo *et al.*, 2017); pero también en *Nolina parviflora*, una planta arbustiva asociada a bosques de pino-encino y matorral xerófilo (Ruiz-Sánchez y Specht, 2013). En todos los casos, las poblaciones occidentales se caracterizan por una baja diversidad genética, conformada principalmente por haplotipos/alelos derivados y exclusivos; así como por niveles de diferenciación altos entre sus poblaciones y/o respecto a sus conespecíficas en el centro-este de la FVTM. Por otra parte, es interesante señalar que la demografía histórica de *L. nitens* en la región occidente es congruente con la inferida para los grupos genéticos de oyamel en esta misma región, esto es, N_e poblacionales pequeños y constantes en el tiempo (Salas-Lizana *et al.*, 2012). Aunque es deseable contar con un estudio formal cuantitativo, estas semejanzas sugieren que la historia geológica y climática de la FVTM ha impactado de manera similar la variación y estructura genética de varias especies de afinidad templada.

8. CONCLUSIÓN

En este estudio se combinó la información genética nuclear de cuatro SSRs y 11 secuencias nucleotídicas para investigar tanto los niveles de diversidad genética como su distribución entre las poblaciones de oyamel en la FVTM. Ya que los SSRs y las secuencias de ADN evolucionan con distintas tasas de mutación, la información genética de cada marcador permitió elucidar los principales procesos evolutivos que han moldeado los patrones de diversidad y estructura genética

En congruencia con nuestra hipótesis, los bosques de oyamel del centro y este de la FVTM albergan un polimorfismo genético elevado al interior de las poblaciones, comparable con el de otras coníferas que se distribuyen en latitudes más altas. Por el contrario, los *Abies* del occidente se caracterizaron por una baja diversidad genética, compuesta de una notable abundancia de variantes derivadas de frecuencias intermedias y altas. Contrario a lo que se esperaba, la mayor parte de esta variación se encontró entre las poblaciones. Sin embargo, la mayoría de éstas mostraron un déficit de heterocigos, lo que ha sido interpretado como consecuencia de su actual estado de fragmentación.

Se observó una fuerte estructura genética en el occidente de la FVTM; y un patrón de ancestría mezclada en el resto de las poblaciones. En un primer nivel de jerarquía, los oyameles se estructuraron según su clasificación morfológica (*Abies flinckii* y *A. religiosa*), pero con una notable separación de una de las poblaciones de la Sierra de Manantlán. Los niveles de estructura subsecuentes revelaron otros dos grupos genéticos distribuidos en el occidente, uno de ellos descrito recientemente como *Abies jaliscana*.

Tanto los patrones de distribución del polimorfismo como la estructura genético-poblacional del oyamel fueron contrastantes a lo largo de la FVTM. En lo que refiere a la variación genética neutral, la simulación del proceso coalescente indicó que estas diferencias se deben a que desde su divergencia hacia finales del Plioceno, las poblaciones han atravesado por procesos evolutivos y demográficos distintos, consecuencia de la heterogeneidad topográfica de la FVTM y su interacción con las fluctuaciones climáticas del Pleistoceno. De estos análisis se sugiere que las poblaciones de *A. religiosa* han atravesado por múltiples procesos de expansión de área tipo *stepping-stone* durante los periodos climáticos fríos.

Los resultados señalaron que los grupos genéticos en el occidente de la FVTM han permanecido aislados geográficamente con en tamaños poblacionales pequeños y por periodos prolongados, lo que ha facilitado su diferenciación genética. No obstante, los modelos coalescentes señalaron que el contacto secundario y el flujo génico entre *A. religiosa*, *A. flinckii* y *Abies* sp. Manantlán pudo ser un proceso importante en el centro de la FVTM, durante los periodos glaciares.

Mediante distintas pruebas de neutralidad se determinó que dos de los genes analizados posiblemente están sujetos a selección en las poblaciones del occidente de la FVTM. Ambos genes intervienen en la biosíntesis de pared celular y posiblemente estén implicados en respuesta a estrés hídrico, lo que es congruente con las condiciones climáticas cálidas que imperan en esta región de la faja. Sin embargo, estos resultados deben ser tomados como preliminares y ser corroborados mediante escaneos genómicos completos que permitan llevar a cabo, por ejemplo, análisis de asociación.

El presente estudio demuestra que la variación genética en los bosques de oyamel es resultados de procesos evolutivos neutrales y selectivos que han operado de manera diferente a lo largo de la FVTM. En el actual escenario de calentamiento atmosférico, se propone que el manejo y conservación de los oyameles debe favorecer el flujo génico entre poblaciones que pertenecen a la misma unidad genética, con una precaución especial para los *Abies* del occidente de México.

9. BIBLIOGRAFÍA

- Aguirre-Planter, E., Furnier, G. R. y 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.
- Aguirre-Planter, E., Jaramillo-Correa, J. P., Gómez-Acevedo, S., Khasa, D. P., Bousquet, J. y Eguiarte, L. E. (2012). Phylogeny, diversification rates and species boundaries of Mesoamerican firs (*Abies*, Pinaceae) in a genus-wide context. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 62(1), 263-274.
- Aitken, S. N., Yeaman, S., Holliday, J. A., Wang, T. y Curtis-McLane, S. (2008). Adaptation, migration or extirpation: climate change outcomes for tree populations. *Evolutionary Applications*, 1(1), 95-111.
- Alberdi, A., Gilbert, M. T. P., Razgour, O., Aizpurua, O., Aihartza, J. y Garin, I. (2015). Contrasting population-level responses to Pleistocene climatic oscillations in an alpine bat revealed by complete mitochondrial genomes and evolutionary history inference. *Journal of Biogeography*, 42(9), 1689-1700.
- Andrew, R. L., Bernatchez, L., Bonin, A., Buerkle, C. A., Carstens, B. C., Emerson, B. C., ... y Slate, J. (2013). A Road Map for Molecular Ecology. *Molecular Ecology*, 22(10), 2605-2626.
- Austerlitz, F., Jung-Muller, B., Godelle, B. y Gouyon, P. H. (1997). Evolution of coalescence times, genetic diversity and structure during colonization. *Theoretical Population Biology*, 51(2), 148-164.
- Avise, J. C. (2000). *Phylogeography: the history and formation of species*. Harvard University Press, U.S.A., 445 p.
- Avise, J. C. (2009). Phylogeography: retrospect and prospect. *Journal of Biogeography*, 36(1), 3-15.
- Baer, C. F., Miyamoto, M. M. y Denver, D. R. (2007). Mutation rate variation in multicellular eukaryotes: causes and consequences. *Nature Reviews Genetics*, 8(8), 619-631.
- Beaumont, M. A., Zhang, W. y Balding, D. J. (2002). Approximate Bayesian Computation in Population Genetics. *Genetics*, 162(4), 2025-2035.

- Benjamini, Y. y Hochberg, Y. (1995). Controlling the false discovery rate: a practical and powerful approach to multiple testing. *Journal of the Royal Statistical Society, Series B* 57, 289–300.
- Bertorelle, G., Benazzo, A. y Mona, S. (2010). ABC as a flexible framework to estimate demography over space and time: some cons, many pros. *Molecular Ecology*, 19(13), 2609-2625.
- Bialozyt, R., Ziegenhagen, B. y Petit, R. J. (2006). Contrasting effects of long distance seed dispersal on genetic diversity during range expansion. *Journal of evolutionary biology*, 19(1), 12-20.
- Bouillé, M. y Bousquet, J. (2005). Trans-species shared polymorphisms at orthologous nuclear gene loci among distant species in the conifer *Picea* (Pinaceae): implications for the long-term maintenance of genetic diversity in trees. *American Journal of Botany*, 92(1), 63-73.
- Caballero, M., Lozano-García, S., Vázquez-Selem, L. y 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.
- Carstens, B. C. y Knowles, L. L. (2007). Shifting distributions and speciation: species divergence during rapid climate change. *Molecular Ecology*, 16(3), 619-627.
- Chapuis, M. P. y Estoup, A. (2006). Microsatellite null alleles and estimation of population differentiation. *Molecular Biology and Evolution*, 24(3), 621-631.
- Chikhi, L., Sousa, V. C., Luisi, P., Goossens, B. y Beaumont, M. A. (2010). The confounding effects of population structure, genetic diversity and the sampling scheme on the detection and quantification of population size changes. *Genetics*, 186(3), 983-995.
- Chybicki, I. J., Oleksa, A. y Burczyk, J. (2011). Increased inbreeding and strong kinship structure in *Taxus baccata* estimated from both AFLP and SSR data. *Heredity*, 107(6), 589-600.
- Cohen, K.M. y Gibbard, P. L. (2016). Global chronostratigraphical correlation table for the last 2.7 million years, v. 2016^a. University of Cambridge. Disponible en < <http://www.stratigraphy.org/index.php/ics-chart-timescale> >

CONABIO, 2016. Cobertura del suelo de México, 2011, a 250 m. Esquema de clasificación del Sistema de Monitoreo del Cambio en la Cobertura del Suelo de América del Norte (NALCMS), Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, México.

< http://www.conabio.gob.mx/informacion/gis/?vns=gis_root/usv/otras/usv731mgw >

Cornuet, J. M., Santos, F., Beaumont, M. A., Robert, C. P., Marin, J. M., Balding, D. J., ... y Estoup, A. (2008). Inferring population history with DIYABC: a user-friendly approach to approximate Bayesian computation. *Bioinformatics*, 24(23), 2713-2719.

Dobzhansky, T. (1955). A review of some fundamental concepts and problems of population genetics. *Cold Spring Harbor Laboratory Press*, 20: 1-15.

Du, F. K., Peng, X. L., Liu, J. Q., Lascoux, M., Hu, F. S. y Petit, R. J. (2011). Direction and extent of organelle DNA introgression between two spruce species in the Qinghai-Tibetan Plateau. *New Phytologist*, 192(4), 1024-1033.

Earl, D. A. (2012). STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. *Conservation genetics resources*, 4(2), 359-361.

Eckenwalder, J. E. (2009). *Conifers of the world: the complete reference*. Timber Press, Portland (2009), p. 720.

Eckert, C. G., Samis, K. E. y Loughheed, S. C. (2008). Genetic variation across species' geographical ranges: the central-marginal hypothesis and beyond. *Molecular ecology*, 17(5), 1170-1188.

Emerson, B. C. (2002). Evolution on oceanic islands: molecular phylogenetic approaches to understanding pattern and process. *Molecular ecology*, 11(6), 951-966.

Evanno, G., Regnaut, S. y 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. y Petit, R. J. (2009). Genetic consequences of range expansions. *Annual Review of Ecology, Evolution & Systematics*, 40, 481-501.

Excoffier, L. y Lischer, H. E. (2010). Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources*, 10(3), 564-567.

- Farjon, A. y Rushforth, K. D. (1989). A classification of *Abies* Miller (Pinaceae). *Notes from the Royal Botanic Garden, Edinburgh*, 46(1), 59-79.
- Fay, J. C. y Wu, C. I. (2000). Hitchhiking under positive Darwinian selection. *Genetics*, 155(3), 1405-1413.
- Felsenstein, J. (1988). Phylogenies from molecular sequences: inference and reliability. *Annual review of genetics*, 22(1), 521-565.
- Ferrari, L., Orozco-Esquivel, T., Manea, V. y Manea, M. (2012). The dynamic history of the Trans-Mexican Volcanic Belt and the Mexico subduction zone. *Tectonophysics*, 522, 122-149.
- Fu, Y. X. (1997). Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection. *Genetics*, 147(2), 915-925.
- Gómez, N., Escalante, T., Rodríguez, G., Linaje, M. y Morrone, J. J. (2012). Caracterización biogeográfica de la Faja Volcánica Transmexicana y análisis de los patrones de distribución de su mastofauna. *Revista mexicana de biodiversidad*, 83(1), 258-272.
- Gao, Y., Bian, L., Shi, J., Xu, J., Xi, M. y Wang, G. (2013). Expression of a conifer COBRA-like gene ClCOBL1 from Chinese fir (*Cunninghamia lanceolata*) alters the leaf architecture in tobacco. *Plant Physiology and Biochemistry*, 70, 483-491.
- Gavin, D. G., Fitzpatrick, M. C., Gugger, P. F., Heath, K. D., Rodríguez-Sánchez, F., Dobrowski, S. Z., ... y Blois, J. L. (2014). Climate refugia: joint inference from fossil records, species distribution models and phylogeography. *New Phytologist*, 204(1), 37-54.
- Gernandt, D. S. y Pérez-de la Rosa, J. A. (2014). Biodiversidad de Pinophyta (coníferas) en México. *Revista mexicana de biodiversidad*, 85, 126-133.
- Gillespie, R. G. y Roderick, G. K. (2014). Evolution: geology and climate drive diversification. *Nature*, 509(7500), 297-298.
- Goudet J. (2001). FSTAT, a Program to Estimate and Test Gene Diversities and Fixation Indices, version 2.9.3.
- Goudet, J. y Jombart, T. (2015). *hierfstat*. Librería de R, versión 0.04-22
- Graham, A. (1999). The Tertiary history of the northern temperate element in the northern Latin American biota. *American Journal of Botany*, 86(1), 32-38.

- Guo, S. W. y Thompson, E. A. (1992). Performing the exact test of Hardy-Weinberg proportion for multiple alleles. *Biometrics*, 361-372.
- Gutenkunst, R. N., Hernandez, R. D., Williamson, S. H. y Bustamante, C. D. (2009). Inferring the joint demographic history of multiple populations from multidimensional SNP frequency data. *PLoS genetics*, 5(10), e1000695.
- Hall, T. A. (1999). BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT, Pp. 95-98. *In: Nucleic Acids Symposium Series*, Oxford University Press, London, 41(41).
- Hamilton, M. (2011). *Population genetics*. John Wiley y Sons, Ltd., Publication, Malaysia, 407 pp.
- Hampe, A., Rodríguez-Sánchez, F., Dobrowski, S., Hu, F. S. y Gavin, D. G. (2013). Climate refugia: from the Last Glacial Maximum to the twenty-first century. *New Phytologist*, 197(1), 16-18.
- Hampe, A. y Petit, R. J. (2005). Conserving biodiversity under climate change: the rear edge matters. *Ecology letters*, 8(5), 461-467.
- Harrison, S. y Hastings, A. (1996). Genetic and evolutionary consequences of metapopulation structure. *Trends in Ecology & Evolution*, 11(4), 180-183.
- Hedrick, P. W. (2005). A standardized genetic differentiation measure. *Evolution*, 59(8), 1633-1638.
- Hedrick, P. W. (2010). *Genetics of Populations, Fourth Edition*. Jones and Bartlett Publishers, Sudbury Massachusetts, 675 p.
- Hein, J., Schierup, M. H. y Wiuf, C. (2005). *Gene Genealogies, Variation and Evolution a Primer in Coalescent Theory*. Oxford University Press Inc., New York, 276 p.
- Hewitt, G. M. (2004). Genetic consequences of climatic oscillations in the Quaternary. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 359(1442), 183-195.
- Hey, J. (2006). Recent advances in assessing gene flow between diverging populations and species. *Current opinion in genetics y development*, 16(6), 592-596.
- Hey, J. (2009). Isolation with migration models for more than two populations. *Molecular biology and evolution*, 27(4), 905-920.

- Hey, J., Chung, Y. y Sethuraman, A. (2015). On the occurrence of false positives in tests of migration under an isolation-with-migration model. *Molecular Ecology*, 24(20), 5078-5083.
- Hickerson, M. J., Carstens, B. C., Cavender-Bares, J., Crandall, K. A., Graham, C. H., Johnson, J. B., ... y Yoder, A. D. (2010). Phylogeography's past, present, and future: 10 years after. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 54(1), 291-301.
- Hilfiker, K., Holderegger, R., Rotach, P. y Gugerli, F. (2004). Dynamics of genetic variation in *Taxus baccata*: local versus regional perspectives. *Canadian Journal of Botany*, 82(2), 219-227.
- Ho, S. Y. y Shapiro, B. (2011). Skyline-plot methods for estimating demographic history from nucleotide sequences. *Molecular ecology resources*, 11(3), 423-434.
- Holsinger, K. E. y Weir, B. S. (2009). Genetics in geographically structured populations: defining, estimating and interpreting F_{ST} . *Nature Reviews Genetics*, 10(9), 639-650.
- Huang, H. H., Xu, L. L., Tong, Z. K., Lin, E. P., Liu, Q. P., Cheng, L. J. y Zhu, M. Y. (2012). De novo characterization of the Chinese fir (*Cunninghamia lanceolata*) transcriptome and analysis of candidate genes involved in cellulose and lignin biosynthesis. *BMC Genomics*, 13(1), 648.
- Hudson, R. R. y Kaplan, N. L. (1985). Statistical properties of the number of recombination events in the history of a sample of DNA sequences. *Genetics*, 111(1), 147-164.
- Hulce, D., Li, X., Snyder-Leiby, T. y Liu, C. J. (2011). GeneMarker® genotyping software: tools to Increase the statistical power of DNA fragment analysis. *Journal of Biomolecular Techniques: JBT*, 22(Suppl), S35.
- Isráde-Alcántara, I., Miller, W. E., Garduño-Monroy, V. H., Barron, J. y Rodríguez-Pascua, M. A. (2010). Palaeoenvironmental significance of diatom and vertebrate fossils from Late Cenozoic tectonic basins in west-central México: A review. *Quaternary International*, 219(1), 79-94.
- Jaramillo-Correa, J. P., Aguirre-Planter, E., Khasa, D. P., Eguiarte, L. E., Piñero, D., Furnier, G. R. y 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.

- Jaramillo-Correa, J. P., Prunier, J., Vázquez-Lobo, A., Keller, S. R. y Moreno-Letelier, A. (2015) Molecular signatures of adaptation and selection in forest trees. Pp. 265-306. *In: Plomion C. y Adam-Blondon A. F. (Eds) Advances in Botanical Research. Academic Press, 74, 306 p.*
- Jombart, T., Collins, C., Kamvar, Z. N., Lustrik, R., Solymos, P., Ahmed, I. y Jombart, M. T. (2015). *Adegenet: exploratory analysis of genetic and genomic data. Libreria en R, versión 201.*
- Jombart, T., Devillard, S. y Balloux, F. (2010). Discriminant analysis of principal components: a new method for the analysis of genetically structured populations. *BMC Genetics, 11(1)*, 94.
- Jost, L. O. U. (2008). G_{ST} and its relatives do not measure differentiation. *Molecular Ecology, 17(18)*, 4015-4026.
- Kalinowski, S. T. y Taper, M. L. (2006). Maximum likelihood estimation of the frequency of null alleles at microsatellite loci. *Conservation Genetics, 7(6)*, 991-995.
- Keenan, K., McGinnity, P., Cross, T. F., Crozier, W. W. y Prodöhl, P. A. (2013). *diveRsity: An R package for the estimation and exploration of population genetics parameters and their associated errors. Methods in Ecology and Evolution, 4(8)*, 782-788.
- Kimura M. (1955). Solution of a process of random genetic drift with a continuous model. *Proceedings of the National Academy of Sciences, 41*, 144–50.
- Kimura, M. (1968). Evolutionary rate at the molecular level. *Nature, 217(5129)*, 624-626.
- Kimura, M. (1983). *The neutral theory of molecular evolution*. Cambridge University Press, London, 367 p.
- Kimura, M. y Weiss, G. H. (1964). The stepping stone model of population structure and the decrease of genetic correlation with distance. *Genetics, 49(4)*, 561.
- Kingman, J. F. C. (1982). The coalescent. *Stochastic Processes and Their Applications, 13(3)*, 235-248.
- Klopfstein, S., Currat, M. y Excoffier, L. (2005). The fate of mutations surfing on the wave of a range expansion. *Molecular Biology and Evolution, 23(3)*, 482-490.
- Knowles, L. L. (2001). Genealogical portraits of speciation in montane grasshoppers (genus *Melanoplus*) from the sky islands of the Rocky Mountains. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences, 268(1464)*, 319-324.

