



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

INSTITUTO DE BIOLOGÍA

SISTEMÁTICA

FILOGEOGRAFÍA Y ESTRUCTURA GENÉTICA DE PINUS PATULA (PINACEAE)

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

ALFREDO ORTIZ MARTÍNEZ

TUTOR PRINCIPAL DE TESIS:

DR. DAVID SEBASTIAN GERNANDT

INSTITUTO DE BIOLOGÍA, UNAM

COMITÉ TUTOR:

DR. JUAN PABLO JARAMILLO CORREA

INSTITUTO DE ECOLOGÍA, UNAM

DR. LEV ORLANDO JARDÓN BARBOLLA

CENTRO DE INVESTIGACIONES INTERDISCIPLINARIAS EN CIENCIAS Y HUMANIDADES, UNAM

CD. MX., NOVIEMBRE, 2018



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

INSTITUTO DE BIOLOGÍA

SISTEMÁTICA

**FILOGEOGRAFÍA Y ESTRUCTURA GENÉTICA DE PINUS PATULA
(PINACEAE)**

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

ALFREDO ORTIZ MARTÍNEZ

TUTOR PRINCIPAL DE TESIS:

DR. DAVID SEBASTIAN GERNANDT

INSTITUTO DE BIOLOGÍA, UNAM

COMITÉ TUTOR:

DR. JUAN PABLO JARAMILLO CORREA

INSTITUTO DE ECOLOGÍA, UNAM

DR. LEV ORLANDO JARDÓN BARBOLLA

CENTRO DE INVESTIGACIONES INTERDISCIPLINARIAS EN CIENCIAS Y HUMANIDADES, UNAM

MÉXICO, CD. MX., NOVIEMBRE, 2018



OFICIO CPCB/918/2018

Asunto: Oficio de Jurado para Examen de Grado.

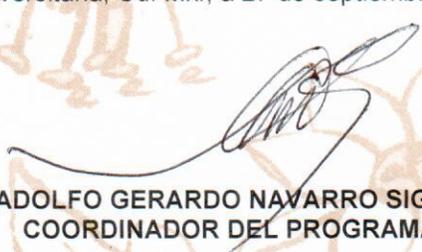
Lic. Ivonne Ramírez Wence
Directora General de Administración Escolar, UNAM
Presente

Me permito informar a usted que en la reunión del Subcomité por Campo de Conocimiento de Biología Evolutiva y Sistemática del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día 30 de julio de 2018, se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de **MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS** del alumno **ORTIZ MARTÍNEZ ALFREDO** con número de cuenta **516011804** con la tesis titulada "**FILOGEOGRAFIA Y ESTRUCTURA GENETICA DE PINUS PATULA (PINACEAE)**", realizada bajo la dirección del **DR. DAVID SEBASTIAN GERNANDT**:

Presidente: DR. DANIEL IGNACIO PIÑERO DALMAU
Vocal: DRA. ANA LAURA WEGIER BRIUOLO
Secretario: DR. LEV ORLANDO JARDÓN BARBOLLA
Suplente: M. EN C. ROSA MARÍA FONSECA JUÁREZ
Suplente: DR. JORGE ALBERTO PÉREZ DE LA ROSA

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

A T E N T A M E N T E
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"
Cd. Universitaria, Cd. Mx., a 27 de septiembre de 2018.


DR. ADOLFO GERARDO NAVARRO SIGÜENZA
COORDINADOR DEL PROGRAMA



c.c.p. Expediente del (la) interesado (a).

AGRADECIMIENTOS

Al Posgrado en Ciencias Biológicas, UNAM.

A CONACYT (CVU:706348) por el aporte mensual de la beca de dos años durante la Maestría.

Al proyecto SEP-CONACYT(CB-221694) ya que sin el apoyo económico no habríamos realizado colectas y la obtención de secuencias de DNA.

Al Dr. David Gernandt, por orillarme a otras áreas de la biología y por haber aceptado ser nuevamente mi asesor de tesis en este proyecto de Maestría.

Al Dr. Juan Pablo Jaramillo, por ser el mas estricto en este trayecto y por sus valiosos comentarios que sin duda enriquecieron este trabajo.

Al Dr. Lev O. Jardón, por revisar los informes en cada tutorial y darme claves en el escrito para enriquecerlo y mejorarlo.

AGREDECIMIENTOS A TÍTULO PERSONAL

Al Dr. Luis E. Eguiarte Fruns, por responder a mis dudas en la genética de poblaciones y en los métodos de la estructura genética.

A la Dra. Gabriela Castellanos, por ser tutora en la filogeografía de mi trabajo.

A la Dra. Xitlali Aguirre Dugua por haber compartido sus conocimientos de genética de poblaciones y filogeografía, así como, al manejo de los datos genómicos.

A la Dra. Alejandra Moreno Letelier por responder siempre a mis dudas en este trayecto del posgrado.

A los revisores de la tesis: Dr. Daniel Piñero, Dra. Ana Wegier, Dr. Lev Jardón, M. en C. Rosa Ma. Fonseca y Dr. Jorge A. Pérez de la Rosa.

Al Dr. Pablo Peláez Hernández por sus valiosos comentarios a la tesis.

Al M. en C. Enrique Scheinvar por las conversaciones de genética de poblaciones y filogeografía.

Al grupo de discusión “coníferas” por desentrañar cada artículo leído, David, Alejandra, Niza, Rubén, Gustavo, Pablo, Edith.

A Alberto, Antony y Rubén por ser excelentes amigos y por haberme acompañado en el peor momento de mi vida y por seguir nutriendo una amistad que será infinita.

A mis norteñas, Andrea, Nayeli, Dianota y Fabiola, por ser mis grandes amigas de generación, por su confianza y fiestas que sin duda serán siempre buenos recuerdos.

A mi amiga Duhyadi Oliva por su compañía, por sus pláticas y por la confianza que siempre me ha brindado.

A otros amiguitos del Posgrado, Nayeli, Omar, Parsifal.

A los amigos de reunión de comida durante todo el año, Alberto, Antony, Rubén, Pedro, Fernando, Cristina, Yolanda y Edna.

A Antonio, por ser la persona más buena y comprensible de este planeta. Por siempre estar en las buenas y en las malas. Por soportar mi carácter tan fuerte y por cada momento compartido. Sin tu valiosa ayuda, no estuviera esta tesis aquí Lusho.

A quienes aportaron su ayuda económica para recuperar mi laptop robada. Mil gracias, Dr. David Gernandt, M. en C. Martha Olvera, Dra. Angélica, Dra. Alejandra Vasco.