- Knowles, L. L. (2009). Statistical phylogeography. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 40, 593-612.
- Knowles, L. L. y Maddison, W. P. (2002). Statistical phylogeography. *Molecular Ecology*, 11(12), 2623-2635.
- Knowles, L. y Alvarado-Serrano, D. F. (2010). Exploring the population genetic consequences of the colonization process with spatio-temporally explicit models: insights from coupled ecological, demographic and genetic models in montane grasshoppers. *Molecular Ecology*, 19(17), 3727-3745.
- Kramer, A. T., Ison, J. L., Ashley, M. V. y Howe, H. F. (2008). The Paradox of Forest Fragmentation Genetics. *Conservation Biology*, 22(4), 878-885.
- Lachniet, M. S. y Vazquez-Selem, L. (2005). Last glacial maximum equilibrium line altitudes in the circum-Caribbean (Mexico, Guatemala, Costa Rica, Colombia, and Venezuela). *Quaternary International*, 138, 129-144.
- Lafontaine, G., Ducouso, A., Lefèvre, S., Magnanou, E. y Petit, R. J. (2013). Stronger spatial genetic structure in recolonized areas than in refugia in the European beech. *Molecular Ecology*, 22(17), 4397-4412.
- Lenhardt, N., Herrmann, M. y Götz, A. E. (2013). Palynomorph preservation in volcanoclastic rocks of the Miocene Tepoztlán Formation (Central Mexico) and implications for paleoenvironmental reconstruction. *Palaios*, 28(10), 710-723.
- Leonarduzzi, C., Piotti, A., Spanu, I. y Vendramin, G. G. (2016). Effective gene flow in a historically fragmented area at the southern edge of silver fir (*Abies alba* Mill.) distribution. *Tree Genetics & Genomes*, 12(5), 95.
- Levins, R. (1969). Some demographic and genetic consequences of environmental heterogeneity for biological control. *American Entomologist*, 15(3), 237-240.
- Lewontin, R. C. (1974). *The genetic basis of evolutionary change*. Columbia University Press, New York, 337 p.
- Lewontin, R. C. (1991). Twenty-five years ago in Genetics: electrophoresis in the development of evolutionary genetics: milestone or millstone?. *Genetics*, 128(4), 657.
- Li, L., Abbott, R. J., Liu, B., Sun, Y., Li, L., Zou, J., ... y Liu, J. (2013). Pliocene intraspecific divergence and Plio-Pleistocene range expansions within *Picea likiangensis* (Lijiang

- spruce), a dominant forest tree of the Qinghai-Tibet Plateau. *Molecular ecology*, 22(20), 5237-5255.
- Librado, P. y Rozas, J. (2009). DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics*, 25(11), 1451-1452.
- Lombaert, E., Guillemaud, T., Lundgren, J., Koch, R., Facon, B., Grez, A., ... y Staverlokk, A. (2014). Complementarity of statistical treatments to reconstruct worldwide routes of invasion: the case of the Asian ladybird *Harmonia axyridis*. *Molecular Ecology*, 23(24), 5979-5997.
- Loo, M., Hintsteiner, W., Pötzelsberger, E., Schüller, S. y Hasenauer, H. (2015). Intervarietal and intravarietal genetic structure in Douglas-fir: nuclear SSRs bring novel insights into past population demographic processes, phylogeography, and intervarietal hybridization. *Ecology and evolution*, 5(9), 1802-1817.
- Lopes, J. S. y Boessenkool, S. (2010). The use of approximate Bayesian computation in conservation genetics and its application in a case study on yellow-eyed penguins. *Conservation Genetics*, 11, 421-433.
- Lozano-García, S., Sosa-Nájera, S., Sugiura, Y. 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.
- Martínez-Méndez, N., Aguirre-Planter, E., Eguiarte, L. E. y Jaramillo-Correa, J. P. (2016). Modelado de nicho ecológico de las especies del género *Abies* (Pinaceae) en México: Algunas implicaciones taxonómicas y para la conservación. *Botanical Sciences*, 94(1), 5-24.
- Mastretta-Yanes, A. (en revisión). Patterns of genetic differentiation on tropical mountains: a comparative landscape genomics approach.
- Mastretta-Yanes, A., Moreno-Letelier, A., Piñero, D., Jorgensen, T. H. y Emerson, B. C. (2015). Biodiversity in the Mexican highlands and the interaction of geology, geography and climate within the Trans-Mexican Volcanic Belt. *Journal of Biogeography*, 42(9), 1586-1600.
- Mayol, M., Riba, M., González-Martínez, S. C., Bagnoli, F., Beaulieu, J. L., Berganzo, E., ... y Romšáková, I. (2015). Adapting through glacial cycles: insights from a long-lived tree (*Taxus baccata*). *New Phytologist*, 208(3), 973-986.

- McCormack, J. E., Huang, H. y Knowles, L. (2009). Sky-Islands. Pp. 839-843. *In*: Gillespie, R.G. y Clague, D. A. (Eds), *Encyclopedia of Islands*. University of California Press. U.S.A. 1074 p.
- Méndez-González, I. D., Jardón-Barbolla, L. y Jaramillo-Correa, J. P. (2017). Differential landscape effects on the fine-scale genetic structure of populations of a montane conifer from central Mexico. *Tree Genetics & Genomes*, 13(1), 30.
- Meirmans, P. G. (2015). Seven common mistakes in population genetics and how to avoid them. *Molecular Ecology*, 24(13), 3223-3231.
- Mona, S., Ray, N., Arenas, M. y Excoffier, L. (2014). Genetic consequences of habitat fragmentation during a range expansion. *Heredity*, 112(3), 291-299.
- Moodley, Y., Russo, I. R. M., Dalton, D. L., Kotzé, A., Muya, S., Haubensak, P., ... y Dicks, K. (2017). Extinctions, genetic erosion and conservation options for the black rhinoceros (*Diceros bicornis*). *Scientific Reports*, 7, 41417.
- Moreno-Letelier, A., Mastretta-Yanes, A. y Barraclough, T. G. (2014). Late Miocene lineage divergence and ecological differentiation of rare endemic *Juniperus blancoi*: clues for the diversification of North American conifers. *New Phytologist*, 203(1), 335-347.
- Moreno-Letelier, A. y Piñero, D. (2009). Phylogeographic structure of *Pinus strobiformis* Engelm. across the Chihuahuan Desert filter-barrier. *Journal of Biogeography*, 36(1), 121-131.
- Mosca, E., Gugerli, F., Eckert, A. J. y Neale, D. B. (2016). Signatures of natural selection on *Pinus cembra* and *P. mugo* along elevational gradients in the Alps. *Tree genetics y genomes*, 12(1), 9.
- Mudelsee, M., Bickert, T., Lear, C. H. y Lohmann, G. (2014). Cenozoic climate changes: A review based on time series analysis of marine benthic $\delta^{18}\text{O}$ records. *Reviews of Geophysics*, 52(3), 333-374.
- Música-Gallart, J., 2013. *Patrones de diversidad y detección de grupos genéticos en dos especies de Abies con distribuciones contrastantes en el Eje Volcánico Transmexicano*. Tesis Licenciatura, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, México, 93 p.
- Nei, M. (1972). Genetic distances between populations. *American Naturalist*, 106, 283–292.

- Nei, M. (1973). Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 70, 3321–3323.
- Nei, M. (1987). *Molecular evolutionary genetics*. Columbia University Press, New York, 512 p.
- Nei, M. y Kumar, S. (2000). *Molecular Evolution and Phylogenetics*. Oxford University Press, New York, 332 p.
- Nielsen, R. y Slatkin, M. (2013). *An Introduction to Population Genetics, Theory and applications*. Sinauer Associates, Inc. Publishers, Sunderland, Massachusetts, U.S.A., 287 p.
- Nielsen, R. y Beaumont, M. A. (2009). Statistical inferences in phylogeography. *Molecular Ecology*, 18(6), 1034-1047.
- Nielsen, R. y Wakeley, J. (2001). Distinguishing migration from isolation: a Markov chain Monte Carlo approach. *Genetics*, 158(2), 885-896.
- Nistelberger, H., Byrne, M., Coates, D. y Roberts, J. D. (2014). Strong phylogeographic structure in a millipede indicates Pleistocene vicariance between populations on banded iron formations in semi-arid Australia. *PloS one*, 9(3), e93038.
- Orsini, L., Vanoverbeke, J., Swillen, I., Mergeay, J. y Meester, L. (2013). Drivers of population genetic differentiation in the wild: isolation by dispersal limitation, isolation by adaptation and isolation by colonization. *Molecular ecology*, 22(24), 5983-5999.
- Pannell, J. R. y Charlesworth, B. (2000). Effects of metapopulation processes on measures of genetic diversity. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 355(1404), 1851-1864.
- Paradis, E., Claude, J. y Strimmer, K. (2004). *APE: analyses of Phylogenetics and Evolution in R language*. *Bioinformatics*, 20(2), 289-290.
- Park, J. (2005). Holocene climate change and human environmental impacts in Guanajuato, Mexico. Tesis de Doctorado. University of California, Berkeley, U.S.A., 94 p.
- Peakall, R. y Smouse P.E. (2012) GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research-an update. *Bioinformatics* 28, 2537-2539.
- Pérez-Crespo, M. J., Ornelas, J. F., González-Rodríguez, A., Ruiz-Sanchez, E., Vásquez-Aguilar, A. y Ramírez-Barahona, S. (2017). Phylogeography and population differentiation in the *Psittacanthus calyculatus* (Loranthaceae) mistletoe: a complex

- scenario of climate–volcanism interaction along the Trans-Mexican Volcanic Belt. *Journal of Biogeography*, 44(11), 2501–2514.
- Petit, R. J., Hu, F. S. y Dick, C. W. (2008). Forests of the past: a window to future changes. *Science*, 320(5882), 1450-1452.
- Petit, R. J. y Hampe, A. (2006). Some evolutionary consequences of being a tree. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 37, 187-214.
- Pinho, C. y Hey, J. (2010). Divergence with gene flow: models and data. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 41, 215-230.
- Pomponio, M. F., Torales, S., Gallo, L. A., Pastorino, M. J., Marchelli, P., Cervera, M. T. y Poltri, S. M. (2013). DNA sequence variation of drought-response candidate genes in *Austrocedrus chilensis*. *Electronic Journal of Biotechnology*, 16(2), 3-3.
- Poska, A. y Pidek, I. A. (2010). Pollen dispersal and deposition characteristics of *Abies alba*, *Fagus sylvatica* and *Pinus sylvestris*, Roztocze region (SE Poland). *Vegetation History and Archaeobotany*, 19(2), 91-101.
- Potter, K. M., Campbell, A. R., Josserand, S. A., Nelson, C. D. y Jetton, R. M. (2017). Population isolation results in unexpectedly high differentiation in Carolina hemlock (*Tsuga caroliniana*), an imperiled southern Appalachian endemic conifer. *Tree Genetics and Genomes*, 13(5), 105.
- Potter, K. M., Frampton, J., Josserand, S. A. y Nelson, C. D. (2010). Evolutionary history of two endemic Appalachian conifers revealed using microsatellite markers. *Conservation genetics*, 11(4): 1499-1513.
- Pritchard, J. K., Stephens, M. y Donnelly, P. (2000). Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 155(2), 945-959.
- Prunier, J., Verta, J. P. y MacKay, J. J. (2016). Conifer genomics and adaptation: at the crossroads of genetic diversity and genome function. *New Phytologist*, 209(1), 44-62.
- Putman, A. I. y Carbone, I. (2014). Challenges in analysis and interpretation of microsatellite data for population genetic studies. *Ecology and Evolution*, 4(22), 4399–4428.
- Quiñones-Pérez, C. Z., del Socorro González-Elizondo, M. y Wehenkel, C. (2017). Ruling out genetic erosion in *Picea chihuahuana* Martínez. *New Forests*, 48(2), 201-215.
- R Core Team (2013). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.

< <http://www.R-project.org/> >.

- Ramírez-Barahona, S. y Eguiarte, L. E. (2013). The role of glacial cycles in promoting genetic diversity in the Neotropics: the case of cloud forests during the Last Glacial Maximum. *Ecology and evolution*, 3(3), 725-738.
- Ramírez-Lerma, J. J., (2012). *Caracterización de genes de la subfamilia de factores de transcripción R2R3-MYB en el abeto Abies religiosa*. Tesis Licenciatura, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, México, 104 p.
- Ramos-Onsins, S. E. y Mitchell-Olds, T. (2007). Mlcoalsim: multilocus coalescent simulations. *Evolutionary bioinformatics online*, 3, 41.
- Rasmussen, K. K., Andersen, U. S., Frauenfelder, N. y Kollmann, J. (2008). Microsatellite markers for the endangered fir *Abies guatemalensis* (Pinaceae). *Molecular Ecology Resources*, 8(6), 1307-1309.
- Reeb, C. A. y Avise, J. C. (1990). A genetic discontinuity in a continuously distributed species: mitochondrial DNA in the American oyster, *Crassostrea virginica*. *Genetics*, 124(2), 397-406.
- Reynolds, J. B., B. S. Weir y C. C. Cockerham. (1983). Estimation of the coancestry coefficient: basis for a short-term genetic distance. *Genetics*, 105, 767-779.
- Roschanski, A. M., Fady, B., Ziegenhagen, B. y Liepelt, S. (2013). Annotation and re-sequencing of genes from de novo transcriptome assembly of *Abies alba* (Pinaceae). *Applications in plant sciences*, 1(1), 1200179.
- Rosenberg, N. A. y Nordborg, M. (2002). Genealogical trees, coalescent theory and the analysis of genetic polymorphisms. *Nature Reviews Genetics*, 3(5), 380-390.
- Rousset, F. (2008). Genepop'007: A complete re-implementation of the Genepop software for Windows and Linux. *Molecular Ecology Resources*, 8(1), 103-106.
- Rozas, J., Gullaud, M., Blandin, G. y Aguadé, M. (2001). DNA variation at the rp49 gene region of *Drosophila simulans*: evolutionary inferences from an unusual haplotype structure. *Genetics*, 158(3), 1147-1155.
- Ruiz-Sánchez, E. y Specht, C. D. (2013). Influence of the geological history of the Trans-Mexican Volcanic Belt on the diversification of *Nolina parviflora* (Asparagaceae: Nolinoideae). *Journal of Biogeography*, 40(7), 1336-1347.

- Rzedowski, J. (2006). Vegetación de México. 1ra. Edición digital, Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, México, 504.
- Salas-Lizana, R., Santini, N. S., Miranda-Pérez, A. y Piñero, D. I. (2012). The Pleistocene glacial cycles shaped the historical demography and phylogeography of a pine fungal endophyte. *Mycological progress*, 11(2), 569-581.
- Salzmann, U., Williams, M., Haywood, A. M., Johnson, A. L., Kender, S. y Zalasiewicz, J. (2011). Climate and environment of a Pliocene warm world. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 309(1), 1-8.
- Sánchez-Robles, J. M., García-Castaño, J. L., Balao, F., Terrab, A., Navarro-Sampedro, L., Tremetsberger, K. y Talavera, S. (2014). Effects of tree architecture on pollen dispersal and mating patterns in *Abies pinsapo* Boiss (Pinaceae). *Molecular Ecology*, 23(24), 6165-6178.
- Sánchez-Velásquez, L. R., Pineda-Lopez, M. D. R. y Hernandez-Martinez, A. (1995). Distribución y estructura de la población de *Abies religiosa* (HBK) Schl. Et Cham., en el Cofre de Perote, estado de Veracruz, México. *Acta botánica mexicana*, (16), 45-55.
- Schlötterer, C., (2004). The evolution of molecular markers—just a matter of fashion?. *Nature reviews genetics*, 5(1), 63-69.
- Sękiewicz, K., Dering, M., Sękiewicz, M., Boratyńska, K., Iszkuło, G., Litkowiec, M., ... y Boratyński, A. (2015). Effect of geographic range discontinuity on species differentiation—East-Mediterranean *Abies cilicica*: a case study. *Tree genetics y genomes*, 11(1), 810.
- Selkoe, K. A. y Toonen, R. J. (2006). Microsatellites for ecologists: a practical guide to using and evaluating microsatellite markers. *Ecology Letters*, 9, 615-629.
- Shalisko, V., (2014). *Morfometria y rasgos estructurales de las especies de oyamel en el Occidente de México*. Foro para el Conocimiento y Conservación de los Oyametales del Occidente de México, Guadalajara, 12 y 13-sep-2014.
- Shang, H. Y., Li, Z. H., Dong, M., Adams, R. P., Miehle, G., Opgenoorth, L. y Mao, K. S. (2015). Evolutionary origin and demographic history of an ancient conifer (*Juniperus microsperma*) in the Qinghai-Tibetan Plateau. *Scientific Reports*, 5.
- Slatkin, M. (1993). Isolation by distance in equilibrium and non-equilibrium populations. *Evolution*, 47(1), 264-279.

- Slatkin, M. (1994). Gene flow and population structure. *Ecological genetics*, 3-17.
- Slatkin, M. (1995). A measure of population subdivision based on microsatellite allele frequencies. *Genetics*, 139, 457–462.
- Slatkin, M. y Excoffier, L. (2012). Serial founder effects during range expansion: a spatial analog of genetic drift. *Genetics*, 191(1), 171-181.
- Sousa, V. C., Beaumont, M. A., Fernandes, P., Coelho, M. M. y Chikhi, L. (2012). Population divergence with or without admixture: selecting models using an ABC approach. *Heredity*, 108(5), 521-530.
- Sperry, J. S. e Ikeda, T. (1997). Xylem cavitation in roots and stems of Douglas-fir and white fir. *Tree Physiology*, 17(4), 275-280.
- Städler, T., Haubold, B., Merino, C., Stephan, W. y Pfaffelhuber, P. (2009). The impact of sampling schemes on the site frequency spectrum in nonequilibrium subdivided populations. *Genetics*, 182(1), 205-216.
- Stervander, M., Illera, J. C., Kvist, L., Barbosa, P., Keehnen, N. P., Pruisscher, P., ... y Hansson, B. (2015). Disentangling the complex evolutionary history of the Western Palearctic blue tits (*Cyanistes* spp.)—phylogenomic analyses suggest radiation by multiple colonization events and subsequent isolation. *Molecular ecology*, 24(10), 2477-2494.
- Stewart, J. R., Lister, A. M., Barnes, I. y Dalén, L. (2010). Refugia revisited: individualistic responses of species in space and time. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 277(1682), 661-671.
- Sunnåker, M., Busetto, A. G., Numminen, E., Corander, J., Foll, M. y Dessimoz, C. (2013). Approximate Bayesian Computation. *PLoS computational biology*, 9(1), e1002803.
- Sunnucks, P. (2000). Efficient genetic markers for population biology. *Trends in Ecology and Evolution*, 15(5), 199-203.
- Tajima, F. (1983). Evolutionary relationship of DNA sequences in finite populations. *Genetics*, 105(2), 437-460.
- Tajima, F. (1989). Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics*, 123(3), 585-595.
- Templeton, A. R., Shaw, K., Routman, E. y Davis, S. K. (1990). The genetic consequences of habitat fragmentation. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 13-27.

- Tollefsrud, M. M., Kissling, R., Gugerli, F., Johnsen, Ø., Skrøppa, T., Cheddadi, R., ... y Geburek, T. (2008). Genetic consequences of glacial survival and postglacial colonization in Norway spruce: combined analysis of mitochondrial DNA and fossil pollen. *Molecular Ecology*, 17(18), 4134-4150.
- Tollefsrud, M. M., Sønstebo, J. H., Brochmann, C., Johnsen, Ø., Skrøppa, T. y Vendramin, G. G. (2009). Combined analysis of nuclear and mitochondrial markers provide new insight into the genetic structure of North European *Picea abies*. *Heredity*, 102(6), 549-562.
- Van Oosterhout, C., Hutchinson, W. F., Wills, D. P. y Shipley, P. (2004). MICRO-CHECKER: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Molecular Ecology Resources*, 4(3), 535-538.
- Vázquez-García, J. A., Shalisko, V., Cuevas-Guzmán, R., Muñoz-Castro, M. A. y Manilla-Blandón, M. R. (2014). *Abies jaliscana* (Pinaceae): A new combination in section Grandis and a key to the species of *Abies* in western Mexico. *Phytotaxa*, 183(1), 27-36.
- Vázquez-Lobo, A. (1996). *Filogenia de hongos endófitos del género Pinus L. implementación de técnicas moleculares y resultados preliminares*. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, México, México, 66 p.
- Velázquez, A., Toledo, V. M. y Luna, I. (2000). Mexican Temperate Vegetation. *North American terrestrial Vegetation*, 2, 573-592.
- Watterson, G. A. (1975). On the number of segregating sites in genetical models without recombination. *Theoretical population biology*, 7(2), 256-276.
- Weir, B. S. y Cockerham, C. C. (1984). Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution*, 38(6), 1358-1370.
- Whitlock, M. C. (2011). G'_{ST} and D do not replace F_{ST} . *Molecular Ecology*, 20(6), 1083-1091.
- Wójkiewicz, B., Cavers, S. y Wachowiak, W. (2016). Current approaches and perspectives in population genetics of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.). *Forest Science*, 62(3), 343-354.
- Wright, S. I. (1940). Breeding structure of populations in relation to speciation. *The American Naturalist*, 74(752), 232-248.
- Wright, S.I. y Charlesworth, B. (2004). The HKA test revisited: A maximum likelihood ratio test of the standard neutral model. *Genetics*, 168, 1071-1076.

- Xiang, Q. P., Wei, R., Shao, Y. Z., Yang, Z. Y., Wang, X. Q. y Zhang, X. C. (2015). Phylogenetic relationships, possible ancient hybridization, and biogeographic history of *Abies* (Pinaceae) based on data from nuclear, plastid, and mitochondrial genomes. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 82, 1-14.
- Young, A., Boyle, T. y Brown, T. (1996). The population genetic consequences of habitat fragmentation for plants. *Trends in Ecology & Evolution*, 11(10), 413-418.
- Zachos, J., Pagani, M., Sloan, L., Thomas, E. y Billups, K. (2001). Trends, rhythms, and aberrations in global climate 65 Ma to present. *Science*, 292(5517), 686-693.
- Zeng, K., Fu, Y. X., Shi, S. y Wu, C. I. (2006). Statistical tests for detecting positive selection by utilizing high-frequency variants. *Genetics*, 174(3), 1431-1439.
- Zhai, W., Nielsen, R. y Slatkin, M. (2008). An investigation of the statistical power of neutrality tests based on comparative and population genetic data. *Molecular Biology and Evolution*, 26(2), 273-283.
- Zhou, Y., Duvaux, L., Ren, G., Zhang, L., Savolainen, O. y Liu, J. (2016). Importance of incomplete lineage sorting and introgression in the origin of shared genetic variation between two closely related pines with overlapping distributions. *Heredity*, 118, 211–220.

Apéndice

Apéndice 1. Características genéticas de cuatro SSRs nucleares y secuencias nucleotídicas de los *primers* utilizados en el presente trabajo. Para cada locus, se especifican las concentraciones de reactivos utilizadas en un volumen (20 µl) de amplificación.

Locus	Motivo	Rango alélico	Fluorescencia	Primer (5´- 3´)	Oligos (mM)	MgCl2 (mM)	dNTPs (mM)	Buffer	Taq Pol
Ab07	(GT) ¹³	214-264	FAM	F: ACTGGCATTGTGTCGCATTC R: CCTCGGAGGACAAGATTTGC	0.4 0.4	2	0.4	1x	1U
Ab12	(GT) ⁹ GC(GT) ¹¹	190-264	VIC	F: AGGTTGTGTAAGCCCGTGTAG R: CCCTTTGTTGATAGAGGGAAAC	0.4 0.4	2	0.4	1x	1U
Ab20	(GA) ¹⁸	118-178	FAM	F: GATCCAGGTTTAGCGTATCTGAG R: CAATGAATCTCTGCAACTGACC	0.4 0.4	2.5	0.8	1x	1U
Ab27	(GA) ³³	114-234	PET	F: GCCTTGAGAGCTGAAAATGG R: TGACAAAATGGAGGGAAAATAAGAG	0.4 0.4	2	0.5	1x	1U

Apéndice 2. Condiciones de amplificación implementadas durante la reacción de PCR para los SSRs nucleares utilizados en este estudio.

Locus	Ciclos	Desnaturalización inicial		Desnaturalización		Alineamiento		Extensión		Extensión final	
		Tiempo (min)	Temp (°C)	Tiempo (min)	Temp (°C)	Tiempo (min)	Temp (°C)	Tiempo (min)	Temp (°C)	Tiempo (min)	Temp (°C)
Ab07	35	8	95	1	94	1	57	1	72	10	72
Ab12	35	8	95	1	94	1	57	1	72	10	72
Ab20	33	15	95	0.5	94	1	60	1	72	10	72
Ab27	35	8	95	1	95	1	54	0.5	72	7	72

Apéndice 3. Estimados de diversidad genética por locus y por población para *Abies* del centro de México. *N*, tamaño muestral; *Na*, número de alelos; *Nea*, número efectivo de alelos; *Ra* riqueza alélica; *Ho*, heterocigosis observada; *He*, heterocigosis esperada y *Ap* número de alelos privados. La riqueza alélica representa la rarefacción del número de alelos mínimo total (36 alelos).

Población	Locus	<i>N</i>	<i>Na</i>	<i>Nea</i>	<i>Ra</i>	<i>Ho</i>	<i>He</i>	<i>Ap</i>
Af19	Ab07	20	10	6.72	9.79	0.80	0.85	0
	Ab12	20	5	3.62	4.90	1.00	0.72	0
	Ab20	20	13	8.79	12.67	0.80	0.89	0
	Ab27	20	12	6.35	11.68	0.55	0.84	0
Af18	Ab07	22	17	8.96	15.42	0.73	0.89	0
	Ab12	22	14	6.01	12.63	0.82	0.83	1
	Ab20	22	11	7.93	10.59	0.55	0.87	1
	Ab27	22	13	7.12	12.35	0.59	0.86	0
Af20	Ab07	20	3	1.36	4.89	0.30	0.27	0
	Ab12	20	5	3.69	4.99	0.65	0.73	0
	Ab20	20	3	2.15	2.99	0.40	0.54	0
	Ab27	20	5	2.33	4.70	0.55	0.57	1
Ar21	Ab07	19	6	3.31	5.95	0.42	0.70	0
	Ab12	20	6	4.79	5.95	0.95	0.79	0
	Ab20	20	7	3.54	6.89	0.65	0.72	0
	Ab27	17	5	2.83	4.89	0.24	0.65	0
Ar22	Ab07	18	14	9.13	14.00	0.78	0.89	0
	Ab12	18	12	7.71	12.00	0.67	0.87	0
	Ab20	18	15	8.42	15.00	0.89	0.88	0
	Ab27	18	14	9.13	14.00	0.72	0.89	2
Acol	Ab07	20	13	6.72	12.47	0.70	0.85	0
	Ab12	20	9	6.35	8.78	1.00	0.84	0
	Ab20	20	12	8.42	11.59	0.90	0.88	0
	Ab27	20	12	7.69	11.40	0.55	0.87	0
Af17	Ab07	19	2	1.76	4.00	0.63	0.43	0
	Ab12	19	7	3.84	6.00	0.74	0.74	1
	Ab20	19	6	3.99	6.00	0.58	0.75	0
	Ab27	15	5	3.69	5.00	0.13	0.73	0
Af16	Ab07	19	11	7.15	11.49	0.84	0.86	0
	Ab12	20	8	6.06	7.79	0.80	0.84	0
	Ab20	20	9	6.56	8.88	0.75	0.85	0
	Ab27	8	7	4.92	12.38	0.25	0.80	0
Af14	Ab07	20	17	10.67	16.26	0.85	0.91	0
	Ab12	20	17	11.43	16.18	0.80	0.91	2
	Ab20	20	15	10.39	14.38	0.90	0.90	0
	Ab27	20	13	8.60	12.49	0.60	0.88	0

Apéndice 3 (continuación). Estimados de diversidad genética por locus y por población de *Abies* del centro de México.

Población	Locus	<i>N</i>	<i>N_a</i>	<i>N_{ea}</i>	<i>R_a</i>	<i>H_o</i>	<i>H_e</i>	<i>A_p</i>
Ar55	Ab07	20	15	10.26	14.55	0.75	0.90	0
	Ab12	20	18	11.94	17.08	0.95	0.92	1
	Ab20	20	20	12.50	19.04	0.80	0.92	2
	Ab27	20	13	7.34	12.56	0.65	0.86	0
Ar15	Ab07	19	16	10.46	15.18	0.68	0.90	0
	Ab12	20	14	7.55	13.68	0.95	0.87	0
	Ab20	20	14	8.16	14.09	0.65	0.88	0
	Ab27	15	11	6.52	13.36	0.67	0.85	0
Ar13	Ab07	20	13	7.69	13.64	0.75	0.87	0
	Ab12	20	15	7.27	9.78	0.85	0.86	1
	Ab20	20	17	10.96	16.08	0.85	0.91	0
	Ab27	20	14	8.60	13.19	0.50	0.88	0
Ar12	Ab07	20	12	7.41	12.37	0.60	0.87	0
	Ab12	20	14	7.84	12.37	0.85	0.87	0
	Ab20	20	14	10.13	14.21	0.75	0.90	0
	Ab27	20	16	10.96	15.09	0.55	0.91	0
Ajus	Ab07	20	12	6.78	11.68	0.65	0.85	0
	Ab12	20	11	6.84	11.48	0.90	0.85	0
	Ab20	20	12	9.52	11.69	0.80	0.90	0
	Ab27	20	16	10.96	15.37	0.60	0.91	1
Ar54	Ab07	19	12	7.60	11.58	0.63	0.87	0
	Ab12	19	13	7.85	11.58	0.84	0.87	0
	Ab20	19	13	8.60	12.68	0.74	0.88	0
	Ab27	17	14	10.32	14.38	0.59	0.90	1
AbM	Ab07	19	12	7.52	12.78	0.58	0.87	0
	Ab12	19	12	5.64	11.73	0.89	0.82	1
	Ab20	19	13	5.87	12.63	0.79	0.83	0
	Ab27	19	13	7.08	12.68	0.63	0.86	2
Ar53	Ab07	19	13	10.62	12.89	0.63	0.91	0
	Ab12	19	13	8.30	12.73	0.58	0.88	0
	Ab20	19	13	6.69	12.73	1.00	0.85	1
	Ab27	19	14	9.03	13.73	0.53	0.89	0
Ar49	Ab07	20	14	11.11	13.79	0.95	0.91	1
	Ab12	20	13	5.84	11.68	0.80	0.83	0
	Ab20	20	14	8.00	13.73	0.70	0.88	0
	Ab27	20	14	9.52	13.73	0.80	0.90	0

Apéndice 3 (continuación). Estimados de diversidad genética por locus y por población de *Abies* del centro de México.

Población	Locus	<i>N</i>	<i>N_a</i>	<i>N_e</i>	<i>R_a</i>	<i>H_o</i>	<i>H_e</i>	<i>A_p</i>
Ar45	Ab07	21	12	5.80	11.85	0.76	0.83	0
	Ab12	21	12	5.73	11.33	0.86	0.83	0
	Ab20	21	14	7.74	12.97	0.86	0.87	0
	Ab27	21	20	14.23	18.33	0.76	0.93	0
Ar48	Ab07	22	18	14.24	17.28	0.64	0.93	1
	Ab12	22	14	7.93	12.37	0.77	0.87	0
	Ab20	22	18	11.00	16.67	0.95	0.91	0
	Ab27	22	23	16.41	21.18	0.64	0.94	2

Apéndice 4. Del lado izquierdo de la vertical punteada: valores de probabilidad para la prueba exacta de H-W de cada locus en cada población de *Abies* del centro de México. La hipótesis alternativa refiere a un rechazo del equilibrio H-W. Del lado derecho de la vertical punteada: valores de probabilidad asociados al rechazo del equilibrio H-W por un exceso de heterocigos en las poblaciones. *: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$. Los valores P fueron ajustados para pruebas de hipótesis múltiples con el método FDR.

Población	Ab07	Ab12	Ab20	Ab27	Ab07	Ab12	Ab20	Ab27
Af19	0.211	0.000**	0.040*	0.002**	1.00	0.16	1.00	1.00
Af18	0.070	0.037*	0.005**	0.002**	1.00	1.00	1.00	1.00
Af20	1.000	0.002**	0.058	0.875	1.00	1.00	1.00	1.00
Ar21	0.005**	0.003**	0.276	0.000**	1.00	1.00	1.00	1.00
Ar22	0.022*	0.005**	0.221	0.005**	1.00	1.00	1.00	1.00
Acol	0.189	0.137	0.164	0.001**	1.00	1.00	1.00	1.00
Af17	0.150	0.017*	0.002**	0.000**	1.00	1.00	1.00	1.00
Af16	0.211	0.000**	0.250	0.000**	1.00	1.00	1.00	1.00
Af14	0.037*	0.011*	0.058	0.024*	1.00	1.00	1.00	1.00
Ar55	0.061	0.024*	0.079	0.030*	1.00	1.00	1.00	1.00
Ar15	0.037*	0.797	0.000**	0.058	1.00	1.00	1.00	1.00
Ar13	0.055	0.119	0.544	0.000**	1.00	1.00	1.00	1.00
Ar12	0.002**	0.211	0.000**	0.000**	1.00	1.00	1.00	1.00
Ajus	0.019*	0.079	0.377	0.000**	1.00	1.00	1.00	1.00
Ar54	0.028*	0.349	0.122	0.000**	1.00	1.00	1.00	1.00
AbM	0.002**	0.554	0.638	0.021*	1.00	1.00	1.00	1.00
Ar53	0.017*	0.000**	0.025*	0.000**	1.00	1.00	1.00	1.00
Ar49	0.189	0.485	0.022*	0.321	1.00	1.00	1.00	1.00
Ar45	0.100	0.514	0.252	0.000**	1.00	1.00	1.00	1.00
Ar48	0.000**	0.000**	0.377	0.000**	1.00	1.00	1.00	1.00

Apéndice 5. Valores de F_{IS} (Nei, 1987) para cada locus y para el total de los loci en 20 poblaciones de oyamel de la FVTM.

Población	F_{IS}				F_{IS} total
	Ab07	Ab12	Ab20	Ab27	
Af19	0.086	-0.360	0.123	0.370	0.042
Af18	0.204	0.042	0.396	0.333	0.246
Af20	-0.107	0.133	0.276	0.061	0.027
Ar21	0.419	-0.176	0.119	0.654	0.192
Ar22	0.155	0.261	0.020	0.216	0.163
Acol	0.202	-0.162	0.004	0.390	0.136
Af17	-0.440	0.031	0.253	0.828	0.182
Af16	0.048	0.068	0.140	0.720	0.231
Af14	0.088	0.149	0.030	0.344	0.152
Ar55	0.194	-0.011	0.156	0.271	0.151
Ar15	0.269	-0.070	0.283	0.245	0.277
Ar13	0.163	0.040	0.090	0.455	0.243
Ar12	0.329	0.051	0.193	0.416	0.248
Ajus	0.262	-0.029	0.131	0.362	0.149
Ar54	0.298	0.062	0.192	0.375	0.270
AbM	0.356	-0.061	0.075	0.290	0.157
Ar53	0.327	0.365	-0.150	0.430	0.249
Ar49	-0.018	0.060	0.225	0.131	0.100
Ar45	0.104	-0.014	0.040	0.204	0.080
Ar48	0.336	0.139	-0.027	0.343	0.217

Apéndice 6. Bajo la diagonal: valores de F_{ST} (Weir y Cockerham, 1988) *multilocus* entre pares de poblaciones de *Abies* del centro de México. Encima de la diagonal: valores de F_{ST} corregidos luego de excluir los alelos nulos. Se indican en negritas los valores significativos ($P > 0.05$), ajustados para pruebas de hipótesis múltiples con el método FDR. Las poblaciones están ordenadas de izquierda a derecha, según su distribución geográfica longitudinal a lo largo de la FVTM.