DEDICATORIA

Primero, a mi Dios (Esquipulas) por darme la oportunidad de llegar hasta este punto de mi vida. Por siempre estar en mis pensamientos y ser una luz importante en mi vida.

A mi familia

A mi madre Juana, por siempre ser mi motor de fuerza, por sus sabios consejos y hacerme comprender que los problemas hay que afrontarlos, aunque sean injustos. Por su amor infinito y por siempre estar conmigo en todo momento, así como por las conversaciones amenas en las tardes.

A mis hermanos Carlos y Armando, por siempre estar al pendiente de mi persona. Por su cariño y por las buenas charlas que siempre tenemos.

A mi abuela Anastacia, por ser en vida la mejor persona, por sus sabios consejos y su cariño infinito. Siempre en mi corazón abue.

A mi prima Gabriela y su familia, por estar al pendiente de mi familia y de mí, y por las convivencias que hemos compartido.

ÍNDICE

RESUMEN	
ABSTRACT	
LISTA DE FIGURAS Y CUADROS	
INTRODUCCIÓN	1
ANTECEDENTES	4
OBJETIVOS	9
METODOLOGÍA	10
Distribución geográfica natural de <i>P. patula</i>	10
Colecta del material biológico.....	10
Análisis de la divergencia morfológica de las hojas y los conos ovulados.....	10
Modelos de nicho ecológico: paleodistribución climática.....	12
Origen de los datos de presencia.....	12
Área accesible M.....	12
Reconstrucción de Modelos de Nicho Ecológico (MNE).....	13
Escenarios del cambio climático (ECC).....	13
Evaluación de los Modelos de Nicho Ecológico (MNE).....	13
Análisis moleculares.....	14
Extracción de DNA.....	14
Ensamblaje y polimorfismo de un solo nucleótido (SNPs).....	15
Relaciones genéticas entre poblaciones.....	16
Diversidad genética en las poblaciones de <i>P. patula</i>	16
Análisis filogeográficos.....	16
Estructura genética.....	16
Tiempos de divergencia y cambios demográficos.....	17
RESULTADOS	20
Distribución geográfica natural de <i>P. patula</i>	20
Divergencia morfológica de las hojas y los conos ovulados de <i>P. patula</i>	20
Análisis de componentes principales.....	20
Análisis canónico discriminante.....	23
Modelos de nicho ecológico: paleodistribución climática.....	24
Relaciones genéticas entre poblaciones.....	26
Diversidad genética en las poblaciones de <i>P. patula</i>	27
Exploración y evaluación de la estructura genética.....	28
Coefficientes F de Wright.....	28
Estructura genética a partir de análisis de componentes principales.....	28
Subestructura genética en las poblaciones de <i>P. patula</i> var. <i>patula</i>	29
Prueba de asignación usando STRUCTURE.....	30
Divergencia de las pozas genéticas de <i>P. patula</i> var. <i>longipedunculata</i> y cambios demográficos.....	31
Divergencia de las pozas genéticas de la Sierra Madre Oriental y del Sur.....	32
DISCUSIÓN	34
CONCLUSIONES	43
BIBLIOGRAFÍA	44
ANEXOS	65

LISTA DE FIGURAS Y CUADROS

Figura 1. Distribución geográfica de *P. patula* acorde a la información recabada de la literatura científica, herbarios y el Inventario Nacional Forestal. Sólo se incluyen poblaciones naturales de las variedades.

Figura 2. Mapa de las poblaciones utilizadas en este trabajo. Acrónimos para la distribución de *P. patula* var. *patula*: **GF** (Gómez Farías, Tamaulipas), **CP** y **PA** (Cerro de la Pingüica y Pinal de Amoles, Querétaro), **ZP** y **SB** (Zacualtipán y San Bartolo Tutotepec, Hidalgo), **VC** (Villa del Carbón, Estado de México), **EC** (El Conejo, Puebla), **TL** (Tlaxco, Tlaxcala), **LV** (Las Vigas, Veracruz) y *P. patula* var. *longipedunculata*: **CH** y **LF** (Chichihualco y La Felicidad, Guerrero), **IJ**, **SY** y **SA** (Ixtlán de Juárez, Santa María Yavesía y San Pedro el Alto, Oaxaca).

Figura 3. Escenarios demográficos simulados en DIYABC para *P. patula* var. *longipedunculata*.

Figura 4. Análisis de Componentes Principales (ACP) para los datos morfométricos utilizados en este trabajo.

Figura 5. Análisis de Componentes Principales (ACP) para las variables morfométricas utilizados en este trabajo.

Figura 6. Análisis discriminante de caracteres morfológicos. Los individuos y las variables se agrupan a sus respectivas variedades observándose el mismo patrón que en el ACP.

Figura 7. Escenarios de paleodistribución climática de las dos variedades de *P. patula*. Se observan la tendencia histórica de los modelos de nicho ecológico para la distribución geográfica histórica de las dos variedades de *P. patula*. Los diamantes azules corresponden a *P. patula* var. *patula* y los cuadrados rojos a *P. patula* var. *longipedunculata*. El último interglacial (hace ~75,000-125,000 años), en el Pleistoceno (hace ~21,000 años), y el Holoceno medio (hace ~6,000 años) (Otto-Bliesner et al., 2008).

Figura 8. Escenarios de la paleodistribución climática para *P. patula* var. *patula*. Los escenarios del pasado muestran cambios en el área geográfica ocupada por la variedad.

Figura 9. Escenarios de la paleodistribución climática para *P. patula* var. *longipedunculata*. Los escenarios del pasado muestran cambios en el área geográfica ocupada por la variedad.

Figura 10. Resultados del análisis de coordenadas principales para todas las poblaciones de *P. patula*. Los puntos verdes corresponden a *P. patula* var. *patula* donde la nube de poblaciones engloba todas las poblaciones utilizadas en este estudio, así como una población de Oaxaca, Ixtlán de Juárez. Los puntos azules y rosas corresponden a *P. patula* var. *longipedunculata* de Oaxaca (azules) y Guerrero (rosas).

Figura 11. Resultados de la subestructura genética de las poblaciones de *P. patula*. Cuatro pozas genéticas fueron identificadas cuando se excluyó la información molecular de las poblaciones de la Sierra Madre del Sur.

Figura 12. Resultados de la evaluación de la subestructura genética de las poblaciones de *P. patula* var. *longipedunculata*. Los puntos verdes corresponden a poblaciones de Guerrero y azules de Oaxaca. El punto rosa corresponde a la población Ixtlán de Juárez.

Figura 13. Asignación de los individuos en $K=3$ cuando fue considerada la información molecular de las dos variedades. Los individuos de 1-42 corresponden a *P. patula* var. *patula*, 43-53 *P. patula* var. *longipedunculata* de Guerrero, 54-62 *P. patula* var. *longipedunculata* de Oaxaca.

Cuadro 1. Caracteres de hojas y conos evaluados en todos los especímenes.

Cuadro 2. Información resumida para el análisis de la distribución natural de *P. patula*.

Cuadro 3. Importancia de la varianza de los componentes principales.

Cuadro 4. Coeficientes de la primera y segunda dimensión del análisis de componentes principales.

Cuadro 5. Información de las poblaciones de *P. patula* donde se detectaron alelos privados.

Cuadro 6. Índices de diversidad genética en las poblaciones evaluadas de *P. patula*, **I**= Índice de Shannon; %P= porcentaje del polimorfismo; **He**= Heterocigosidad esperada; **Ho**= Heterocigosidad observada.

Cuadro 7. Parametros estimados y valores de la confianza del modelo del análisis ABC de *P. patula* var. *longipedunculata* usando DIYABC.

Cuadro 8. Variables de temperatura y precipitación que fueron utilizados en las variedades para modelar escenarios del clima en tiempos pasado y presente, (\sqrt) variable que contribuye al modelo de nicho ecológico y (x) variable que no contribuye al modelo de nicho ecológico.

Cuadro 9. Parámetros genéticos de diferentes marcadores en *Pinus* subsección *Australes*.

Cuadro 10. Información de la estructura genética en diferentes especies de *Pinus* subsección *Australes*, a partir de los índices de fijación F.

RESUMEN

El impacto de las fluctuaciones climáticas del Cuaternario en la distribución geográfica de las especies ha recibido poca atención en las regiones tropicales y subtropicales; no obstante, han sido consideradas los factores determinantes en la arquitectura genética del género *Pinus*. El objetivo del trabajo fue evaluar la divergencia morfológica, distribución geográfica y filogeografía de *P. patula*. Un total de 54 individuos fueron usados para evaluar 18 variables morfológicas y estas variables fueron analizadas con estadística multivariante. Se usaron las 19 variables climáticas para conocer los cambios de distribución en escenarios climáticos del pasado. Se analizó la divergencia y los cambios demográficos a través de modelos ABC usando 103 SNPs nucleares en 62 individuos de 15 poblaciones. Los individuos fueron agrupados en siete pozas genéticas. Los resultados de los análisis indicaron que la distribución genética actual de *P. patula* fue el resultado de una expansión del área geográfica del pasado y una estructura genética en las poblaciones a nivel local.

Los análisis multivariados de caracteres morfológicos encontraron dos grupos, uno que corresponde a *P. patula* y el otro a *P. patula* var. *longipedunculata*. El número de hojas por fascículo, el ancho de la semilla, así como la longitud y el ancho del pedúnculo del cono ovulado fueron los principales caracteres morfométricos que permitieron diferenciar estos dos grupos. La diversidad genética de *P. patula* fue alta en la población del Cerro de la Pingüica ($H_e=0.169$), mientras que en la variedad *P. patula* var. *longipedunculata*, Oaxaca, San Pedro el Alto, encontramos la diversidad genética más baja de todas las poblaciones ($H_e=0.056$). La Sierra Madre Oriental y la del Sur presentaron valores de diversidad genética similares, aunque se mostraron más altos en la variedad *P. patula*. Nuestros datos soportan la hipótesis de un patrón de estructura a nivel local en toda la distribución geográfica de *P. patula*. Los escenarios bayesianos con mayor soporte estadístico sugieren que las pozas genéticas de la Sierra Madre del Sur divergieron en el Holoceno mientras que la separación de los demás grupos ocurrió en el Pleistoceno Tardío. También los escenarios indicaron cambios demográficos en los tamaños de las poblaciones durante el Holoceno y Pleistoceno.

ABSTRACT

The impact of the climatic fluctuations of the Quaternary Period on the geographical distribution of species has received little attention in tropical and subtropical regions. However, they have been considered the determining factors in shaping the genetic architecture in the genus *Pinus*. The objective of this work was to evaluate the morphological divergence, geographic distribution and

phylogeography of *P. patula*. A total of 54 individuals were used to evaluate 18 morphological variables, and these variables were analyzed with multivariate statistics. Nineteen climatic variables were used to assess changes in geographic distribution in climatic scenarios of the past. The divergence and demographic changes were analyzed across ABC models, using 103 nuclear loci in 62 individuals from 15 populations. The individuals were grouped in seven gene pools.

The multivariate analysis found two groups of *P. patula* var. *patula* and *P. patula* var. *longipedunculata*. The number of leaves per fascicle, the width of the seed and the length and width of the seed cone peduncle were the main morphological characters that helped differentiate these two groups. The genetic diversity of *P. patula* was found to be highest in the population of Cerro de la Pingüica ($I=0.169$), whereas in the variety *P. patula* var. *longipedunculata*, the population in Oaxaca, San Pedro el Alto, had the lowest genetic diversity ($H_e=0.056$). The Sierra Madre Oriental and Sierra Madre del Sur had similar values of genetic diversity, but these were higher in *P. patula* var. *patula*. The Bayesianos scenarios with major best statistical support indicated that the gene pools of the Sierra Madre del Sur diverged in the Holocene whereas the separation of other groups happened in the Late Pleistocene. The scenarios indicated that demographic changes in the sizes of the populations during the Holocene and Pleistocene.

I INTRODUCCIÓN

En Europa y Norte América, existe una red de núcleos de polen que predicen la existencia de especies que hoy habitan regiones templadas y boreales (Wang et al. 2009). Las plantas producen abundantes micro y microfósiles identificables (Jackson and Sax 2010) los cuales registran cambios en la distribución a través del tiempo (Whitmore, 2004). El registro del polen ha sido utilizado para reconstruir los cambios del pasado en la composición de la vegetación (Whitmore, 2004). Una hipótesis planteada es que en regiones tropicales no todas las especies tuvieron expansiones, suponiendo que esta condición podría haber mantenido tamaños de población grandes y retener mucha diversidad genética (Godfrey M Hewitt 2000; Ramírez-Barahona and Eguiarte 2013). Varias partes del área geográfica conocidas en los trópicos de las especies pudieron haber colonizado a diferentes velocidades debido a barreras físicas y como subsecuente resultado distintas estructuras genéticas (Obregón Molina 2010; Rodríguez-Banderas et al. 2009).