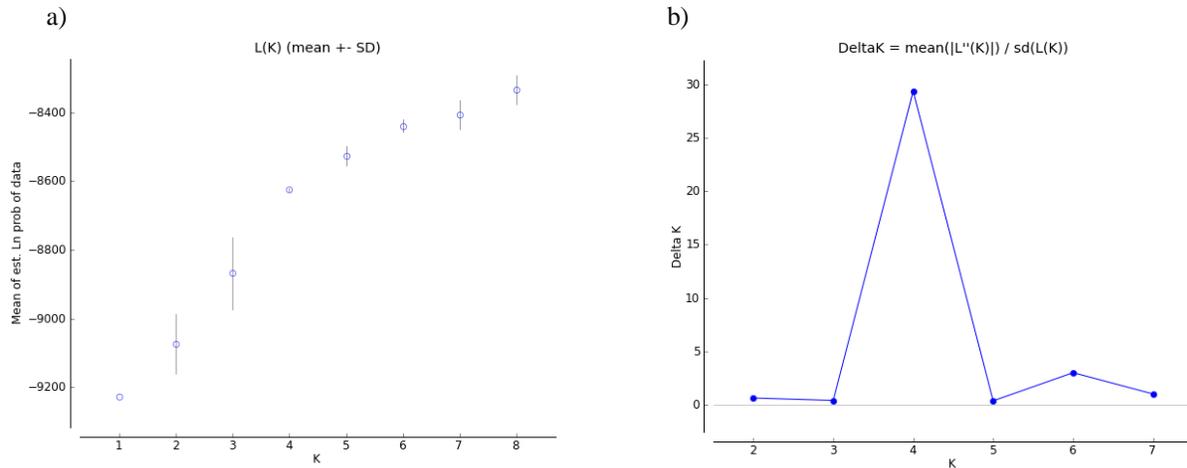
	Af19	Af18	Af20	Ar21	Ar22	Acol	Af17	Af16	Af14	Ar55	Ar15	Ar13	Ar12	Ajus	Ar54	AbM	Ar53	Ar49	Ar45	Ar48
Af19	0.000	0.081	0.220	0.130	0.068	0.072	0.127	0.079	0.069	0.062	0.077	0.076	0.074	0.071	0.063	0.080	0.066	0.085	0.100	0.074
Af18	0.084	0.000	0.233	0.130	0.060	0.075	0.155	0.073	0.042	0.037	0.065	0.053	0.062	0.061	0.057	0.072	0.069	0.070	0.069	0.051
Af20	0.185	0.206	0.000	0.276	0.232	0.248	0.233	0.178	0.216	0.198	0.239	0.230	0.243	0.233	0.226	0.239	0.238	0.226	0.248	0.221
Ar21	0.160	0.150	0.265	0.000	0.097	0.098	0.193	0.097	0.101	0.093	0.106	0.110	0.119	0.119	0.113	0.139	0.061	0.113	0.130	0.102
Ar22	0.073	0.067	0.200	0.116	0.000	0.009	0.119	0.042	0.027	0.025	0.023	0.025	0.020	0.029	0.025	0.044	0.033	0.017	0.039	0.013
Acol	0.077	0.083	0.214	0.126	0.013	0.000	0.157	0.045	0.034	0.032	0.045	0.032	0.038	0.045	0.033	0.060	0.042	0.035	0.057	0.031
Af17	0.140	0.162	0.231	0.223	0.110	0.162	0.000	0.133	0.125	0.139	0.143	0.155	0.165	0.138	0.134	0.165	0.147	0.159	0.177	0.135
Af16	0.096	0.086	0.164	0.139	0.051	0.055	0.154	0.000	0.026	0.043	0.051	0.045	0.042	0.039	0.042	0.064	0.043	0.048	0.049	0.043
Af14	0.072	0.049	0.172	0.126	0.032	0.040	0.134	0.033	0.000	0.025	0.026	0.021	0.025	0.025	0.017	0.044	0.025	0.028	0.033	0.015
Ar55	0.063	0.047	0.163	0.116	0.030	0.034	0.139	0.054	0.032	0.000	0.028	0.028	0.031	0.029	0.022	0.040	0.026	0.023	0.041	0.019
Ar15	0.077	0.077	0.194	0.132	0.021	0.045	0.133	0.051	0.029	0.034	0.000	0.015	0.010	0.022	0.024	0.038	0.032	0.025	0.036	0.014
Ar13	0.097	0.069	0.215	0.142	0.035	0.037	0.164	0.050	0.033	0.044	0.021	0.000	0.003	0.024	0.010	0.025	0.031	0.018	0.025	0.011
Ar12	0.076	0.070	0.194	0.137	0.021	0.037	0.154	0.050	0.029	0.036	0.010	0.010	0.000	0.003	0.016	0.036	0.021	0.015	0.017	0.007
Ajus	0.071	0.069	0.184	0.142	0.031	0.048	0.129	0.047	0.028	0.030	0.022	0.030	0.011	0.000	0.004	0.031	0.021	0.020	0.016	0.013
Ar54	0.066	0.069	0.168	0.137	0.031	0.040	0.131	0.049	0.024	0.033	0.028	0.022	0.019	0.009	0.000	0.021	0.035	0.017	0.018	0.015
AbM	0.079	0.078	0.199	0.160	0.048	0.061	0.165	0.069	0.047	0.045	0.039	0.034	0.041	0.035	0.030	0.000	0.050	0.027	0.017	0.036
Ar53	0.069	0.079	0.185	0.083	0.037	0.046	0.139	0.053	0.031	0.030	0.029	0.041	0.027	0.023	0.040	0.053	0.000	0.035	0.037	0.021
Ar49	0.092	0.083	0.193	0.141	0.020	0.037	0.152	0.049	0.036	0.030	0.024	0.021	0.020	0.023	0.026	0.035	0.038	0.000	0.028	0.018
Ar45	0.100	0.073	0.201	0.145	0.038	0.057	0.174	0.050	0.030	0.047	0.033	0.033	0.020	0.020	0.017	0.023	0.038	0.033	0.000	0.020
Ar48	0.072	0.058	0.183	0.123	0.017	0.036	0.132	0.045	0.016	0.022	0.012	0.022	0.011	0.014	0.020	0.034	0.020	0.019	0.019	0.000

Apéndice 6. Bajo la diagonal: valores de R_{ST} (Slatkin, 1995) *multilocus* entre pares de poblaciones de *Abies* del centro de México. Encima de la diagonal: valores de G_{ST} (Nei, 1973) para las mismas poblaciones. Para R_{ST} se indican en negritas los valores son significativos ($P > 0.05$), ajustados para pruebas de hipótesis múltiples con el método FDR. Para G_{ST} se indican en negritas los valores no significativos los según intervalos de confianza (95%) estimados con 10,000 *bootstrap*. Las poblaciones están ordenadas de izquierda a derecha, de acuerdo a su distribución geográfica longitudinal a lo largo de la FVTM.

	Af19	Af18	Af20	Ar21	Ar22	Acol	Af17	Af16	Af14	Ar55	Ar15	Ar13	Ar12	Ajus	Ar54	AbM	Ar53	Ar49	Ar45	Ar48
Af19	0.000	0.044	0.102	0.087	0.038	0.040	0.076	0.050	0.037	0.033	0.040	0.051	0.040	0.037	0.034	0.041	0.036	0.048	0.053	0.038
Af18	0.438	0.000	0.116	0.082	0.035	0.043	0.089	0.045	0.025	0.024	0.040	0.036	0.036	0.036	0.036	0.040	0.041	0.044	0.038	0.030
Af20	0.190	0.578	0.000	0.152	0.110	0.120	0.130	0.089	0.094	0.089	0.108	0.121	0.108	0.101	0.092	0.110	0.101	0.106	0.113	0.101
Ar21	0.112	0.562	0.208	0.000	0.062	0.068	0.126	0.075	0.068	0.062	0.071	0.077	0.074	0.077	0.074	0.087	0.043	0.076	0.079	0.066
Ar22	0.022	0.263	-0.002	0.049	0.000	0.007	0.058	0.026	0.016	0.016	0.011	0.018	0.011	0.016	0.016	0.025	0.019	0.010	0.019	0.009
Acol	0.135	0.624	0.172	0.066	0.075	0.000	0.089	0.028	0.021	0.018	0.023	0.019	0.019	0.024	0.020	0.032	0.024	0.019	0.029	0.018
Af17	0.175	0.541	0.110	0.096	0.035	0.125	0.000	0.084	0.072	0.075	0.072	0.090	0.085	0.070	0.071	0.090	0.075	0.083	0.097	0.072
Af16	0.294	0.657	0.107	0.302	0.093	0.160	0.233	0.000	0.017	0.028	0.026	0.026	0.026	0.024	0.025	0.036	0.027	0.025	0.026	0.023
Af14	0.185	0.386	0.024	0.210	0.009	0.221	0.133	0.124	0.000	0.016	0.014	0.017	0.015	0.014	0.012	0.024	0.016	0.018	0.015	0.008
Ar55	0.057	0.274	0.081	0.062	-0.008	0.152	0.094	0.223	0.062	0.000	0.017	0.023	0.019	0.015	0.017	0.023	0.015	0.016	0.024	0.011
Ar15	0.168	0.493	0.165	0.035	0.055	0.134	0.011	0.290	0.172	0.070	0.000	0.011	0.005	0.011	0.014	0.020	0.015	0.012	0.017	0.006
Ar13	0.179	0.572	0.230	0.059	0.083	0.110	0.017	0.320	0.238	0.132	0.004	0.000	0.005	0.015	0.011	0.017	0.021	0.011	0.017	0.011
Ar12	0.218	0.590	0.245	0.120	0.108	0.132	0.022	0.314	0.255	0.179	0.038	-0.010	0.000	0.006	0.010	0.021	0.014	0.010	0.010	0.006
Ajus	0.251	0.552	0.096	0.123	0.058	0.153	0.019	0.188	0.107	0.110	0.035	0.085	0.095	0.000	0.004	0.018	0.012	0.012	0.010	0.007
Ar54	0.218	0.582	0.118	0.094	0.058	0.105	-0.012	0.205	0.150	0.122	0.018	0.027	0.032	-0.003	0.000	0.015	0.020	0.013	0.009	0.010
AbM	0.273	0.537	0.197	0.108	0.086	0.203	0.052	0.304	0.170	0.106	0.006	0.075	0.103	0.006	0.033	0.000	0.027	0.018	0.012	0.017
Ar53	0.147	0.545	0.138	0.062	0.060	0.057	-0.006	0.208	0.181	0.123	0.022	-0.011	-0.012	0.052	-0.002	0.077	0.000	0.019	0.019	0.010
Ar49	0.212	0.559	0.017	0.143	0.016	0.148	0.025	0.143	0.053	0.081	0.072	0.127	0.141	0.003	0.021	0.075	0.067	0.000	0.017	0.010
Ar45	0.231	0.517	0.142	0.073	0.063	0.163	0.045	0.256	0.137	0.076	0.007	0.076	0.111	0.001	0.028	-0.018	0.073	0.045	0.000	0.009
Ar48	0.117	0.336	0.044	0.045	0.017	0.098	0.072	0.119	0.042	0.013	0.052	0.109	0.146	0.036	0.065	0.038	0.097	0.030	0.016	0.000

Apéndice 6. Bajo la diagonal: valores de D_{EST} (Jost, 2008) *multilocus* entre pares de poblaciones de *Abies* del centro de México. Encima de la diagonal: valores de G'_{ST} (Hedrick, 2005) para las mismas poblaciones. Se indican en los valores no significativos según intervalos de confianza (95%) estimados con 10,000 *bootstrap*. Las poblaciones están ordenadas de izquierda a derecha, de acuerdo a su distribución geográfica longitudinal a lo largo de la FVTM.

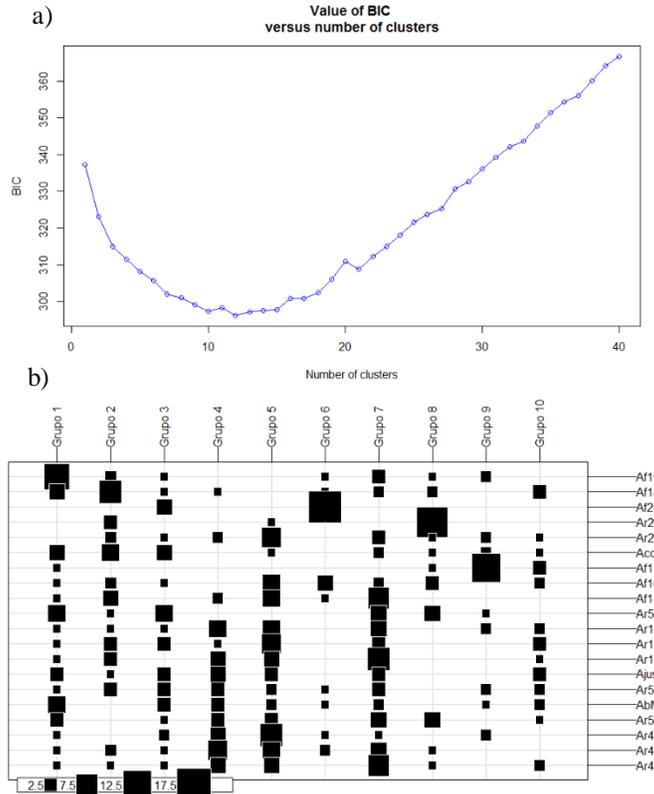
	Af19	Af18	Af20	Ar21	Ar22	Acol	Af17	Af16	Af14	Ar55	Ar15	Ar13	Ar12	Ajus	Ar54	AbM	Ar53	Ar49	Ar45	Ar48
Af19	0.000	0.612	0.656	0.734	0.582	0.547	0.581	0.626	0.614	0.536	0.591	0.715	0.617	0.561	0.510	0.540	0.541	0.683	0.739	0.659
Af18	0.396	0.000	0.810	0.763	0.636	0.687	0.756	0.647	0.496	0.477	0.696	0.589	0.672	0.644	0.629	0.617	0.742	0.725	0.627	0.639
Af20	0.552	0.701	0.000	0.778	0.812	0.828	0.624	0.588	0.724	0.681	0.784	0.849	0.806	0.748	0.667	0.744	0.745	0.754	0.797	0.804
Ar21	0.671	0.722	0.503	0.000	0.618	0.623	0.746	0.648	0.715	0.653	0.697	0.720	0.753	0.767	0.725	0.781	0.430	0.721	0.747	0.727
Ar22	0.537	0.540	0.715	0.567	0.000	0.121	0.524	0.419	0.368	0.353	0.208	0.330	0.223	0.324	0.314	0.418	0.383	0.188	0.361	0.214
Acol	0.394	0.490	0.710	0.536	0.035	0.000	0.740	0.399	0.398	0.338	0.388	0.305	0.346	0.430	0.348	0.471	0.412	0.310	0.470	0.377
Af17	0.532	0.708	0.367	0.628	0.380	0.590	0.000	0.662	0.685	0.710	0.632	0.765	0.774	0.627	0.624	0.737	0.674	0.708	0.825	0.706
Af16	0.456	0.362	0.520	0.527	0.336	0.285	0.606	0.000	0.292	0.474	0.403	0.375	0.418	0.384	0.388	0.487	0.428	0.366	0.372	0.426
Af14	0.546	0.311	0.641	0.590	0.195	0.271	0.466	0.239	0.000	0.414	0.314	0.337	0.345	0.324	0.271	0.444	0.357	0.376	0.311	0.230
Ar55	0.347	0.370	0.618	0.479	0.229	0.260	0.673	0.399	0.248	0.000	0.371	0.450	0.432	0.345	0.362	0.422	0.342	0.315	0.483	0.314
Ar15	0.458	0.553	0.727	0.580	0.097	0.347	0.515	0.313	0.205	0.247	0.000	0.189	0.104	0.222	0.267	0.323	0.286	0.221	0.298	0.136
Ar13	0.506	0.409	0.821	0.671	0.281	0.244	0.637	0.298	0.226	0.417	0.114	0.000	0.093	0.276	0.199	0.263	0.383	0.178	0.277	0.243
Ar12	0.466	0.552	0.749	0.698	0.147	0.333	0.603	0.343	0.295	0.397	0.076	0.027	0.000	0.115	0.200	0.362	0.288	0.196	0.188	0.140
Ajus	0.370	0.476	0.694	0.722	0.310	0.286	0.528	0.312	0.285	0.240	0.204	0.184	0.055	0.000	0.088	0.302	0.235	0.214	0.185	0.176
Ar54	0.469	0.417	0.566	0.629	0.161	0.191	0.420	0.317	0.210	0.317	0.219	0.175	0.176	0.061	0.000	0.251	0.399	0.241	0.157	0.237
AbM	0.384	0.420	0.702	0.692	0.300	0.270	0.694	0.365	0.363	0.351	0.195	0.204	0.317	0.183	0.122	0.000	0.457	0.281	0.182	0.344
Ar53	0.492	0.660	0.625	0.321	0.249	0.326	0.517	0.336	0.157	0.285	0.165	0.315	0.151	0.159	0.257	0.343	0.000	0.357	0.354	0.253
Ar49	0.489	0.546	0.705	0.650	0.100	0.248	0.564	0.286	0.332	0.174	0.129	0.081	0.086	0.188	0.168	0.146	0.281	0.000	0.284	0.212
Ar45	0.663	0.464	0.729	0.660	0.272	0.374	0.739	0.213	0.196	0.428	0.203	0.241	0.121	0.136	0.037	0.114	0.266	0.216	0.000	0.204
Ar48	0.539	0.481	0.722	0.604	0.123	0.343	0.597	0.357	0.197	0.250	0.083	0.161	0.129	0.115	0.202	0.177	0.157	0.092	0.176	0.000



Apéndice 7. a) Gráfico de la probabilidad media $L(K)$ y varianza para cada valor K obtenido en el análisis de STRUCTURE con SSRs nucleares para *Abies* del centro de México. b) Gráfico de la prueba *ad hoc* de ΔK (Evanno *et al.*, 2005) para detectar el valor de K que mejor se ajusta a los genotipos observados en estas misas poblaciones.

Apéndice 8. Proporción de ancestría de cada población para cada uno de los cuatro grupos genéticos obtenidos con STRUCTURE para la variación de SSRs nucleares en *Abies* del centro de México. En negritas se resaltan los valores superiores a 0.5.

Población	1	2	3	4
Af19	0.107	0.704	0.118	0.071
Af18	0.034	0.840	0.069	0.057
Af20	0.919	0.024	0.029	0.027
Ar21	0.043	0.040	0.875	0.042
Ar22	0.113	0.235	0.313	0.339
Aco1	0.066	0.130	0.404	0.399
Af17	0.745	0.041	0.179	0.035
Af16	0.255	0.122	0.368	0.254
Af14	0.084	0.339	0.224	0.353
Ar55	0.123	0.393	0.315	0.169
Ar15	0.157	0.156	0.226	0.460
Ar13	0.056	0.202	0.142	0.600
Ar12	0.078	0.117	0.193	0.613
Ajus	0.143	0.145	0.199	0.513
Ar54	0.229	0.161	0.115	0.495
AbM	0.121	0.285	0.114	0.480
Ar53	0.094	0.110	0.518	0.278
Ar49	0.154	0.146	0.248	0.453
Ar45	0.060	0.139	0.204	0.597
Ar48	0.057	0.220	0.181	0.543



Apéndice 9. a) Inferencia del número de grupos genéticos en *Abies* del centro de México con un análisis DAPC utilizando el Criterio de Información Bayesiano (BIC) y b) proporción de individuos por población (dado por el tamaño de los cuadros negros) que integran cada uno de los 10 grupos genéticos inferidos.

Apéndice 10. Estadísticos de diversidad genética para cada gen y población de *Abies* del centro de México. *n*, número de individuos analizados para ese gen; *S*, número de sitios segregantes; *Ssyn*, número de sustituciones sinónimas; *Snon*, número de sustituciones no sinónimas; *h*, número de haplotipos; *Hd*, diversidad haplotípica; θ_w , diversidad nucleotídica (Watterson, 1975) por sitio; $\theta\pi$, diversidad nucleotídica (Tajima, 1987); *Za*, r^2 promedio entre todos los pares de sitios polimórficos adyacentes (Rozas *et al.*, 2001); *Rm*, número mínimo histórico de eventos de recombinación (Hudson y Kaplan, 1985); Estadísticos de neutralidad: *D* (Tajima, 1989), *Fs* (Fu, 1997), *H* (Fay y Hu, 2000) y *Hnorm* (Zeng *et al.*, 2006).