El clima ha fluctuado durante los últimos 3 millones de años (Comes and Kadereit 1998; G. M. Hewitt 2004; G M Hewitt 1996; Godfrey M Hewitt 2000), siendo el cambio de la distribución ocupada por los organismos vivientes, una de las consecuencias ineludibles (R. T. Pennington et al. 2004; Stewart et al. 2010). En México los efectos de cada una de las fluctuaciones climáticas registradas durante los períodos del Pleistoceno al Holoceno, es decir, el ciclo frío-húmedo y caliente-seco, afectaron a los bosques tropicales lluviosos. Sin embargo, la secuencia de los cambios climáticos a través de los últimos 40,000 años estuvo caracterizada por un clima frío-seco, apareciendo entre 20,000 y 12,000 años antes del presente (Toledo, 1982). Este fue el último periodo con este tipo de clima, el cuál apareció muchas veces durante todo el Pleistoceno (Toledo, 1982; Ramírez-Barahona & Eguiarte, 2013).

Las evidencias paleoecológicas, geomorfológicas y sedimentológicas indican que, durante el Último Máximo Glacial planetario, ocurrido entre 25,000 y 18,000 años antes del presente, México estaba sujeto a temperaturas más bajas que las actuales (Arroyo-Cabrales, Joaquín 2008; Ramírez-Barahona and Eguiarte 2013). Estas reconstrucciones han hecho posible entender como la distribución de bosques templados ha cambiado a través del tiempo evolutivo (Graham 1999; Metcalfe et al. 2000).

México posee una de las floras más variadas de América, debido a que su territorio se encuentra situado entre la zona templada del norte y la zona tropical, con una considerable extensión de zona subtropical. La variedad de la flora mexicana refleja en cierto modo la gran diversidad de climas y suelos, causada por la accidentada topografía y la compleja estructura geológica (Miranda and

Hernández-X. 2016). En México, existe evidencia de que el género *Pinus* experimentó un evento de diversificación endémico ocurrido en seis regiones principales (Eguiluz, 1985), consideradas como centros de diversificación del género (Styles, 1998).

Los estudios de la filogeografía ayudan a entender el papel de la historia demográfica en la distribución de las especies (Hickerson et al. 2010). Los patrones filogeográficos de las plantas en distintas regiones indican una correspondencia del pasado en su área geográfica y cómo es que la dinámica de las poblaciones intervino en eventos históricos durante el Cuaternario (Bartish, Kadereit, and Comes 2006; Petit et al. 2003). La historia inferida de las especies en América del Norte ha estado basada en las glaciaciones del Pleistoceno, debido a que han influido la distribución geográfica, la dinámica demográfica y los patrones de diversidad genética (Ramírez-Barahona and Eguiarte 2013). En la última década, estas inferencias están principalmente basadas en hacer coincidir la distribución de la diversidad genética de los marcadores moleculares con la estructura espacial de las poblaciones (Godbout, Beaulieu, and Bousquet 2010; Gugger et al. 2011; Jardón-Barbolla et al. 2011; Moreno-Letelier and Piñero 2009; Rodríguez-Banderas et al. 2009). En estos estudios se indaga la estructura genética de las poblaciones (Jaramillo-Correa et al. 2008; Jardón-Barbolla et al. 2011; Potter et al. 2015; Rodríguez-Banderas et al. 2009) y se infieren expansiones durante las glaciaciones del Pleistoceno, como en, *P. caribaea* (Jardón-Barbolla et al. 2011), *P. strobiformis* (Moreno-Letelier and Piñero 2009), *P. contorta* (Marshall, Newton, and Ritland 2002), *P. radiata* (Karhu et al. 2006), *P. nelsonii* (Cuenca, Escalante, and Piñero 2003), *P. ponderosa* (Potter et al. 2015), *P. leiophylla* (Rodríguez-Banderas et al. 2009) y *Pseudotsuga menziesii* (Gugger et al. 2011) entre otros. También se han detectado refugios pleistocénicos, como en, *P. lambertiana* (Liston et al. 2007), *P. leiophylla* (Rodríguez-Banderas et al. 2009), *P. banksiana* (Godbout, Beaulieu, and Bousquet 2010), *P. ponderosa* (Potter et al. 2015) y tiempos de divergencia de las pozas génicas detectadas a partir de la estructura genética de las poblaciones, como en, *P. leiophylla* (Rodríguez-Banderas et al. 2009), *P. menziesii* (Gugger et al. 2011), *Abies flinckii*, *A. guatemalensis*, *A. hickelii* y *A. religiosa* (Jaramillo-Correa et al. 2008).

Pinus patula Schiede ex Schltdl. & Cham. var. *patula* es una especie con una distribución geográfica relativamente amplia con importancia económica y ecológica (Farjon & Styles, 1997; Eckenwalder, 2009). Es endémica de México y se distribuye en la Sierra Madre Oriental, parte del Eje Neovolcánico y en la Sierra Madre del Sur. Así mismo, *Pinus patula* var. *longipedunculata* Loock ex Martínez, localizado en la Sierra Madre del Sur, exhibe una distribución en Guerrero y Oaxaca (Farjon, 2010), con una elevación de 1400-3300 metros (Farjon & Styles, 1997; Eckenwalder, 2009). *Pinus patula* se encuentra en sitios húmedos, subtropical y

templado cálido con una precipitación anual de 1000-2200 milímetros (Farjon & Styles, 1997). No obstante, la especie presenta un rápido crecimiento y adaptabilidad a diferentes ambientes, lo cual, la hace atractiva para plantaciones forestales en los tropicos y subtropicos, como en, Centro y Sur América (Argentina, Brasil, Venezuela, Colombia y Ecuador). También, se ha introducido a Sudáfrica, África del Este (Malawi, Kenia, Tanzania, Uganda, Etiopía, Ruanda y Burundi), África del Oeste (Camerún, Nigeria y Congo), Nueva Zelanda y Australia (Queensland, Nueva Gales del Sur, Papua-Nueva Guinea) (Ospina et al. 2011).

Este estudio examinó la divergencia de las poblaciones de *P. patula* a partir de datos morfológicos y la integramos con la información histórica de la paleodistribución climática a partir de diferentes escenarios del pasado que proporcionen información útil a la filogeografía de la especie. Contempla también información molecular enfocada en la diversidad genética para inferir la filogeografía y determinar los patrones históricos que han influido en la composición y la estructura genética.

II ANTECEDENTES

2.1 Análisis estadísticos de los caracteres morfológicos de *P. patula*

En las especies del género *Pinus* el número de las hojas ha sido un carácter fundamental para la clasificación dentro del género, aunque este carácter en las especies muestra variación (Farjon & Styles, 1997). No obstante, otros caracteres de importancia son aquellos que pueden observarse a nivel microscópico en la anatomía interna de las hojas secundarias de los pinos y que poca atención han recibido en el género *Pinus* (Fonseca, 2013; Ortiz-Martínez and Gernandt 2016). Algunos autores han sugerido que las hojas, por sí solas, no siempre permiten identificar a las especies, es decir, se requieren otros caracteres morfológicos para poder determinarlas, por ejemplo, de los conos ovulados que son los que presentan una mayor cantidad de caracteres importantes (apófisis, umbo, quilla, escamas y pedúnculo) (Farjon & Styles, 1997; Eckenwalder, 2009; Farjon, 2010; Fonseca, 2013). En *P. patula* de acuerdo con los antecedentes de la historia taxonómica, las dos variedades pueden diferenciarse claramente por el número de hojas, el tamaño de los conos y semillas, y la longitud del pedúnculo (Farjon, 2010; Fonseca, 2013).

El análisis multivariado corresponde a la estadística que permite explorar la estructura de los datos (Kenkel et al. 2016). En la investigación de la morfometría, los siguientes métodos multivariados son útiles y populares: análisis de componentes principales, discriminante, cluster (técnica de agrupamiento), de correspondencias y varianza multivariado (Cayuela, De la Cruz, and Ruokolainen 2011). El análisis de componentes principales (ACP) es una herramienta clásica cuyo objetivo es hallar combinaciones lineales de las variables originales que describen la estructura de dependencia de los datos (Cayuela, De la Cruz, and Ruokolainen 2011; Kenkel et al. 2016) y permiten sintetizar en un menor número de variables el mayor porcentaje de la variación (Cayuela, De la Cruz, and Ruokolainen 2011). Por otra parte, de acuerdo con (Kenkel et al. 2016) el objetivo esencial del análisis discriminante es utilizar los valores conocidos de las variables independientes para predecir con qué categoría de la variable dependiente se corresponde. Este método es derivado de la expresión lineal de la ecuación de Fisher ($Z = u_1X_1 + u_2X_2 + u_3X_3 + \dots + u_mX_m$), donde Z representa el punto discriminante, u representa la importancia de la variable para discriminar y la X es la variable independiente. Algunos autores enfatizan que con este modelo se pretende encontrar los valores que tienen las variables para discriminar, es decir, los valores de las constantes (u) siempre bajo el criterio de maximizar la relación entre las

diferencias de los grupos con respecto a la variabilidad encontrada en los datos (Cayuela, De la Cruz, and Ruokolainen 2011; Kenkel et al. 2016).

En algunos trabajos han analizado la morfometría a una escala geográfica local de los caracteres morfológicos en *P. patula*. Por ejemplo, (W. B. Dvorak et al. 2001) evaluaron a través de análisis multivariados los caracteres morfológicos para seis poblaciones de *P. patula* var. *longipedunculata*. El trabajo fue realizado para corroborar que esta variedad no correspondía a otras especies del grupo Oocarpae: *P. patula*, *P. herrerae*, *P. jaliscana*, *P. oocarpa*, *P. pringlei* y *P. tecunumanii*. El autor concluyó que las evaluaciones realizadas no mostraron diferenciación estadística entre los linajes evaluados y que *P. patula* var. *longipedunculata* pudo haber emergido de diferentes morfologías que han evolucionado similarmente en la Sierra Madre del Sur. En otro estudio reciente, (Viveros-Viveros et al. 2013) exploraron el patrón de variación morfológica en acículas, conos y semillas de 13 poblaciones de *P. patula* en Oaxaca, Ixtlán de Juárez. Detectaron variación significativa entre las poblaciones ($P < 0.05$). Las variables morfológicas que presentaron mayor variación entre las poblaciones fueron la longitud de la vaina y la longitud del cono (32.5% y 26.2% respectivamente), mientras que la característica que exhibió menor variación fue la longitud de la acícula (4.4%). Por otra parte, la media de la población y la altitud de origen fueron positivos en el ancho de la quilla ($r=0.67$; $P=0.0119$), el diámetro del cono ($r=0.75$; $P=0.0046$) y la longitud de la vaina ($r=0.83$; $P=0.0005$); es decir, las poblaciones de mayor altitud presentaron conos más anchos, las escamas presentaron quillas más anchas y fascículos con vainas más largas, mientras que las poblaciones de menor elevación mostraron conos menos anchos, escamas con quillas más angostas y fascículos con vainas más cortas.

2.2 Antecedentes de la estructura y diversidad genética de *P. patula*

A pesar de la relativamente amplia distribución de *P. patula* y de los tratamientos taxonómicos que permiten determinar dos variedades, los estudios de la cuantificación de la variación genética han sido muy pobres. Es importante recalcar que esta es una de las especies de pino más importantes para las plantaciones comerciales intensivas en el mundo debido a su tasa de crecimiento excepcionalmente rápido, buena forma de tronco y características favorables de la madera para los productos de celulosa (W. S. Dvorak et al. 2000; Ospina et al. 2011).

La caracterización de la variación genética puede revelar los procesos demográficos y la estructura genética de las poblaciones (A. J. Eckert et al. 2010; Novembre and Stephens 2008; Zinck and Rajora 2016). La diferenciación genética entre las poblaciones está bien documentada por dos procesos que influyen fuertemente, el asilamiento por distancia geográfica y la adaptación local (A. J.

Eckert et al. 2010; Jardón-Barbolla et al. 2011; Ortiz-Olivas et al. 2017). En el primer caso, la limitada dispersión moldea las diferencias genéticas de las poblaciones aisladas geográficamente, lo cual resulta en una correlación entre la distancia geográfica y genética (Aguillon et al. 2017; C. G. Eckert, Samis, and Lougheed 2008). En el segundo caso, la divergencia adaptativa ocurre entre poblaciones aisladas debido a la complejidad ecológica y topográfica, es decir, se han detectado correlaciones positivas entre la distancia genética y el ambiente (Brousseau et al. 2015). En algunos estudios donde las especies de pinos son dispersadas y polinizadas por el viento, se ha encontrado que la estructura genética es el resultado del aislamiento por distancia y por ende del poco flujo génico entre las poblaciones, como en *P. lumholtzii* (Reyes-Murillo et al. 2016), *P. cembroides*, *P. durangensis* y *P. teocote* (Hernandez-Velasco et al. 2016), *Picea chihuahuana* y *Pseudotsuga menziesii* (Quiñones-Pérez et al. 2014). No obstante, también en estudios recientes se ha detectado a la variación genética correlacionada con factores ecológicos (A. J. Eckert and Dyer 2012).