Linaje	Pobl	Gen	<i>n</i>	<i>S</i>	<i>Ssyn</i>	<i>Snon</i>	<i>h</i>	<i>Hd</i>	$\theta\pi$	θ_w	<i>ZZ</i>	<i>Rm</i>	<i>D</i>	<i>Fs</i>	<i>H</i>	<i>Hnorm</i>
<i>A. jaliscana</i>	Af19	CesA1	7	18	9	9	5	0.802	0.029	0.017	0.706	1	2.913	5.534	0.352	0.105
		COBRA-like	7	28	7	5	5	0.725	0.029	0.019	0.041	0	2.229	7.355	0.176	0.035
		Porina Mip1	7	1	0	0	2	0.264	0.000	0.000	na	0	-0.341	0.186	-1.319	-2.998
		Lhca4	7	3	0	0	2	0.440	0.002	0.001	0.000	0	1.218	3.293	-1.319	-1.993
		α -1, 6 xilosiltransferasa	7	1	1	0	2	0.363	0.000	0.000	na	0	0.324	0.643	0.264	0.600
		Fructosa 1,6 difosfato aldolasa	7	1	1	0	2	0.440	0.001	0.001	na	0	0.842	0.944	-0.659	-1.499
		Porina Mip1a	7	14	1	3	8	0.901	0.009	0.006	-0.063	1	1.874	0.274	-0.352	-0.130
		Heat shock	4	0	0	0	1	0.000	0.000	0.000	na	na	na	na	na	na
		ArMybIX	7	0	0	0	1	0.000	0.000	0.000	na	na	na	na	na	na
		ArMybSTR	7	4	0	1	4	0.703	0.003	0.002	-0.049	0	0.793	0.581	0.352	0.338
		ArMybVI	7	1	0	1	2	0.495	0.001	0.001	na	0	1.212	1.139	0.220	0.500
		Promedio	6.7	6.5	1.7	1.7	3.1	0.467	0.007	0.004	0.127	0.222	1.229	2.217	-0.254	-0.560
		Af18	CesA1	4	17	8	9	4	0.786	0.030	0.020	0.215	1	2.456	4.094	0.214
	COBRA-like		4	25	7	5	4	0.750	0.029	0.021	0.047	0	1.807	5.213	-0.214	-0.044
	Porina Mip1		4	1	0	0	2	0.429	0.001	0.001	na	0	0.334	0.536	-0.857	-1.826
	Lhca4		5	0	0	0	1	0.000	0.000	0.000	na	na	na	na	na	na
	α -1, 6 xilosiltransferasa		5	2	2	0	2	0.200	0.001	0.001	0.000	0	-1.587	0.586	0.356	0.516
	Fructosa 1,6 difosfato aldolasa		5	1	1	0	2	0.533	0.002	0.001	na	0	1.303	1.029	-0.267	-0.583
	Porina Mip1a		5	15	2	1	7	0.911	0.009	0.007	-0.121	7	1.417	0.028	1.867	0.620
	Heat shock		4	0	0	0	1	0.000	0.000	0.000	na	na	na	na	na	na
	ArMybIX		3	0	0	0	1	0.000	0.000	0.000	na	na	na	na	na	na
	ArMybSTR		4	3	0	0	3	0.607	0.002	0.002	-0.318	0	-0.812	0.071	-1.000	-1.092
	ArMybVI		5	0	0	0	1	0.000	0.000	0.000	na	na	na	na	na	na
	Promedio		4.4	5.8	1.8	1.4	2.5	0.383	0.007	0.005	-0.035	1.143	0.702	1.651	0.014	-0.335

Linaje	Pobl	Gen	<i>n</i>	<i>S</i>	<i>S</i> _{syn}	<i>S</i> _{non}	<i>h</i>	<i>Hd</i>	$\theta\pi$	θw	<i>ZZ</i>	<i>Rm</i>	<i>D</i>	<i>F_s</i>	<i>H</i>	<i>Hnorm</i>
<i>A. flinckii</i>	Af20	CesA1	7	16	7	9	2	0.538	0.026	0.015	0.000	0	2.923	12.781	0.000	0.000
		COBRA-like	7	22	6	4	2	0.538	0.025	0.015	0.000	0	2.999	15.354	0.000	0.000
		Porina Mip1	7	2	0	0	2	0.538	0.002	0.001	0.000	0	1.933	2.749	0.000	0.000
		Lhca4	7	1	0	0	2	0.143	0.000	0.000	na	0	-1.155	-0.595	0.132	0.300
		α -1, 6 xilosiltransferasa	7	2	2	0	2	0.527	0.001	0.001	0.000	0	1.838	2.697	-0.044	-0.066
		Fructosa 1,6 difosfato aldolasa	7	0	0	0	1	0.000	0.000	0.000	na	na	na	na	na	na
		Porina Mip1a	7	11	2	1	5	0.769	0.008	0.005	0.025	2	2.620	3.237	0.747	0.336
		Heat shock	7	0	0	0	1	0.000	0.000	0.000	na	na	na	na	na	na
		ArMybIX	4	1	0	0	2	0.571	0.002	0.001	na	0	1.444	0.966	0.000	0.000
		ArMybSTR	7	0	0	0	1	0.000	0.000	0.000	na	na	na	na	na	na
	ArMybVI	7	0	0	0	1	0.000	0.000	0.000	na	na	na	na	na	na	
	Promedio	6.7	5.0	1.5	1.3	1.9	0.329	0.006	0.003	0.005	0.286	1.800	5.313	0.119	0.081	
	Af17	CesA1	6	17	7	10	3	0.621	0.028	0.017	-0.007	0	2.516	8.622	0.152	0.046
		COBRA-like	6	22	6	4	3	0.667	0.026	0.016	-0.002	0	2.824	10.466	-0.485	-0.118
		Porina Mip1	5	4	0	1	5	0.667	0.001	0.002	-0.067	0	-1.245	-2.377	0.622	0.697
		Lhca4	3	0	0	0	1	0.000	0.000	0.000	na	na	na	na	na	na
		α -1, 6 xilosiltransferasa	5	0	0	0	1	0.000	0.000	0.000	na	na	na	na	na	na
		Fructosa 1,6 difosfato aldolasa	7	0	0	0	1	0.000	0.000	0.000	na	na	na	na	na	na
		Porina Mip1a	4	13	4	0	5	0.857	0.009	0.007	0.010	0	1.465	1.356	0.643	0.235
		Heat shock	2	0	0	0	1	0.000	0.000	0.000	na	na	na	na	na	na
ArMybIX		5	2	1	0	2	0.533	0.003	0.002	0.000	0	1.641	2.338	-0.089	-0.129	
ArMybSTR		7	2	0	0	3	0.385	0.001	0.001	0.000	0	-0.532	-0.465	0.396	0.598	
ArMybVI	7	0	0	0	1	0.000	0.000	0.000	na	na	na	na	na	na		
Promedio	5.2	5.5	1.6	1.4	2.4	0.339	0.006	0.004	-0.011	0.000	1.112	3.323	0.206	0.221		
<i>Abies</i> Manantlán	Ar21	CesA1	7	11	4	7	2	0.538	0.018	0.010	0.000	0	2.808	10.124	0.000	0.000
		COBRA-like	6	26	7	5	2	0.167	0.009	0.018	0.000	0	-2.218	7.622	-25.152	-5.288
		Porina Mip1	6	3	0	1	3	0.439	0.002	0.001	0.067	0	0.422	0.923	-0.576	-0.854

Linaje	Pobl	Gen	<i>n</i>	<i>S</i>	<i>Ssyn</i>	<i>Snon</i>	<i>h</i>	<i>Hd</i>	$\theta\pi$	θw	<i>ZZ</i>	<i>Rm</i>	<i>D</i>	<i>Fs</i>	<i>H</i>	<i>Hnorm</i>
Admixia	Ar22	Lhca4	7	6	1	0	4	0.659	0.004	0.002	0.017	1	2.453	2.528	-0.088	-0.072
		α -1, 6 xilosiltransferasa	6	1	1	0	2	0.303	0.000	0.000	na	0	-0.195	0.297	0.242	0.541
		Fructosa 1,6 difosfato aldolasa	5	0	0	0	1	0.000	0.000	0.000	na	na	na	na	na	na
		Heat shock	5	1	1	0	2	0.356	0.001	0.001	na	0	0.015	0.417	-1.067	-2.331
		ArMybIX	5	2	1	0	2	0.200	0.001	0.002	0.000	0	-1.401	0.586	-1.422	-2.063
		ArMybSTR	6	1	0	0	2	0.167	0.000	0.001	na	0	-1.141	-0.476	0.152	0.338
		ArMybVI	7	2	0	2	3	0.615	0.002	0.002	0.000	0	0.700	0.375	0.044	0.066
		Promedio	6.0	5.3	1.5	1.5	2.3	0.344	0.004	0.004	0.014	0.111	0.160	2.488	-3.096	-1.074
		CesA1	7	13	5	8	5	0.703	0.019	0.012	0.132	0	2.074	3.526	0.396	0.155
		COBRA-like	7	25	7	5	5	0.505	0.013	0.017	0.018	0	-0.875	3.555	-19.780	-4.409
		Porina Mip1	6	5	1	1	3	0.439	0.002	0.001	0.009	0	0.422	0.923	0.727	0.686
		Lhca4	6	7	1	1	4	0.455	0.002	0.003	0.051	0	-1.023	0.559	-1.727	-1.219
		α -1, 6 xilosiltransferasa	7	1	1	0	2	0.143	0.000	0.000	na	0	-1.155	-0.595	0.132	0.300
	Fructosa 1,6 difosfato aldolasa	7	0	0	0	1	0.000	0.000	0.000	na	na	na	na	na	na	
	Porina Mip1a	4	18	1	2	7	0.964	0.010	0.009	-0.044	3	0.309	-1.060	3.286	0.910	
	Heat shock	6	2	2	0	3	0.530	0.001	0.002	0.000	0	-0.382	-0.362	0.424	0.629	
	ArMybIX	6	5	1	0	3	0.318	0.002	0.004	0.149	0	-1.831	0.325	-2.879	-2.321	
	ArMybSTR	7	2	0	0	3	0.385	0.001	0.001	0.000	0	-0.959	-0.855	-1.495	-2.258	
	ArMybVI	6	2	1	1	3	0.385	0.002	0.002	0.000	0	-0.011	-0.072	0.484	0.731	
	Promedio	6.3	7.3	1.8	1.6	3.5	0.439	0.005	0.005	0.035	0.300	-0.343	0.594	-2.043	-0.680	
	Ar55	CesA1	7	20	6	14	5	0.758	0.023	0.019	0.062	0	0.809	4.337	1.319	0.358
		COBRA-like	6	24	6	5	4	0.712	0.027	0.017	-0.008	0	2.589	8.017	0.424	0.096
		Porina Mip1	7	2	0	1	3	0.275	0.000	0.001	0.000	0	-1.481	-1.475	-1.582	-2.391
		Lhca4	5	6	0	0	3	0.511	0.002	0.003	-0.065	0	-0.279	1.955	-0.089	-0.070
		α -1, 6 xilosiltransferasa	7	4	4	0	4	0.714	0.002	0.002	-0.165	0	0.361	0.322	0.791	0.761
		Fructosa 1,6 difosfato aldolasa	7	0	0	0	1	0.000	0.000	0.000	na	na	na	na	na	na
Porina Mip1a		6	15	1	2	7	0.879	0.008	0.007	0.013		0.814	0.411	1.273	0.433	

Linaje	Pobl	Gen	<i>n</i>	<i>S</i>	<i>Ssyn</i>	<i>Snon</i>	<i>h</i>	<i>Hd</i>	$\theta\pi$	θw	<i>ZZ</i>	<i>Rm</i>	<i>D</i>	<i>Fs</i>	<i>H</i>	<i>Hnorm</i>
		Heat shock	6	1	1	0	2	0.167	0.000	0.001	na	0	-1.330	-0.476	0.152	0.338
		ArMybIX	6	1	0	0	2	0.167	0.000	0.001	na	0	-1.141	-0.476	0.152	0.338
		ArMybSTR	7	1	0	0	3	0.385	0.001	0.001	0.000	0	-0.959	-0.855	0.352	0.531
		ArMybVI	7	1	0	1	2	0.143	0.000	0.001	na	0	-1.155	-0.595	0.132	0.300
		Promedio	6.5	6.8	1.6	2.1	3.3	0.428	0.006	0.005	-0.023	0.000	-0.177	1.117	0.292	0.070
	Af14	CesA1	3	17	7	10	3	0.733	0.031	0.023	0.044	0	2.073	4.809	0.267	0.076
		COBRA-like	4	22	6	4	2	0.571	0.027	0.018	0.000	0	2.520	11.077	0.000	0.000
		Porina Mip1	4	3	0	0	4	0.786	0.002	0.002	-0.095	0	0.204	-0.844	0.500	0.707
		Lhca4	4	0	0	0	1	0.000	0.000	0.000	na	na	na	na	na	na
		α -1, 6 xilosiltransferasa	4	1	1	0	2	0.250	0.000	0.001	na	0	-1.055	-0.182	-1.500	-3.195
		Fructosa 1,6 difosfato aldolasa	4	0	0	0	1	0.000	0.000	0.000	na	na	na	na	na	na
		Porina Mip1a	4	10	2	0	3	0.679	0.008	0.005	0.036	0	2.338	4.442	0.214	0.097
		Heat shock	3	0	0	0	1	0.000	0.000	0.000	na	na	na	na	na	na
		ArMybIX	2	1	0	0	2	0.667	0.002	0.001	na	0	1.633	0.540	0.000	0.000
		ArMybSTR	2	0	0	0	1	0.000	0.000	0.000	na	na	na	na	na	na
		ArMybVI	2	0	0	0	1	0.000	0.000	0.000	na	na	na	na	na	na
		Promedio	3.3	4.9	1.5	1.3	1.9	0.335	0.006	0.005	-0.004	0.000	1.285	3.307	-0.087	-0.386
	Af16	CesA1	7	17	7	10	3	0.604	0.027	0.016	0.051	0	2.633	9.545	0.132	0.041
		COBRA-like	7	22	6	4	2	0.538	0.025	0.015	0.000	0	2.999	15.354	0.000	0.000
		Porina Mip1	7	4	0	1	5	0.758	0.002	0.002	-0.116	1	0.908	-0.466	0.440	0.513
		Lhca4	6	1	0	0	2	0.143	0.000	0.000	na	0	-1.155	-0.595	0.132	0.300
		α -1, 6 xilosiltransferasa	7	2	2	0	2	0.495	0.001	0.001	0.000	0	1.554	2.538	-0.176	-0.266
		Fructosa 1,6 difosfato aldolasa	7	0	0	0	1	0.000	0.000	0.000	na	na	na	na	na	na
		Porina Mip1a	7	15	2	1	6	0.846	0.009	0.006	0.027	1	1.575	2.394	1.538	0.536
		Heat shock	5	0	0	0	1	0.000	0.000	0.000	na	na	na	na	na	na
		ArMybIX	7	3	1	0	3	0.615	0.002	0.002	0.156	0	0.077	0.783	-0.835	-0.975
		ArMybSTR	7	0	0	0	1	0.000	0.000	0.000	na	na	na	na	na	na
		ArMybVI	7	1	0	0	2	0.143	0.000	0.001	na	0	-1.155	-0.595	na	na

Linaje	Pobl	Gen	<i>n</i>	<i>S</i>	<i>Ssyn</i>	<i>Snon</i>	<i>h</i>	<i>Hd</i>	$\theta\pi$	θw	<i>ZZ</i>	<i>Rm</i>	<i>D</i>	<i>Fs</i>	<i>H</i>	<i>Hnorm</i>
<i>A. religiosa</i>	Ar15	Promedio	6.7	5.9	1.6	1.5	2.5	0.377	0.006	0.004	0.020	0.250	0.929	3.620	0.176	0.021
		CesA1	7	18	6	12	9	0.879	0.022	0.017	0.051	1	1.102	-0.367	1.099	0.327
		COBRA-like	7	24	6	5	5	0.703	0.025	0.016	0.041	0	2.418	6.648	-1.670	-0.386
		Porina Mip1	5	2	0	0	3	0.600	0.001	0.001	0.000	0	-0.184	-0.272	0.444	0.645
		Lhca4	7	6	2	0	4	0.495	0.003	0.002	0.183	0	0.529	1.400	0.220	0.181
		α -1, 6 xilosiltransferasa	7	4	4	0	5	0.593	0.001	0.002	-0.073	0	-1.164	-2.170	0.703	0.677
		Fructosa 1,6 difosfato aldolasa	7	1	1	0	2	0.143	0.000	0.001	na	0	-1.155	-0.595	0.132	0.300
		Porina Mip1a	5	15	2	2	7	0.911	0.009	0.007	0.075	1	1.108	-0.093	1.600	0.531
		Heat shock	7	0	0	0	1	0.000	0.000	0.000	na	na	na	na	na	na
		ArMybIX	6	5	1	0	3	0.318	0.002	0.004	-0.099	0	-1.831	0.325	-2.879	-2.321
		ArMybSTR	7	2	0	0	3	0.275	0.001	0.001	0.000	0	-1.481	-1.475	0.264	0.399
		ArMybVI	7	1	0	1	2	0.303	0.001	0.001	na	0	-0.195	0.816	0.242	0.541
	Promedio	6.5	7.1	2.0	1.8	4.0	0.475	0.006	0.005	0.022	0.200	-0.085	0.422	0.015	0.089	
	Ar13	CesA1	7	24	7	14	10	0.945	0.024	0.023	-0.051	3	0.248	-1.029	2.286	0.528
		COBRA-like	7	26	7	5	8	0.868	0.027	0.017	0.047	1	2.403	2.344	0.044	0.009
		Porina Mip1	6	2	0	1	3	0.545	0.001	0.001	0.000	0	-0.248	-0.269	-0.970	-1.438
		Lhca4	6	9	2	0	7	0.924	0.004	0.004	0.109	0	0.708	-0.945	0.394	0.224
		α -1, 6 xilosiltransferasa	7	4	3	1	4	0.396	0.001	0.002	-0.166	0	-1.798	-1.640	0.527	0.508
		Fructosa 1,6 difosfato aldolasa	7	0	0	0	1	0.000	0.000	0.000	na	na	na	na	na	na
		Porina Mip1a	6	14	2	2	8	0.924	0.009	0.006	0.034	5	1.729	-0.355	2.374	0.707
		Heat shock	6	0	0	0	1	0.000	0.000	0.000	na	na	na	na	na	na
		ArMybIX	6	1	0	0	2	0.409	0.001	0.001	na	0	0.541	0.735	0.273	0.609
		ArMybSTR	7	4	0	0	5	0.505	0.001	0.002	0.000	0	-1.798	-3.143	0.527	0.508
		ArMybVI	7	2	0	1	3	0.275	0.001	0.002	0.000	0	-1.481	-1.475	0.132	0.300
Promedio		6.5	7.8	1.9	2.2	4.7	0.526	0.006	0.005	-0.003	1.000	0.034	-0.642	0.621	0.217	
Ar12	CesA1	7	19	8	12	11	0.967	0.023	0.018	0.007	1	1.128	-2.286	1.363	0.387	
	COBRA-like	7	25	7	5	4	0.648	0.025	0.017	0.104	0	1.962	8.698	-5.451	-1.215	
	Porina Mip1	6	1	0	0	2	0.167	0.000	0.000	na	0	-1.141	-0.476	0.152	0.338	

Linaje	Pobl	Gen	<i>n</i>	<i>S</i>	<i>Ssyn</i>	<i>Snon</i>	<i>h</i>	<i>Hd</i>	$\theta\pi$	θw	<i>ZZ</i>	<i>Rm</i>	<i>D</i>	<i>Fs</i>	<i>H</i>	<i>Hnorm</i>
		Lhca4	7	9	2	0	6	0.802	0.004	0.003	0.041	0	0.320	0.153	0.923	0.535
		α -1, 6 xilosiltransferasa	7	5	5	0	5	0.593	0.001	0.002	-0.099	0	-1.623	-2.100	0.747	0.615
		Fructosa 1,6 difosfato aldolasa	7	0	0	0	1	0.000	0.000	0.000	na	na	na	na	na	na
		Porina Mip1a	7	18	2	2	11	0.967	0.010	0.008	0.064	5	1.174	-2.437	2.374	0.707
		Heat shock	7	0	0	0	1	0.000	0.000	0.000	na	na	na	na	na	na
		ArMybIX	6	5	1	0	3	0.591	0.003	0.004	0.143	0	-1.123	0.979	-2.788	-2.247
		ArMybSTR	7	1	0	0	2	0.143	0.000	0.001	na	0	-1.155	-0.595	0.132	0.300
		ArMybVI	7	1	0	1	2	0.264	0.001	0.001	na	0	-0.341	0.186	0.220	0.500
		Promedio	6.8	7.6	2.3	1.8	4.4	0.467	0.006	0.005	0.043	0.667	-0.089	0.236	-0.259	-0.009
	Ajus	CesA1	7	23	9	14	8	0.912	0.024	0.022	0.011	0	0.506	0.922	1.890	0.454
		COBRA-like	7	26	7	5	6	0.791	0.027	0.017	0.121	0	2.391	5.174	0.000	0.000
		Porina Mip1	7	3	0	1	3	0.275	0.001	0.001	0.166	0	-1.671	-0.761	-1.451	-1.694
		Lhca4	6	7	1	0	5	0.803	0.003	0.003	0.035	0	1.075	0.730	0.636	0.449
		α -1, 6 xilosiltransferasa	7	1	1	0	2	0.143	0.000	0.000	na	0	-1.155	-0.595	0.132	0.300
		Fructosa 1,6 difosfato aldolasa	7	0	0	0	1	0.000	0.000	0.000	na	na	na	na	na	na
		Porina Mip1a	5	15	2	2	9	0.978	0.009	0.007	0.010	6	1.455	-2.562	1.956	0.649
		Heat shock	7	0	0	0	1	0.000	0.000	0.000	na	na	na	na	na	na
		ArMybIX	7	3	0	0	4	0.495	0.001	0.002	0.002	0	-1.278	-1.727	0.484	0.565
		ArMybSTR	7	2	0	0	3	0.385	0.001	0.001	0.000	0	-0.959	-0.855	0.352	0.531
		ArMybVI	7	1	0	1	2	0.264	0.001	0.001	na	0	-0.341	0.186	0.220	0.500
		Promedio	6.7	7.4	1.8	2.1	4.0	0.459	0.006	0.005	0.049	0.667	0.002	0.057	0.469	0.195
	Ar54	CesA1	7	27	11	16	11	0.956	0.029	0.026	0.039	5	0.494	-1.583	3.253	0.677
		COBRA-like	5	24	7	4	5	0.756	0.028	0.018	0.023	0	2.479	4.571	-0.622	-0.137
		Porina Mip1	7	4	0	1	4	0.571	0.002	0.002	0.202	0	-0.301	-0.128	0.132	0.127
		Lhca4	7	4	2	0	5	0.736	0.002	0.001	0.004	0	0.649	-0.621	0.703	0.677
		α -1, 6 xilosiltransferasa	7	1	1	0	2	0.143	0.000	0.000	na	0	-1.155	-0.595	0.132	0.300
		Fructosa 1,6 difosfato aldolasa	7	1	1	0	2	0.264	0.001	0.001	na	0	-0.341	0.186	0.220	0.500

Linaje	Pobl	Gen	<i>n</i>	<i>S</i>	<i>Ssyn</i>	<i>Snon</i>	<i>h</i>	<i>Hd</i>	$\theta\pi$	θw	<i>ZZ</i>	<i>Rm</i>	<i>D</i>	<i>Fs</i>	<i>H</i>	<i>Hnorm</i>
		Porina Mip1a	7	20	1	2	10	0.956	0.011	0.008	0.035	4	1.247	-0.966	3.253	0.884
		Heat shock	5	0	0	0	1	0.000	0.000	0.000	na	na	na	na	na	na
		ArMybIX	7	6	1	0	4	0.396	0.002	0.005	0.000	0	-1.959	-0.756	-2.901	-2.091
		ArMybSTR	5	1	0	0	2	0.356	0.001	0.001	na	0	0.015	0.417	0.267	0.583
		ArMybVI	7	1	0	1	2	0.538	0.001	0.001	na	0	1.508	1.287	0.000	0.000
		Promedio	6.5	8.1	2.2	2.2	4.4	0.516	0.007	0.006	0.051	0.900	0.263	0.181	0.444	0.152
	Ar53	CesA1	7	19	8	11	9	0.934	0.025	0.018	-0.033	2	1.588	0.718	1.275	0.362
		COBRA-like	7	29	7	7	5	0.593	0.023	0.019	-0.037	0	0.729	6.068	-8.044	-1.568
		Porina Mip1	5	2	0	1	3	0.378	0.001	0.001	0.000	0	-0.691	-0.594	-0.889	-1.289
		Lhca4	6	7	1	0	5	0.742	0.003	0.003	0.177	0	0.844	0.612	0.545	0.385
		α -1, 6 xilosiltransferasa	7	4	4	0	5	0.593	0.001	0.002	0.001	0	-1.481	-2.604	0.615	0.592
		Fructosa 1,6 difosfato aldolasa	7	2	2	0	3	0.538	0.002	0.002	0.000	0	-0.201	-0.207	0.396	0.598
		Porina Mip1a	6	23	2	3	8	0.894	0.011	0.010	-0.012	5	0.312	0.216	3.576	0.839
		Heat shock	7	3	2	1	4	0.495	0.001	0.002	-0.001	0	-1.278	-1.727	0.484	0.565
		ArMybIX	5	6	1	0	4	0.644	0.003	0.005	-0.002	0	-1.493	-0.242	-2.400	-1.655
		ArMybSTR	7	3	0	0	4	0.582	0.001	0.002	-0.005	0	-0.886	-1.290	0.571	0.667
		ArMybVI	7	0	0	0	1	0.000	0.000	0.000	na	na	na	na	na	na
		Promedio	6.5	8.9	2.5	2.1	4.6	0.581	0.006	0.006	0.009	0.700	-0.256	0.095	-0.387	-0.050
	Ar49	CesA1	7	22	10	12	7	0.824	0.023	0.021	0.040	2	0.418	1.754	1.670	0.417
		COBRA-like	6	28	7	7	7	0.833	0.027	0.020	0.014	0	1.671	2.590	-1.848	-0.364
		Porina Mip1	7	5	1	1	6	0.769	0.002	0.002	-0.092	0	-0.268	-1.850	0.440	0.362
		Lhca4	5	5	0	0	2	0.533	0.003	0.002	0.000	0	2.040	4.591	-0.622	-0.574
		α -1, 6 xilosiltransferasa	6	2	1	1	2	0.167	0.000	0.001	0.000	0	-1.451	0.432	0.303	0.449
		Fructosa 1,6 difosfato aldolasa	7	1	1	0	2	0.143	0.000	0.001	na	0	-1.155	-0.595	0.132	0.300
		Porina Mip1a	7	21	1	4	12	0.967	0.011	0.009	0.054	8	0.902	-3.443	3.121	0.812
		Heat shock	4	0	0	0	1	0.000	0.000	0.000	na	na	na	na	na	na
		ArMybIX	6	8	2	0	5	0.833	0.006	0.007	0.168	0	-0.385	0.211	-2.485	-1.410
		ArMybSTR	7	1	0	0	2	0.264	0.000	0.001	na	0	-0.341	0.186	0.220	0.500

Linaje	Pobl	Gen	<i>n</i>	<i>S</i>	<i>Ssyn</i>	<i>Snon</i>	<i>h</i>	<i>Hd</i>	$\theta\pi$	θw	<i>ZZ</i>	<i>Rm</i>	<i>D</i>	<i>Fs</i>	<i>H</i>	<i>Hnorm</i>
		ArMybVI	7	2	1	1	3	0.626	0.002	0.002	0.000	0	0.416	0.206	0.527	0.797
		Promedio	6.3	8.6	2.2	2.4	4.5	0.542	0.007	0.006	0.023	1.000	0.185	0.408	0.146	0.129
	Ar45	CesA1	7	22	10	12	6	0.780	0.023	0.021	0.093	0	0.337	2.873	1.714	0.428
		COBRA-like	7	30	7	6	6	0.736	0.026	0.020	0.058	0	1.297	4.987	-3.560	-0.673
		Porina Mip1	6	2	0	1	3	0.439	0.001	0.001	0.000	0	-0.382	-0.362	-0.667	-0.988
		Lhca4	6	7	1	0	5	0.788	0.003	0.003	0.177	0	0.844	0.612	0.545	0.385
		α -1, 6 xilosiltransferasa	7	0	0	0	1	0.000	0.000	0.000	na	na	na	na	na	na
		Fructosa 1,6 difosfato aldolasa	7	1	1	0	2	0.143	0.000	0.001	na	0	-1.155	-0.595	0.132	0.300
		Porina Mip1a	6	21	2	2	8	0.956	0.010	0.010	-0.022	0	-0.067	-0.910	2.933	0.698
		Heat shock	3	2	0	2	2	0.333	0.002	0.002	0.000	0	-1.132	0.952	0.533	0.734
		ArMybIX	7	3	1	0	3	0.604	0.003	0.002	0.157	0	0.826	1.252	0.088	0.103
		ArMybSTR	6	7	1	0	3	0.318	0.002	0.004	-0.047	0	-1.944	1.007	1.061	0.667
		ArMybVI	6	4	2	2	4	0.561	0.002	0.003	0.000	0	-1.385	-1.088	0.697	0.657
		Promedio	6.2	9.0	2.3	2.3	3.9	0.514	0.007	0.006	0.046	0.000	-0.276	0.873	0.348	0.231
	Ar48	CesA1	7	17	7	10	6	0.835	0.022	0.016	0.022	0	1.480	2.768	1.143	0.357
		COBRA-like	7	26	7	6	8	0.868	0.026	0.017	0.002	0	2.197	2.238	-2.681	-0.577
		Porina Mip1	7	5	0	1	5	0.505	0.001	0.002	-0.127	0	-1.236	-1.606	-0.264	-0.254
		Lhca4	7	6	1	0	5	0.670	0.002	0.002	0.161	0	0.195	0.061	-0.747	-0.615
		α -1, 6 xilosiltransferasa	7	0	0	0	1	0.000	0.000	0.000	na	na	na	na	na	na
		Fructosa 1,6 difosfato aldolasa	7	0	0	0	1	0.000	0.000	0.000	na	na	na	na	na	na
		Porina Mip1a	6	19	1	2	9	0.939	0.009	0.008	0.075	0	0.556	-1.198	2.909	0.808
		Heat shock	6	0	0	0	1	0.000	0.000	0.000	na	na	na	na	na	na
		ArMybIX	6	2	1	0	2	0.167	0.001	0.016	0.000	0	-1.451	0.432	-1.515	-2.246
		ArMybSTR	7	2	0	0	3	0.275	0.001	0.001	0.000	0	-1.481	-1.475	-1.582	-2.391
		ArMybVI	7	4	1	3	4	0.692	0.003	0.003	-0.156	0	-0.704	-0.445	0.747	0.719
		Promedio	6.7	7.4	1.6	2.0	4.1	0.450	0.006	0.006	-0.003	0.000	-0.056	0.097	-0.249	-0.525

Apéndice 11. Valores de F_{ST} (Weir y Cockerham, 1988) entre pares de poblaciones de *Abies* del centro de México. Bajo la diagonal, los estimados para el gen *CesA1*. Por encima de la diagonal, los estimados para el gen *ArMybSTR*. En negritas, los valores con una $P < 0.05$. Las poblaciones están ordenadas de izquierda a derecha, según su distribución geográfica longitudinal a lo largo de la FVTM.

	Af19	Af18	Af20	Ar21	Ar22	Af17	Af16	Af14	Ar55	Ar15	Ar13	Ar12	Ajus	Ar54	Ar53	Ar49	Ar45	Ar48
Af19	0.000	0.170	0.454	0.410	0.370	0.397	0.454	0.283	0.335	0.413	0.378	0.432	0.401	0.379	0.375	0.420	0.319	0.380
Af18	-0.086	0.000	0.160	0.102	0.069	0.110	0.160	-0.045	0.042	0.095	0.062	0.122	0.094	0.098	0.079	0.116	0.028	0.066
Af20	-0.039	-0.090	0.000	0.013	0.051	0.115	0.000	0.000	0.051	0.000	0.000	0.000	0.051	0.159	0.062	0.077	0.013	0.000
Ar21	0.205	0.188	0.192	0.000	0.031	0.081	0.013	-0.128	0.031	-0.003	-0.039	0.001	0.031	0.087	0.041	0.045	0.000	-0.003
Ar22	0.191	0.171	0.177	-0.074	0.000	0.088	0.051	-0.091	0.051	0.031	0.022	0.038	0.051	0.078	0.058	0.062	0.020	0.002
Af17	-0.045	-0.097	-0.083	0.189	0.173	0.000	0.115	-0.038	0.088	0.077	0.058	0.092	0.088	0.107	0.085	0.103	0.044	0.077
Af16	-0.038	-0.090	-0.076	0.191	0.175	-0.082	0.000	0.000	0.051	0.000	0.000	0.000	0.051	0.159	0.062	0.077	0.013	0.000
Af14	-0.092	-0.148	-0.131	0.170	0.149	-0.138	-0.134	0.000	-0.091	-0.132	-0.132	-0.132	-0.091	-0.026	-0.083	-0.070	-0.128	-0.132
Ar55	0.161	0.133	0.145	-0.056	-0.057	0.140	0.143	0.106	0.000	0.031	0.002	0.038	0.051	0.078	0.058	0.062	0.020	0.031
Ar15	0.194	0.172	0.182	-0.065	-0.066	0.177	0.179	0.146	-0.052	0.000	0.000	0.000	0.031	0.069	0.024	0.038	0.008	0.000
Ar13	0.137	0.106	0.119	-0.059	-0.061	0.114	0.118	0.077	-0.066	-0.059	0.000	-0.029	-0.020	0.038	-0.031	-0.023	-0.010	0.000
Ar12	0.185	0.160	0.172	-0.057	-0.058	0.166	0.169	0.132	-0.046	-0.058	-0.056	0.000	0.038	0.100	0.004	0.051	0.010	0.000
Ajus	0.150	0.119	0.133	-0.055	-0.055	0.127	0.132	0.093	-0.049	-0.050	-0.054	-0.058	0.000	0.078	-0.015	-0.060	-0.011	0.031
Ar54	0.090	0.052	0.069	-0.036	-0.040	0.062	0.068	0.018	-0.043	-0.035	-0.054	-0.045	-0.062	0.000	0.068	0.103	-0.023	0.069
Ar53	0.207	0.182	0.197	-0.002	-0.003	0.191	0.195	0.158	0.004	-0.006	-0.009	-0.021	-0.009	-0.001	0.000	-0.017	0.001	0.044
Ar49	0.138	0.108	0.120	-0.064	-0.065	0.114	0.119	0.081	-0.058	-0.055	-0.066	-0.057	-0.060	-0.059	-0.008	0.000	-0.011	0.038
Ar45	0.138	0.109	0.120	-0.066	-0.067	0.115	0.119	0.082	-0.058	-0.056	-0.064	-0.055	-0.066	-0.062	-0.005	-0.071	0.000	0.008
Ar48	0.178	0.154	0.164	-0.061	-0.059	0.159	0.163	0.131	-0.049	-0.054	-0.056	-0.064	-0.060	-0.050	-0.015	-0.064	-0.062	0.000

Apéndice 11. Valores de F_{ST} (Weir y Cockerham, 1988) entre pares de poblaciones de *Abies* del centro de México. Bajo la diagonal, los estimados para el gen *Porina Mip 1*. Por encima de la diagonal, los estimados para el gen *ArMybIX*. En negritas, los valores con una $P < 0.05$. Las poblaciones están ordenadas de izquierda a derecha, según su distribución geográfica longitudinal a lo largo de la FVTM.

	Af19	Af18	Af20	Ar21	Ar22	Af17	Af16	Af14	Ar55	Ar15	Ar13	Ar12	Ajus	Ar54	Ar53	Ar49	Ar45	Ar48
Af19	0.000	0.000	0.535	0.035	0.013	0.393	0.154	0.648	0.108	0.013	0.204	0.157	0.038	0.000	0.071	0.121	0.355	0.013
Af18	-0.067	0.000	0.377	-0.059	-0.069	0.250	0.053	0.442	0.008	-0.069	0.089	0.048	-0.044	-0.075	-0.031	0.018	0.238	-0.069
Af20	0.639	0.535	0.000	0.466	0.493	0.464	0.522	0.307	0.150	0.494	0.498	0.488	0.525	0.521	0.454	0.475	0.523	0.501
Ar21	0.737	0.656	0.427	0.000	-0.006	0.127	0.029	0.288	0.068	-0.006	0.101	0.094	0.018	-0.033	0.025	0.034	0.144	-0.099
Ar22	0.517	0.386	0.217	0.247	0.000	0.223	0.088	0.160	0.084	-0.071	0.006	-0.021	-0.017	-0.076	-0.074	-0.010	0.234	0.000
Af17	0.517	0.356	0.150	0.474	0.063	0.000	0.112	0.293	0.091	0.223	0.311	0.243	0.273	0.184	0.193	0.065	-0.087	0.174
Af16	0.508	0.393	-0.043	0.377	0.193	0.111	0.000	-0.070	0.105	0.042	0.154	0.146	0.071	0.069	0.050	0.078	0.138	0.051
Af14	0.297	0.124	0.172	0.479	0.153	-0.030	0.083	0.000	-0.040	0.079	0.336	0.170	0.170	0.153	0.027	0.068	0.289	0.327
Ar55	0.852	0.806	0.659	0.713	0.265	0.557	0.587	0.627	0.000	0.084	0.088	0.088	0.100	0.101	0.063	0.088	0.131	0.088
Ar15	0.808	0.740	0.626	0.667	0.276	0.523	0.557	0.573	0.063	0.000	0.068	0.034	0.001	-0.060	-0.056	0.015	0.241	0.000
Ar13	0.772	0.696	0.573	0.638	0.176	0.421	0.506	0.503	-0.037	-0.004	0.000	-0.040	-0.034	0.011	-0.030	0.039	0.286	0.109
Ar12	0.887	0.852	0.688	0.734	0.307	0.614	0.609	0.670	-0.058	0.051	0.006	0.000	0.012	-0.003	-0.073	-0.029	0.241	0.109
Ajus	0.821	0.765	0.624	0.690	0.243	0.511	0.555	0.584	-0.061	0.049	-0.033	-0.046	0.000	-0.014	-0.031	0.059	0.268	0.021
Ar54	0.621	0.514	0.378	0.538	0.069	0.180	0.337	0.285	0.114	0.176	0.054	0.164	0.072	0.000	-0.056	-0.006	0.201	-0.025
Ar53	0.779	0.698	0.555	0.627	0.138	0.391	0.481	0.478	-0.006	0.127	-0.026	0.070	-0.009	0.015	0.000	-0.045	0.205	0.038
Ar49	0.382	0.262	0.410	0.506	0.106	0.165	0.343	0.173	0.197	0.226	0.129	0.236	0.185	0.079	0.094	0.000	0.080	0.056
Ar45	0.735	0.648	0.542	0.623	0.126	0.351	0.469	0.437	0.027	0.155	-0.013	0.109	0.021	0.007	-0.061	0.038	0.000	0.185
Ar48	0.633	0.529	0.459	0.542	0.077	0.258	0.404	0.346	0.037	0.128	-0.002	0.089	0.034	0.004	-0.042	0.035	-0.060	0.000

Apéndice 11. Valores de F_{ST} (Weir y Cockerham, 1988) entre pares de poblaciones de *Abies* del centro de México. Bajo la diagonal, los estimados para el gen *Lhca4*. Por encima de la diagonal, los estimados para el gen *ArMybVI*. En negritas, los valores con una $P < 0.05$. Las poblaciones están ordenadas de izquierda a derecha, según su distribución geográfica longitudinal a lo largo de la FVTM.