Un estudio reciente llevado a cabo en Oaxaca para *P. patula*, utilizó ocho microsatélites nucleares para seis sitios (tres sitios bajo manejo forestal y tres sitios de regeneración natural). Se detectó localmente un alto índice de diversidad genética ($H_e=0.802$), y una estructura genética intermedia entre las poblaciones analizadas con base en los estadísticos de Wright ($F_{ST}=0.056$) (Corrado, et al., 2014). Posteriormente, otro estudio llevado a cabo en poblaciones ubicadas en Oaxaca utilizó seis microsatélites nucleares para seis poblaciones. Se encontró una diversidad genética alta ($H_e=0.55$) y una estructura genética basada en coeficientes de Wright, $F_{ST}= 0.082$, (Sánchez-García, 2015).

2.3 Origen del género *Pinus*

El análisis de depósitos fósiles en todo el Hemisferio Norte (Ryberg et al. 2012) y la evidencia molecular (He et al. 2012) sugiere que el origen de Pinaceae ocurrió en el Mesozoico medio a temprano en las altas latitudes del hemisferio Norte (Millar, 1998). *Eathiestrobus mackenziei* es la evidencia fósil más antigua de la familia Pinaceae (Rothwell et al. 2012).

(Ryberg et al. 2012) describieron un espécimen fósil de *Pinus* del Cretácico temprano (hace 131-129 millones de años), siendo el fósil más antiguo reportado para el género. Algunos ejemplos de taxa fósiles que enriquecen al género *Pinus* en América del Norte corresponden a *P. arnoldii*, *P. baileyi*, *P. balfouroides*, *P. princetonensis*, *P. sturgisii*, *P. tiptoniana*, *P. triphylla* (Cockerell, 1908; Hollick & Jeffrey, 1909; Chaney & Axelrod, 1959; Axelrod, 1980; Stockey, 1986; Axelrod, 1998). No obstante, en México se han descrito para esta familia paleomorfos del Cretácico superior, por ejemplo, en Coahuila: *Abiespollenites* sp.,

Cerebropollenites saccifistulatus, *Pityopollenites rugusaccatus*, *Pityllopollenites ovalis* (Rueda, 1967) y recientemente *Pinus enochii* y *P. uxueae* (Huerta, 2014). El registro fósil en México durante el Cenozoico no es mejor y sigue dominado por los reportes del grano de polen en los que domina *Pinus* y *Picea*. No obstante, durante la época del Plioceno y Pleistoceno *Picea* se vuelve escaso y *Pinus* se hace más importante (Martínez Hernández and Ramírez Arriaga 1996; Metcalfe et al. 2000).

Mirov (1967) sugirió que los pinos migraron a México durante el Cretácico tardío a lo largo de la Sierra Madre Occidental desde la cordillera norteamericana. Por otra parte, Martin & Harrell (1957) propusieron que durante el Terciario medio ocurrió una segunda invasión de pinos a México procedentes de las tierras altas de los Apalaches, en el este de EUA, rodeando el Golfo de México y a lo largo de la Sierra Madre Oriental. Esta diferencia en el tiempo de aparición de las coníferas en latitudes altas y latitudes bajas en América del Norte sirve para replantear lo que se ha sugerido con respecto al desplazamiento de la flora boreotropical del Norte hacia México (Huerta, 2014).

Los pinos son especies pioneras y lo más probable es que se dispersaron con rapidez en los derrames de lava resultantes de la actividad volcánica que ocurrió en una gran parte de México (Schuchert, 1955). Esta dispersión les permitió esparcirse hacia las mesetas centrales y de allí, gradualmente, al Istmo de Tehuantepec. De acuerdo con Schuchert (1955) durante el Eoceno inferior y medio esta área se encontraba por encima del nivel oceánico y así permaneció hasta el Oligoceno y Mioceno. Durante el Paleogeno (Millar, 1998) surgen dos secciones exclusivas a Norteamérica: la sección *Trifoliae* del subgénero *Pinus* y la sección *Parrya* del subgénero *Strobus* (Ann et al. 2007). Dentro de estas secciones se encuentran varios grupos de posible origen reciente: la subsección *Cembroides* (27 millones de años (Gernandt et al. 2008), *Ponderosae* y *Australes* que tienen edades estimadas con base en métodos de reloj molecular de 2 y 5 millones de años (Gernandt et al. 2008; Hernández-León et al. 2013). No obstante, las edades de los linajes principales de *Pinus* continúan poco claras, debido a que *Ponderosae* y *Australes* datan una divergencia en el Oligoceno y las especies en el Mioceno, lo cual contradice el trabajo de (Hernández-León et al. 2013). Es decir, los tiempos de divergencia son más viejos. Los autores han sugerido que sus resultados difieren de otros porque han utilizado más fósiles, más taxones vivientes y muestran que la estimación del tiempo de divergencia depende del método usado, del número de fósiles y su colocación filogenética (Saladin et al. 2017).

2.4 Inferencias de los patrones filogeográficos en los pinos de Norteamérica

Trabajos recientes se han enfocado en estudiar la filogeografía de las especies de pinos, estudiando migraciones, expansiones y contracciones que pudieron haber sido importantes en los últimos 10,000 años (Holoceno). Según (Norris, Betancourt, and Jackson 2016), el Holoceno tardío ofrece la oportunidad para comprender los patrones y mecanismos de las migraciones porque ocurrieron bajo diferentes condiciones de clima. Se menciona, además, que las rutas de migración de las especies dependen de varios factores, como la ecofisiología, historia de vida, estructura genética, la herencia genética e histórica y las interacciones ecológicas (Jackson and Sax 2010). La historia de la migración entre especies de la misma región representa diferentes respuestas a múltiples eventos de clima o de distintas variables (por ejemplo, precipitación durante verano e invierno) (Norris, Betancourt, and Jackson 2016). Los estudios en *P. ponderosa*, *P. edulis* y *P. contorta* var. *latifolia* indican que después de su establecimiento ocurrieron expansiones rápidas a través de su área geográfica, lo que sugiere que esta expansión estuvo conducida por el clima (Emslie, Coats, and Oleksy 2015; Norris, Betancourt, and Jackson 2016; Potter et al. 2013). No obstante, aunque se han encontrado estos patrones del Holoceno, las oscilaciones climáticas del Pleistoceno también afectaron la distribución geográfica de los pinos (Gugger et al. 2011; Jaramillo-Correa et al. 2008; Potter et al. 2013; Rodríguez-Banderas et al. 2009) involucrando migraciones latitudinales y de elevación, así como la expansión del área geográfica. Estos efectos de los ciclos paleoclimáticos están reflejados en la diversidad genética de la distribución actual de las especies (Norris, Betancourt, and Jackson 2016), ya que estas inferencias indican que las expansiones y contracciones de los hábitats causados por los ciclos glaciales e interglaciares pudieron haber ocasionado la colonización gradual de áreas geográficas, creando oportunidad para las expansiones de las poblaciones de refugios pleistocénicos (Zinck and Rajora 2016).