	Af19	Af18	Af20	Ar21	Ar22	Af17	Af16	Af14	Ar55	Ar15	Ar13	Ar12	Ajus	Ar54	Ar53	Ar49	Ar45	Ar48
Af19	0	0.260	0.308	0.400	0.091	0.308	0.256	0.136	0.256	0.233	0.220	0.242	0.242	0.397	0.308	0.224	0.166	0.201
Af18	0.186	0.000	0.000	0.396	0.046	0.000	-0.026	0.000	-0.026	0.070	-0.026	0.043	0.043	0.412	0.000	0.114	0.018	0.096
Af20	0.213	-0.026	0.000	0.446	0.080	0.000	0.000	0.000	0.000	0.109	0.000	0.077	0.077	0.462	0.000	0.154	0.052	0.135
Ar21	0.305	0.478	0.516	0.000	0.087	0.446	0.406	0.275	0.337	0.198	0.306	0.240	0.240	-0.034	0.446	0.156	0.131	0.072
Ar22	-0.017	0.046	0.075	0.260	0.000	0.080	0.079	-0.068	0.077	0.060	0.076	0.075	0.075	0.088	0.080	0.077	0.054	0.072
Af17	0.121	0.000	-0.075	0.412	-0.013	0.000	0.000	0.000	0.000	0.109	0.000	0.077	0.077	0.462	0.000	0.154	0.052	0.135
Af16	0.213	-0.026	0.000	0.516	0.075	-0.075	0.000	-0.132	0.000	0.069	0.000	0.051	0.051	0.404	0.000	0.132	0.041	0.120
Af14	0.158	0.000	-0.045	0.449	0.021	0.000	-0.045	0.000	-0.132	-0.053	-0.132	-0.070	-0.070	0.291	0.000	-0.005	-0.098	-0.021
Ar55	0.459	0.717	0.740	0.158	0.449	0.657	0.740	0.691	0.000	-0.037	-0.050	-0.049	-0.049	0.319	0.000	0.075	-0.010	0.060
Ar15	0.356	0.605	0.633	0.156	0.359	0.546	0.633	0.578	-0.037	0.000	-0.030	-0.082	-0.082	0.153	0.109	0.013	-0.048	-0.011
Ar13	0.057	0.196	0.236	0.149	0.033	0.125	0.236	0.165	0.221	0.146	0.000	-0.036	-0.036	0.279	0.000	0.065	-0.011	0.054
Ar12	0.177	0.400	0.438	0.079	0.175	0.332	0.438	0.369	0.013	-0.021	0.030	0.000	-0.077	0.198	0.077	0.031	-0.037	0.010
Ajus	0.123	0.360	0.401	0.099	0.120	0.285	0.401	0.326	0.082	0.011	-0.010	-0.067	0.000	0.198	0.077	0.031	-0.037	0.010
Ar54	0.268	0.250	0.279	0.471	0.192	0.183	0.279	0.220	0.608	0.546	0.174	0.380	0.341	0.000	0.462	0.115	0.109	0.028
Ar53	0.120	0.367	0.407	0.119	0.123	0.292	0.407	0.334	0.074	0.005	-0.020	-0.052	-0.071	0.337	0.000	0.154	0.052	0.135
Ar49	0.176	0.394	0.435	0.212	0.158	0.310	0.435	0.357	0.199	0.196	0.058	0.064	0.067	0.233	0.032	0.000	-0.035	0.023
Ar45	0.120	0.367	0.407	0.119	0.123	0.292	0.407	0.334	0.085	0.005	-0.015	-0.048	-0.071	0.354	-0.085	0.064	0.000	-0.005
Ar48	-0.046	0.139	0.171	0.247	-0.030	0.077	0.171	0.112	0.363	0.273	0.006	0.115	0.064	0.236	0.050	0.116	0.050	0.000

Apéndice 11. Valores de F_{ST} (Weir y Cockerham, 1988) entre pares de poblaciones de *Abies* del centro de México. Bajo la diagonal, los estimados para el gen *COBRA-like protein*. Por encima de la diagonal, los estimados para el gen *Heat shock protein*. En negritas, los valores con una $P < 0.05$. Las poblaciones están ordenadas de izquierda a derecha, según su distribución geográfica longitudinal a lo largo de la FVTM.

	Af19	Af18	Af20	Ar21	Ar22	Af17	Af16	Af14	Ar55	Ar15	Ar13	Ar12	Ajus	Ar54	Ar53	Ar49	Ar45	Ar48
Af19	0.000	0.000	0.000	0.755	0.085	0.000	0.000	0.000	-0.037	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	-0.013	0.000	0.051	0.000
Af18	-0.106	0.000	0.000	0.755	0.085	0.000	0.000	0.000	-0.037	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	-0.013	0.000	0.051	0.000
Af20	-0.058	-0.098	0.000	0.812	0.157	0.000	0.000	0.000	0.013	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.038	0.000	0.153	0.000
Ar21	0.259	0.278	0.276	0.000	0.528	0.690	0.778	0.727	0.713	0.812	0.796	0.812	0.812	0.778	0.573	0.755	0.576	0.796
Ar22	0.184	0.184	0.196	-0.058	0.000	-0.013	0.113	0.048	0.010	0.157	0.136	0.157	0.157	0.113	0.036	0.085	0.076	0.136
Af17	-0.062	-0.103	-0.081	0.291	0.207	0.000	0.000	0.000	-0.128	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	-0.101	0.000	-0.081	0.000
Af16	-0.058	-0.098	-0.077	0.276	0.196	-0.081	0.000	0.000	-0.016	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.009	0.000	0.091	0.000
Af14	-0.090	-0.132	-0.109	0.289	0.193	-0.113	-0.109	0.000	-0.069	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	-0.044	0.000	0.000	0.000
Ar55	-0.059	-0.099	-0.077	0.275	0.195	-0.082	-0.077	-0.109	0.000	0.013	0.000	0.013	0.013	-0.016	-0.009	-0.037	0.064	0.000
Ar15	-0.048	-0.087	-0.064	0.189	0.113	-0.065	-0.064	-0.095	-0.068	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.038	0.000	0.153	0.000
Ar13	-0.061	-0.100	-0.068	0.262	0.184	-0.072	-0.068	-0.100	-0.075	-0.059	0.000	0.000	0.000	0.000	0.025	0.000	0.124	0.000
Ar12	-0.024	-0.059	-0.024	0.114	0.044	-0.024	-0.024	-0.054	-0.032	-0.058	-0.032	0.000	0.000	0.000	0.038	0.000	0.153	0.000
Ajus	-0.060	-0.099	-0.067	0.263	0.186	-0.071	-0.067	-0.099	-0.077	-0.059	-0.072	-0.035	0.000	0.000	0.038	0.000	0.153	0.000
Ar54	-0.078	-0.117	-0.080	0.275	0.188	-0.085	-0.080	-0.113	-0.081	-0.069	-0.089	-0.044	-0.083	0.000	0.009	0.000	0.091	0.000
Ar53	0.027	-0.004	0.021	0.039	-0.011	0.024	0.021	-0.006	0.016	-0.031	0.020	-0.058	0.020	0.011	0.000	-0.013	0.028	0.025
Ar49	-0.054	-0.092	-0.064	0.173	0.096	-0.066	-0.064	-0.096	-0.069	-0.080	-0.066	-0.069	-0.063	-0.079	-0.042	0.000	0.051	0.000
Ar45	-0.032	-0.068	-0.033	0.129	0.061	-0.033	-0.033	-0.064	-0.038	-0.061	-0.040	-0.069	-0.039	-0.053	-0.049	-0.071	0.000	0.124
Ar48	-0.054	-0.091	-0.054	0.191	0.113	-0.058	-0.054	-0.085	-0.058	-0.067	-0.062	-0.060	-0.060	-0.076	-0.022	-0.077	-0.064	0.000

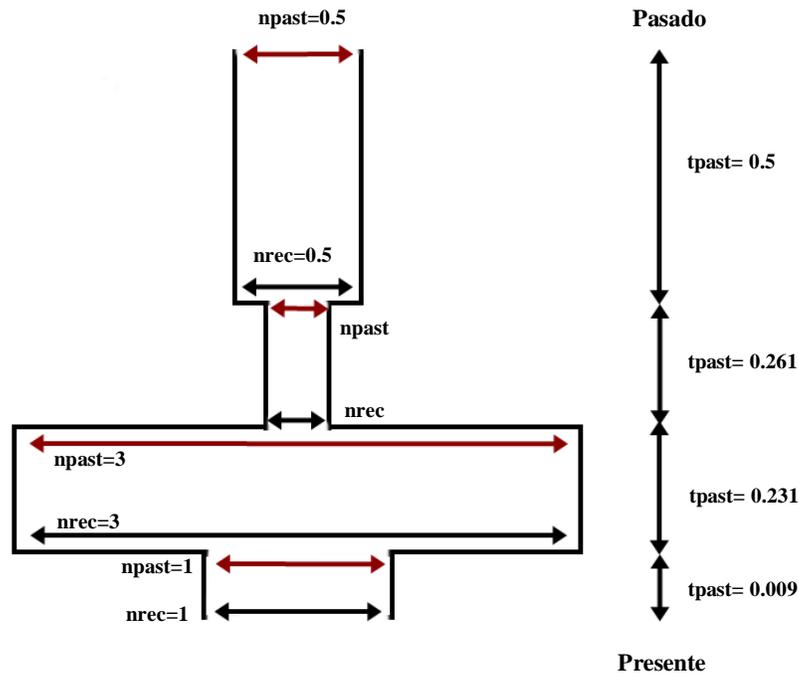
Apéndice 11. Valores de F_{ST} (Weir y Cockerham, 1988) entre pares de poblaciones de *Abies* del centro de México. Bajo la diagonal, los estimados para el gen α -1,6 xilosiltransferasa. Por encima de la diagonal, los estimados para el gen *Fructosa 1,6 difosfato aldolasa*. En negritas, los valores con una $P < 0.05$. Las poblaciones están ordenadas de izquierda a derecha, según su distribución geográfica longitudinal a lo largo de la FVTM.

	Af19	Af18	Af20	Ar21	Ar22	Af17	Af16	Af14	Ar55	Ar15	Ar13	Ar12	Ajus	Ar54	Ar53	Ar49	Ar45	Ar48
Af19	0.000	-0.062	0.692	0.653	0.692	0.692	0.692	0.628	0.692	0.629	0.692	0.692	0.692	0.590	0.523	0.629	0.629	0.692
Af18	0.081	0.000	0.610	0.556	0.610	0.610	0.610	0.521	0.610	0.528	0.610	0.610	0.610	0.482	0.415	0.528	0.528	0.610
Af20	0.416	0.324	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.077	0.185	0.000	0.000	0.000
Ar21	0.125	0.044	0.405	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	-0.026	0.000	0.000	0.000	0.043	0.143	-0.026	-0.026	0.000
Ar22	0.115	0.015	0.441	-0.037	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.077	0.185	0.000	0.000	0.000
Af17	0.827	0.800	0.490	0.859	0.922	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.077	0.185	0.000	0.000	0.000
Af16	0.443	0.330	0.018	0.434	0.472	0.260	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.077	0.185	0.000	0.000	0.000
Af14	0.707	0.632	0.368	0.730	0.807	0.029	0.131	0.000	0.000	-0.045	0.000	0.000	0.000	0.020	0.116	-0.045	-0.045	0.000
Ar55	0.231	0.179	0.365	0.176	0.215	0.595	0.382	0.488	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.077	0.185	0.000	0.000	0.000
Ar15	0.085	0.024	0.346	-0.024	0.003	0.678	0.369	0.551	0.051	0.000	0.000	0.000	0.000	-0.049	0.154	-0.077	0.000	0.000
Ar13	0.066	-0.005	0.368	0.029	0.000	0.746	0.393	0.618	0.116	-0.028	0.000	0.000	0.000	0.077	0.185	0.000	0.000	0.000
Ar12	0.068	0.007	0.338	-0.002	0.002	0.669	0.362	0.542	0.097	-0.049	-0.044	0.000	0.000	0.077	0.185	0.000	0.000	0.000
Ajus	0.115	0.015	0.441	0.069	0.000	0.922	0.472	0.807	0.231	0.044	0.000	0.002	0.000	0.077	0.185	0.000	0.000	0.000
Ar54	0.115	0.015	0.441	0.069	0.000	0.922	0.472	0.807	0.231	0.024	-0.029	-0.020	0.000	0.000	0.154	-0.049	0.051	0.077
Ar53	0.025	0.011	0.356	0.044	0.026	0.710	0.381	0.582	0.154	0.016	0.001	-0.011	-0.023	0.026	0.000	0.154	0.133	0.185
Ar49	-0.008	0.002	0.393	0.045	0.005	0.845	0.421	0.713	0.198	0.031	-0.003	0.013	0.005	0.005	-0.006	0.000	0.000	0.000
Ar45	0.154	0.035	0.473	0.109	0.000	1.000	0.505	0.896	0.249	0.051	0.000	0.026	0.000	0.000	0.031	0.013	0.000	0.000
Ar48	0.154	0.035	0.473	0.109	0.000	1.000	0.505	0.896	0.249	0.051	0.000	0.026	0.000	0.000	0.031	0.013	0.000	0.000

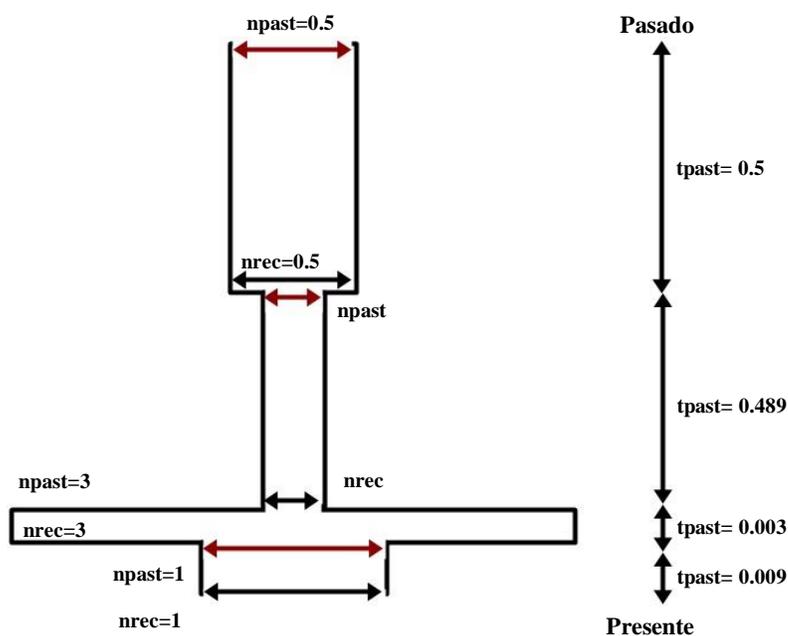
Apéndice 11. Valores de F_{ST} (Weir y Cockerham, 1988) entre pares de poblaciones de *Abies* del centro de México para el gen *Porina Mip* 1a. En negritas, los valores con una $P < 0.05$. Las poblaciones están ordenadas de izquierda a derecha, según su distribución geográfica longitudinal a lo largo de la FVTM.

	Af19	Af18	Af20	Ar22	Af17	Af16	Af14	Ar55	Ar15	Ar13	Ar12	Ajus	Ar54	Ar53	Ar49	Ar45	Ar48
Af19	0.000																
Af18	-0.001	0.000															
Af20	0.041	-0.058	0.000														
Ar22	0.069	0.008	0.052	0.000													
Af17	0.150	-0.035	0.023	0.059	0.000												
Af16	0.125	-0.005	0.037	0.041	-0.037	0.000											
Af14	0.140	-0.049	0.017	0.052	-0.130	-0.045	0.000										
Ar55	0.143	0.053	0.099	-0.013	0.044	0.064	0.040	0.000									
Ar15	0.114	0.009	0.070	-0.031	0.008	0.039	0.002	-0.073	0.000								
Ar13	0.059	-0.018	0.034	-0.032	0.032	0.042	0.025	-0.057	-0.064	0.000							
Ar12	0.071	0.056	0.096	-0.013	0.154	0.118	0.148	0.026	0.024	-0.018	0.000						
Ajus	0.068	0.004	0.057	-0.042	0.062	0.070	0.056	-0.064	-0.072	-0.085	-0.048	0.000					
Ar54	0.113	0.026	0.077	-0.025	0.038	0.035	0.032	-0.044	-0.045	-0.039	-0.001	-0.055	0.000				
Ar53	0.059	-0.007	0.046	-0.068	0.046	0.040	0.038	-0.029	-0.041	-0.058	-0.040	-0.064	-0.041	0.000			
Ar49	0.132	0.035	0.085	-0.032	0.030	0.021	0.023	-0.034	-0.045	-0.022	0.025	-0.031	-0.060	-0.039	0.000		
Ar45	0.111	0.024	0.075	-0.047	0.026	0.033	0.018	-0.076	-0.066	-0.057	0.005	-0.061	-0.060	-0.050	-0.059	0.000	
Ar48	0.128	0.017	0.070	-0.041	0.000	0.001	-0.006	-0.056	-0.068	-0.044	0.018	-0.045	-0.056	-0.049	-0.067	-0.066	0.000

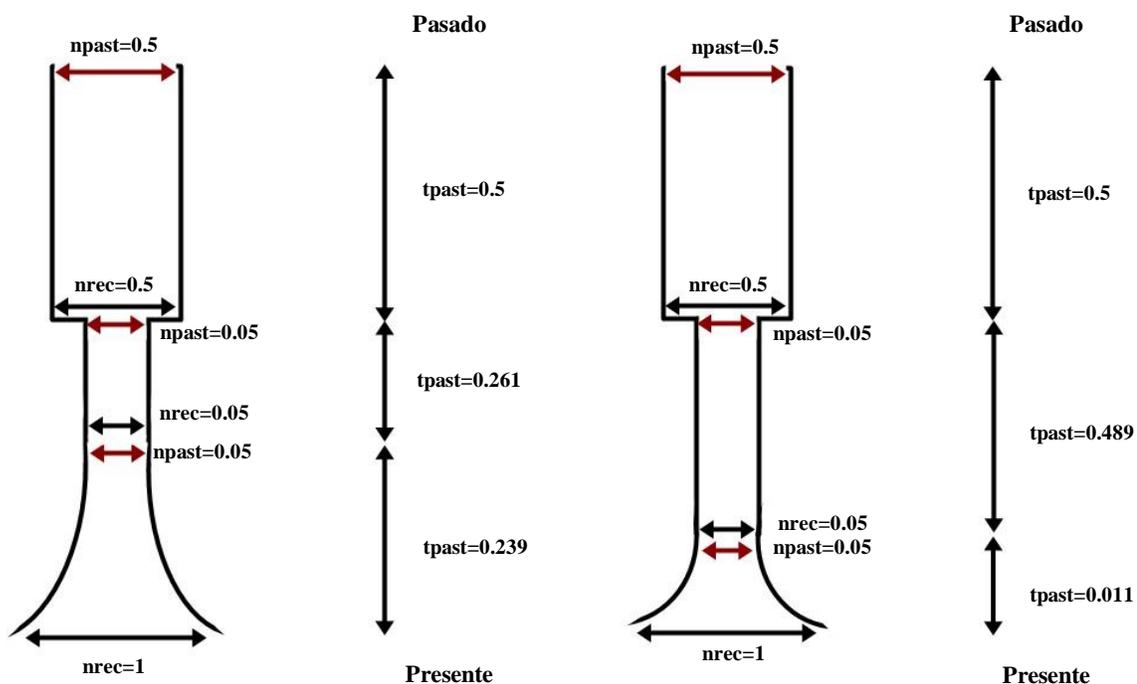
Apéndice 12. Escenarios de divergencia entre poblaciones de *Abies* del centro de México 1-4: “Modelos demográficos inestables (hipótesis de migración altitudinal de las *sky-islands* durante el Pleistoceno)”. Se simularon cuatro eventos consecutivos con los siguientes parámetros: **1)** Un periodo de tamaño poblacional estable de duración $tpast = 0.5$, con un tamaño poblacional inicial ($npast = 0.5$, $npast_{Escenario4} = 1.5$) y final bajos ($nrec=0.5$, $npast_{Escenario4} = 1.5$); **2)** un cuello de botella de duración $tpast= 0.261$ (que comprende el periodo desde la formación de los principales estratovolcanes en la FVTM hasta el inicio del periodo glacial MIS XII) con cuatro intensidades diferentes ($npast_{Escenario1}= 0.025$, $npast_{Escenario2}= 0.05$, $npast_{Escenario3}= 0.15$, $npast_{Escenario4}= 0.5$; $nrec_{Escenario1}= 0.025$, $nrec_{Escenario2}= 0.05$, $nrec_{Escenario3}= 0.15$, $nrec_{Escenario4}= 0.5$); **3)** una expansión poblacional súbita de duración $tpast= 0.231$ (que comprende desde periodo glacial MIS XII hasta el final del UMG), donde el N_e de la población se incrementó seis (o poco más de tres) veces su tamaño inicial ($npast= 3$, $npast_{Escenario4}= 5$; $nrec=3$, $npast_{Escenario4} = 5$); y **4)** un cuello de botella de duración $tpast= 0.009$ (que representa el Holoceno), donde el N_e de la población se redujo a un tercio (o un quinto) en relación al periodo de expansión poblacional. Los tiempos están en $4N$ generaciones.