Algunos factores que contribuyen a que una especie tenga variedades según estudios filogeográficos en los pinos, son: (1) los niveles de variación genética antes de las glaciaciones del Cuaternario, (2) la localización de refugios en el Holoceno o poblaciones ancestrales y la recolonización post-glacial y (3) la posible interacción entre las especies de pinos durante la dispersión post-glacial (Giuseppe, González-Martínez, and Ait 2005; Zinck and Rajora 2016). Por ejemplo, se menciona que el nivel de variación genética de las poblaciones de *P. leiophylla* antes de la última glaciación y la localización ancestral de las poblaciones en el Pleistoceno jugaron un rol importante en el origen de las diferencias entre *P. leiophylla* y *P. chihuahuana* (Rodríguez-Banderas et al. 2009). Otras investigaciones recientes han indicado que el Holoceno fue importante para la expansión de las

especies, tales como *Pinus edulis*, *P. contorta* var. *latifolia* y *P. strobus* (Emslie, Coats, and Oleksy 2015; Zinck and Rajora 2016). No obstante, además del clima, otros factores como la historia compleja de la colonización, el aislamiento geográfico que ha resultado en grupos filogeográficos y la actividad volcánica, pudieron haber jugado un rol importante en la distribución de las especies (Lozano-Garcial and Vizquez-Selem 2005; Metcalfe et al. 2000). Considerando los antecedentes filogeográficos propusimos la hipótesis de que la distribución de la variación genética actual en *P. patula* es explicada por una expansión demográfica durante etapas glaciales y una estructura genética en las poblaciones a nivel local.

III OBJETIVOS

General

Evaluar la divergencia morfológica, estructura genética e investigar procesos demográficos y filogeográficos durante periodos glaciales en *Pinus patula*.

Particulares

1. Delimitar la distribución geográfica natural de las dos variedades de *Pinus patula*.
2. Cuantificar la divergencia morfológica de las dos variedades de *P. patula* mediante un análisis morfométrico de las hojas y conos ovulados.
3. Desarrollar modelos de nicho ecológico utilizando información geográfica y capas bioclimáticas para conocer la distribución climática de las dos variedades de *P. patula* en el pasado.
4. Inferir las relaciones genéticas de las poblaciones de *P. patula*.
5. Inferir la historia filogeográfica a partir de la información de genes nucleares (SNPs).

IV METODOLOGÍA

4.1 Distribución geográfica natural de *P. patula*

La distribución geográfica de las dos variedades fue revisada en base a colectas propias, bibliografía (Farjon & Styles, 1997; Eckenwalder, 2009) y la mayor parte proviene de los herbarios MEXU, IPN-ENCB y del Herbario de la Facultad de Ciencias (FCME) (Figura 1).

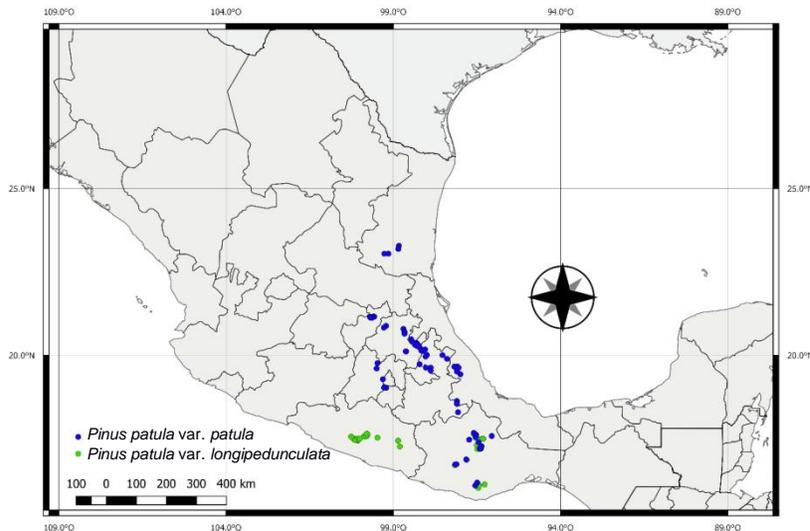


Figura 1. Distribución geográfica de *P. patula* acorde a la información recabada de la literatura científica, herbarios y el Inventario Nacional Forestal. Sólo se incluyen poblaciones naturales de las variedades.

4.2 Colecta del material biológico

Se recolectó material biológico a partir de poblaciones meramente naturales, en las que se muestrearon entre 3-6 individuos. El muestreo abarcó la totalidad del área de la distribución geográfica de ambas variedades. Para *P. patula* var. *patula*, el muestreo consistió en un total de 42 árboles individuales de diez poblaciones. Para *P. patula* var. *longipedunculata*, se muestreó un total de 20 árboles individuales en cinco poblaciones (Figura 2).

4.3 Análisis de la divergencia morfológica de las hojas y los conos ovulados

Se colectaron ramas y conos ovulados maduros de los individuos de cada población. Se depositó al menos un ejemplar de cada población en el Herbario Nacional de México (MEXU). Los 18 caracteres utilizados para llevar a cabo análisis

estadísticos multivariados se muestran en la Cuadro 1. Los caracteres macro-morfológicos provienen de la morfología de las hojas secundarias, la vaina de las hojas y los conos ovulados. El análisis de caracteres micro-morfológicos se basó en las estomas de las hojas secundarias.

La vaina de las hojas y los conos ovulados fueron medidos en milímetros (mm) con un vernier electrónico, mientras que la longitud de la hoja fue medida en centímetros (cm) con ayuda de una regla de 30 cm. Para el análisis utilizamos 15 acículas al azar por cada muestra, 15 escamas ovulíferas y 12 semillas por individuo.

Los análisis multivariados fueron llevados a cabo en el software de acceso libre R ver. 3.4 (R Core Team, 2009), utilizando la paquetería FactoMineR (Lê, Josse, and Husson 2008). El procesamiento de los datos en el Análisis de Componentes Principales fue realizado con la finalidad de identificar las variables que contribuían significativamente a explicar el mayor porcentaje de la variación morfométrica de hojas y conos en las dos variedades de *P. patula*. En el análisis las variables fueron normalizadas estandarizando los valores de las medias de cada variable para igualar la participación en el cálculo de los componentes principales con las funciones en FactoMineR (Lê, Josse, and Husson 2008). Para analizar la significancia estadística en el espacio multivariado de los grupos identificados se utilizó la función addEllipses dentro del paquete factoextra (Kassambara and Mundt 2017), agregando una confiabilidad del 0.95 para la región elipsoidal. El análisis discriminante (Friendly & Fox, 2012, función candisc en R software) fue usado para estimar si los individuos clasificados dentro de cada una de las variedades reconocidos *a priori* fueron asignados correctamente a los grupos propuestos (Martínez, 1948).