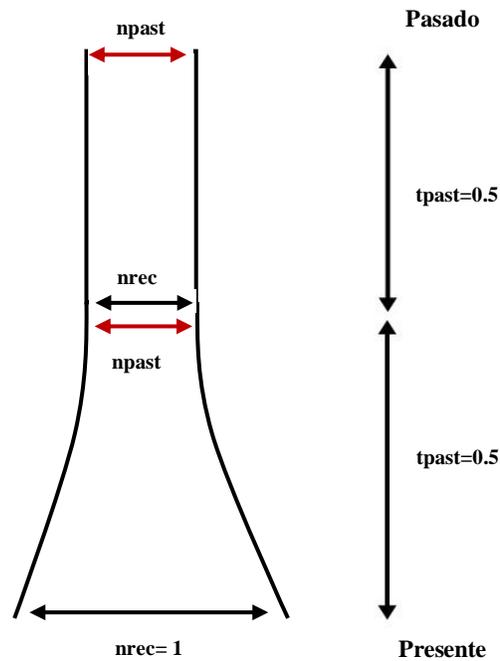
Apéndice 12. Escenarios 5-7: “Modelos demográficos inestables (hipótesis de migración altitudinal de las *sky-islands* durante el Pleistoceno)”. Se simularon cuatro eventos consecutivos con los siguientes parámetros: **1)** Un periodo de tamaño poblacional estable de duración $tpast = 0.5$, donde el tamaño poblacional inicial ($npast = 0.5$) y final son bajos ($nrec=0.5$); **2)** un cuello de botella de duración $tpast= 0.489$ (que comprende el periodo desde la formación de los principales estratovolcanes en la FVTM hasta el inicio del UMG) de tres distintas intensidades ($npast_{Escenario4}= 0.025$, $npast_{Escenario5}= 0.05$, $npast_{Escenario6}= 0.15$; $nrec_{Escenario4}= 0.025$, $nrec_{Escenario5}= 0.05$, $nrec_{Escenario6}= 0.15$); **3)** una expansión poblacional súbita de duración $tpast= 0.003$ (que representa el UMG), donde el tamaño de la población incrementó seis veces su tamaño inicial ($npast= 3$; $nrec=3$); y **4)** un cuello de botella de duración $tpast= 0.009$ (que representa el Holoceno), donde el N_e de la población se redujo a un tercio en relación al periodo de expansión poblacional.



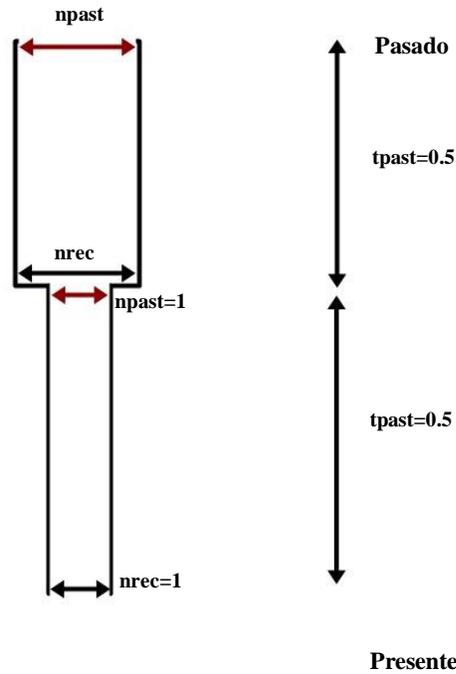
Apéndice 12. Escenarios 8 y 9: “Cuello de botella seguidos de expansión poblacional”. Se simularon tres eventos consecutivos con los siguientes parámetros: **1)** Un periodo de tamaño poblacional estable de duración $tpast = 0.5$, donde el tamaño poblacional inicial ($npast = 0.5$) y final son bajos ($nrec=0.5$); **2)** un cuello de botella de duración $tpast_{Escenario7} = 0.261$ (que abarca desde la formación de los principales estratovolcanes en la FVTM hasta el inicio del periodo glacial MIS XII) ó $tpast_{Escenario8} = 0.489$ (que comprende desde la formación de los principales estratovolcanes en la FVTM hasta el inicio del UMG) que redujo la población a un 10% de su tamaño poblacional ($npast= 0.05$, $nrec= 0.05$); **3)** una expansión poblacional exponencial de duración $tpast_{Escenario7} = 0.239$ (periodo glacial MIS XII - presente) ó $tpast_{Escenario8} = 0.011$ (UMG - presente) donde el tamaño de la población se incrementó al doble de su tamaño inicial ($npast= 3$; $nrec=3$). Los tiempos están en $4N$ generaciones.



Apéndice 12. Escenarios 11 y 12: “Expansión poblacional exponencial (o colonización)”. Se simularon dos eventos consecutivos con los siguientes parámetros: **1)** Un periodo de tamaño poblacional estable ($npast_{Escenario10} = 0.5$, $npast_{Escenario11} = 0.2$; $nrec_{Escenario10} = 0.5$, $nrec_{Escenario11} = 0.2$), de duración $tpast = 0.5$; **2)** una expansión poblacional exponencial de duración $tpast = 0.5$ (que abarca desde el inicio de la formación de los principales estratovolcanes en la FVTM hasta el presente) donde la población crece al doble (Escenario 10) ó cinco veces (Escenario 11) su tamaño inicial. Los tiempos están en $4N$ generaciones.



Apéndice 12. Escenarios 13-15: “Cuello de botella constante (o fragmentación)”. Se simularon dos eventos consecutivos con los siguientes parámetros: **1)** Un periodo de tamaño poblacional estable ($n_{past_{Escenario13}}=2$, $n_{past_{Escenario14}}=3$, $n_{past_{Escenario15}}=7$; $n_{rec_{Escenario13}}=2$, $n_{rec_{Escenario14}}=3$, $n_{rec_{Escenario15}}=7$) de duración $tpast = 0.5$; **2)** un cuello de botella de duración $tpast= 0.5$ (que abarca desde el inicio de la formación de los principales estratovolcanes en la FVTM hasta el presente) donde la población disminuye a un 50 (Escenario 13), un 33 (Escenario 14) o a un 14% (Escenario 15) de su N_e inicial. Los tiempos están en $4N$ generaciones.



Apéndice 13. Valores de probabilidad promedio de que los valores simulados para cada uno de los escenarios descritos en el Apéndice 12 sean menores o iguales a los estadísticos de neutralidad promedio observados (Precisión $\pm 1e^{-6}$). Los valores en negrita señalan a aquellos modelos que se ajustaron mejor a los cuatro estadísticos de neutralidad observados. Cuando más de un modelo explicó adecuadamente los datos, se calculó un valor de *likelihood* (L) para discriminar cuál de ellos era el mejor.

Linaje		Demografía inestable (MIS XII)				Demografía inestable (MIS II)			Cuello de botella y expansión		Estable	Expansión		Cuello de botella		
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
<i>A. jaliscana</i>	<i>D</i>	1.000	1.000	1.000	1.000	0.999	1.000	0.999	1.000	0.979	0.999	0.999	1.000	0.995	0.980	0.878
	<i>F_s</i>	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.996	1.000	1.000	1.000	0.994	0.959	0.520
	<i>H</i>	0.000	0.000	0.005	0.212	0.012	0.028	0.112	0.042	0.091	0.316	0.254	0.143	0.577	0.738	0.945
	<i>H_{norm}</i>	0.000	0.000	0.000	0.010	0.026	0.037	0.051	0.019	0.105	0.038	0.035	0.025	0.119	0.222	0.505
<i>A. flinckii</i>	L															
	<i>D</i>	1.000	1.000	1.000	1.000	0.999	0.999	0.999	1.000	0.980	0.999	1.000	1.000	0.994	0.982	0.922
	<i>F_s</i>	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.996	0.928
	<i>H</i>	0.000	0.000	0.014	0.303	0.479	0.419	0.430	0.280	0.557	0.452	0.433	0.355	0.664	0.780	0.925
<i>Abies</i> Manantlán	<i>H_{norm}</i>	0.002	0.005	0.027	0.341	0.160	0.245	0.360	0.231	0.391	0.495	0.458	0.355	0.717	0.829	0.952
	L															
	<i>D</i>	1.000	1.000	0.999	0.985	0.941	0.909	0.827	0.929	0.677	0.709	0.766	0.858	0.589	0.505	0.341
	<i>F_s</i>	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.999	0.999	1.000	0.994	1.000	1.000	1.000	0.995	0.978	0.778
Admixia	<i>H</i>	0.000	0.000	0.000	0.006	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.002	0.001	0.000	0.027	0.068	0.263
	<i>H_{norm}</i>	0.000	0.000	0.000	0.000	0.022	0.025	0.020	0.006	0.059	0.005	0.006	0.007	0.019	0.035	0.115
	L															
	<i>D</i>	1.000	1.000	1.000	0.999	0.999	0.992	0.932	0.989	0.630	0.455	0.655	0.903	0.199	0.102	0.027
<i>A. religiosa</i>	<i>F_s</i>	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.999	0.988	1.000	0.773	0.983	0.987	0.997	0.936	0.901	0.868
	<i>H</i>	0.000	0.000	0.002	0.190	0.003	0.011	0.059	0.015	0.043	0.278	0.208	0.101	0.613	0.790	0.960
	<i>H_{norm}</i>	0.000	0.000	0.000	0.049	0.044	0.064	0.112	0.038	0.196	0.150	0.120	0.080	0.393	0.590	0.855
	L													-794.135	-797.741	
<i>A. religiosa</i>	<i>D</i>	1.000	1.000	0.997	0.667	0.907	0.740	0.233	0.522	0.036	0.000	0.005	0.081	0.000	0.000	-
	<i>F_s</i>	0.826	0.800	0.683	0.689	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.002	0.004	-
	<i>H</i>	0.000	0.000	0.002	0.226	0.016	0.042	0.132	0.038	0.135	0.355	0.289	0.150	0.716	0.878	-
	<i>H_{norm}</i>	0.000	0.000	0.000	0.076	0.053	0.082	0.148	0.050	0.234	0.216	0.178	0.100	0.549	0.759	-
<i>A. religiosa</i>	L															

Apéndice 14. Resultados de la prueba MLHKA (Wright y Charlesworth, 2004) para once genes nucleares en cada uno de los cuatro linajes observados para los *Abies* del centro de México. *lnLN*, verosimilitud de un escenario neutral; *lnLN*, verosimilitud de un escenario selectivo para cada gen; *L ratio*, Likelihood ratio test; *P*, probabilidad de una χ^2 .

Linaje	Escenarios	CesA1	COBRA-like	Porina Mip1	Lhca4	α -1, 6 xilosiltr	Fruct. 1,6		Heat shock	ArMyb IX	ArMyb STR	ArMyb VI
							dif. aldolasa	Porina Mip1a				
<i>A. jaliscana</i>	<i>lnLN</i>	-49.543	-49.543	-49.543	-49.543	-49.543	-49.543	-49.543	na	na	-49.543	-49.543
	<i>lnLS</i>	-47.491	-47.289	-44.145	-47.853	-49.550	-49.527	-47.844	na	na	-48.533	-48.838
	<i>L ratio</i>	4.104	4.508	10.795	3.379	-0.015	0.032	3.397	na	na	2.020	1.410
	<i>P</i>	0.043	0.034	0.001	0.066	1.000	0.858	0.065	na	na	0.155	0.235
<i>A. flinckii</i>	<i>lnLN</i>	-45.742	-45.742	-45.742	-45.742	-45.742	na	-45.742	na	-45.742	-45.742	na
	<i>lnLS</i>	-43.228	-44.086	-43.563	-42.665	-45.612	na	-43.747	na	-45.753	-43.713	na
	<i>L ratio</i>	5.026	3.310	4.358	6.154	0.259	na	3.989	na	-0.023	4.058	na
	<i>P</i>	0.025	0.069	0.037	0.013	0.611	na	0.046	na	1.000	0.044	na
Manantlán	<i>lnLN</i>	-45.001	-45.001	-45.001	-45.001	-45.001	na	na	-45.001	-45.001	-45.001	-45.001
	<i>lnLS</i>	-42.749	-40.463	-43.700	-45.007	-44.936	na	na	-44.240	-45.007	-43.047	-44.950
	<i>L ratio</i>	4.504	9.076	2.603	-0.011	0.131	na	na	1.523	-0.011	3.909	0.103
	<i>P</i>	0.034	0.003	0.107	1.000	0.717	na	na	0.217	1.000	0.048	0.748
<i>A. religiosa</i>	<i>lnLN</i>	-60.584	-60.584	-60.584	-60.584	-60.584	-60.584	-60.584	-60.584	-60.584	-60.584	-60.584
	<i>lnLS</i>	-58.298	-60.271	-58.718	-59.721	-60.551	-59.427	-59.593	-59.574	-60.612	-60.054	-60.595
	<i>L ratio</i>	4.573	0.626	3.732	1.726	0.067	2.314	1.983	2.021	-0.055	1.061	-0.021
	<i>P</i>	0.032	0.429	0.053	0.189	0.795	0.128	0.159	0.155	1.000	0.303	1.000

Apéndice 15. Fechamientos de los principales eventos geológicos y climáticos en la FVTM y su transformación a número de generaciones de *Abies* (1 generación = 60 años; Farjon, 1999). Esta información se utilizó para generar las distribuciones previas (*priors*) de los tiempos de divergencia en el análisis ABC y las simulaciones realizadas en el programa *mlcoalsim*.

Periodo	Evento	Años	Generaciones
Plioceno temprano	Inicio actividad tectónica (Ferrari <i>et al.</i> , 2012)	5300000	88333.3
Plioceno tardío	Ambientes cálidos y húmedos (Salzmann <i>et al.</i> , 2011)	3600000	60000.0
Pleistoceno temprano	Ultima fase FVTM (Ferrari <i>et al.</i> , 2012)	2580000	43000.0
	Surgimiento estratovolcanes (Ferrari <i>et al.</i> , 2012)	1000000	16666.7
Pleistoceno medio	Intensificación de la ciclicidad climática (glaciar-interglaciar)	781000	13016.7
Pleistoceno tardío	Fin actividad tectónica (Ferrari <i>et al.</i> , 2012)	126000	2100.0
	UMG inicio (Caballero <i>et al.</i> , 2010)	75000	1250.0
	UMG fin (Caballero <i>et al.</i> , 2010)	15000	250.0
Holoceno		11000	183.3

Referencias:

Caballero, M., Lozano-García, S., Vázquez-Selem, L. y 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.

Ferrari, L., Orozco-Esquivel, T., Manea, V. y Manea, M. (2012). The dynamic history of the Trans-Mexican Volcanic Belt and the Mexico subduction zone. *Tectonophysics*, 522, 122-149.

Salzmann, U., Williams, M., Haywood, A. M., Johnson, A. L., Kender, S. y Zalasiewicz, J. (2011). Climate and environment of a Pliocene warm world. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 309(1), 1

Apéndice 16. Probabilidad posterior (en paréntesis, intervalos de confianza al 95%) de cada escenario demográfico estimado la totalidad de los datos genéticos nucleares y para cada subset poblacional de *Abies* del centro de México con el software DIYABC v. 2.1.0. Se calculó la probabilidad posterior de cada escenario considerando el 1% de los sets de datos más cercanos a los datos genéticos empíricos.

Escenario	Probabilidad posterior				
	General	Subset W Adm (Af14, Af16) Arel (Ar45, Ar48)	Subset X Adm (Af14, Af16) Arel (Ar12, Ajus)	Subset Y Adm (Ar22, Ar55) Arel (Ar12, Ajus)	Subset Z Adm (Ar22, Ar55) Arel (Ar45, Ar48)
1	0.0009 (0.0000,0.0472)				
2	0.0023 (0.0000,0.0486)				
3	0.1856 (0.1459,0.2253)	0.0048 (0.0028,0.0068)	0.0009 (0.0003,0.0014)	0.7687 (0.7490,0.7884)	0.9619 (0.9561,0.9678)
4	0.0438 (0.0000,0.0959)	0.0024 (0.0006,0.0042)	0.0004 (0.0000,0.0009)	0.0107 (0.0055,0.0158)	0.0136 (0.0103,0.0169)
5	0.0048 (0.0000,0.0509)				
6	0.0029 (0.0000,0.0491)				
7	0.0044 (0.0000,0.0505)				
8	0.7554 (0.7421,0.7687)	0.0029 (0.0009,0.0049)	0.0029 (0.0017,0.0041)	0.0151 (0.0094,0.0209)	0.0056 (0.0038,0.0073)
3a		0.8896 (0.8728,0.9063)	0.9489 (0.9381,0.9598)	0.2035 (0.1844,0.2226)	0.018 (0.0145,0.0215)
3b		0.1003 (0.0840,0.1167)	0.0469 (0.0363,0.0575)	0.002 (0.0000,0.0068)	0.0009 (0.0007,0.0012)

Adm, grupo genético admítico, según análisis STRUCTURE; Arel, *Abies religiosa* (en paréntesis las poblaciones que componen a cada grupo genético para cada subset poblacional).

Apéndice 17. Análisis de confianza en la selección del mejor escenario y revisión del modelo demográfico para la divergencia de linajes de *Abies* del centro de México. $P < 0.05$ ó $P > 0.95$ expresan la proporción de estadísticos de resumen observados que no se ajustaron a su distribución simulada a partir de parámetros demográficos muestreados de las distribuciones posteriores del mejor escenario.

Simulación	Escenario	Error tipo I	Error tipo II	$P < 0.05$ ó $P > 0.95$
General	8	0.119	0.029	0.05
Subset W	3a	0.264	0.057	0.075
Subset X	3a	0.234	0.059	0.075
Subset Y	3	0.227	0.047	0.15
Subset Z	3	0.242	0.047	0.06

Apéndice 18. Estimaciones de máxima verosimilitud (HiPt) e intervalos de confianza del 95% de la distribución posterior más alta (HPD95 Lo y Hi) para los parámetros demográficos analizados en el software IMA2 (Hey, 2010). Estos describen la divergencia de los linajes de *Abies* del centro de México bajo un escenario de aislamiento con migración.

	HiPt	HPD95Lo	HPD95Hi	HiPt	HPD95Lo	HPD95Hi
Tamaño poblacional						
	θ	θ	θ	$N_e (10^3)$	$N_e (10^3)$	$N_e (10^3)$
<i>A. jaliscana</i>	0.17	0.05	0.41	3.09	0.93	7.40
<i>A. flinckii</i>	0.16	0.06	0.40	2.95	1.08	7.11
<i>Abies</i> Manantlán	0.32	0.13	0.72	5.82	2.37	12.90
<i>A. religiosa</i>	1.05	0.56	2.21	18.90	10.10	39.70
<i>A. jal-A. flin</i>	3.55	0.93	8.00	63.70	16.70	144.00
<i>A. Man-A. rel</i>	0.24	0.00	6.13	4.38	0.00	110.00
Ancestro	0.37	0.02	1.04	6.68	0.36	18.80
Tiempo de divergencia						
	t	t	t	T (Ma)	T (Ma)	T (Ma)
0	0.068	0.017	0.203	0.291	0.071	0.873
1	0.116	0.038	0.359	0.498	0.162	1.546
2	0.305	0.152	0.587	1.313	0.653	2.529

θ y t son el tamaño poblacional efectivo y el tiempo de divergencia ajustados a la tasa de mutación. N_e y T son el tamaño efectivo poblacional y el tiempo de divergencia en número de individuos ($\times 10^3$) y millones de años (Ma) respectivamente. Se utilizó la media geométrica de la tasa de mutación de cada gen para realizar los ajustes.