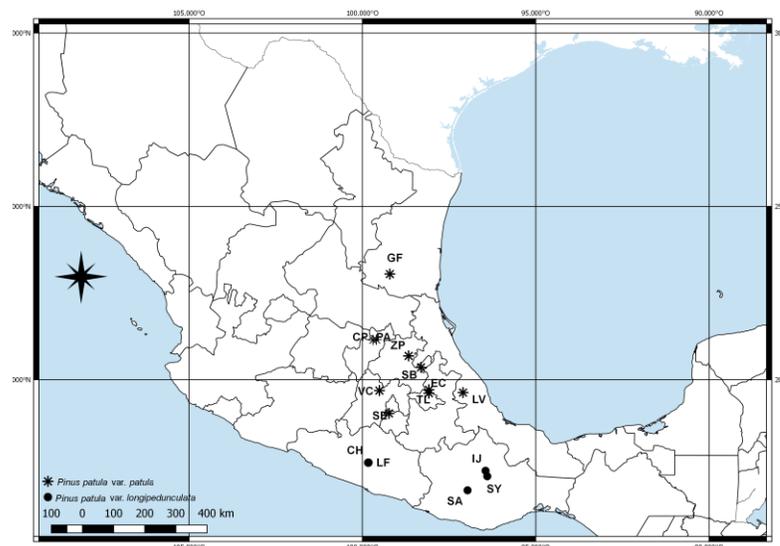


Figura 2. Mapa de las poblaciones utilizadas en este trabajo. Acrónimos para la distribución de *P. patula* var. *patula*: **GF** (Gómez Farías, Tamaulipas), **CP** y **PA** (Cerro de la Pingüica y Pinal de Amoles, Querétaro), **ZP** y **SB** (Zacualtipán y San Bartolo Tutotepec, Hidalgo), **VC** (Villa del Carbón, Estado de México), **EC** (El Conejo, Puebla), **TL** (Tlaxco, Tlaxcala), **SE** (Sierra la Encantada, Morelos), **LV** (Las Vigas, Veracruz) y *P. patula* var. *longipedunculata*: **CH** y **LF** (Chichihualco y La Felicidad, Guerrero), **IJ**, **SY** y **SA** (Ixtlán de Juárez, Santa María Yavesía y San Pedro el Alto, Oaxaca).

Cuadro 1. Caracteres de hojas y conos evaluados en todos los especímenes.

Acrónimo	Carácter de las hojas	Acrónimo	Carácter de los conos
(1) Lva	Longitud de la vaina	(7) Lco	Longitud del cono
(2) Ava	Ancho de la vaina	(8) Aco	Ancho del cono
(3) Aci	Número de hojas por fascículo	(9) Lap	Longitud de la apófisis
(4) Lho	Longitud de la hoja	(10) Aap	Ancho de la apófisis
(5) Nab	Número de líneas estomáticas (abaxial)	(11) Lum	Longitud del umbo
(6) Nad	Número de líneas estomáticas (adaxial)	(12) Aum	Ancho del umbo
		(13) Lse	Longitud del ala de la semilla
		(14) Ase	Ancho de la semilla
		(15) Lal	Longitud del ala
		(16) Aal	Ancho del ala
		(17) Lpe	Longitud del pedúnculo
		(18) Ape	Ancho del pedúnculo

4.4 Modelos de nicho ecológico: paleodistribución climática

4.4.1 Origen de los datos de presencia

Se construyó una base de datos de ocurrencia con los registros de *Pinus patula* var. *patula* (N=88) y *Pinus patula* var. *longipedunculata* (N=45) basada en la información de los herbarios: MEXU, FCME, ENCB e INIFAP y colectas propias. Se obtuvieron un total de N=133 registros únicos distribuidos en los estados de Tamaulipas, Querétaro, Hidalgo, México, Morelos, Puebla, Tlaxcala, Veracruz, Guerrero y Oaxaca.

4.4.2. Área accesible M

Para la delimitación del área donde se distribuye potencialmente la especie de interés: área accesible “M” (Soberon and Peterson 2005) se construyó un buffer de 100km alrededor de cada registro único de ocurrencia con ayuda del software ArcGIS vers. 9.3.1 (ESRI, 2008). Posteriormente, este buffer se traslapó con las ecorregiones de la World Wildlife Fund -WWF- (Olson et al. 2001) y aquellas áreas que coincidieron fueron denominados el área accesible M (Owens et al. 2013).

4.4.3. Reconstrucción de Modelos de Nicho Ecológico (MNE)

Para la construcción de los MNE, se usaron las 19 variables bioclimáticas de WorldClim (Hijmans et al. 2005) a una resolución de 0.00833° (1km^2) y se redujo el número de variables que mostraran multicolinealidad a partir de un análisis de correlación de Pearson realizado con los valores de cada pixel de cada una de las capas utilizadas (Warren, Glor, and Turelli 2010). Las variables bioclimáticas y los puntos de ocurrencia fueron importados al software de acceso libre MaxEnt (Phillips et al. 2006). El software divide los puntos de ocurrencia en dos grupos: puntos de entrenamiento (75%) y puntos de evaluación (25%) (Anderson, Lew, and Peterson 2003). Posteriormente, se utilizaron los siguientes parámetros siguiendo el trabajo de (Moo Llanes 2016), rasgos (*linear*, *product*, *threshold* y *hinge*), regularización múltiple (2), máximo número de iteraciones (500), máximo número de background (10,000) y se corrieron 10 réplicas. Después, de obtener el MNE, se realizó la sumatoria de las 10 réplicas para obtener un mapa binario (ausencia/presencia) en base al 95% de los puntos de ocurrencia.

4.4.4 Escenarios del cambio climático (ECC)

Los ECC se dividen en dos grupos: pasados y futuros. Para todos los escenarios se utilizó el modelo de circulación general: Community climate system model (CCSM4; <http://www.cesm.ucar.edu/models/ccsm4.0/>). En los ECC pasados se utilizaron tres periodos de tiempo: Holoceno medio (6,000 años), Último Máximo Glacial (22,000 años) y el último Interglacial (120,000 años) (Otto-bliesner et al. 2009).

4.4.5 Evaluación de los Modelos de Nicho Ecológico (MNE)

Los modelos obtenidos fueron evaluados usando la prueba de partial-ROC (Receiver Operating Characteristic) (Peterson, Papeş, and Soberón 2008) mediante el software diseñado por Barve (2008). Esta prueba está basada en los datos del área bajo la curva (AUC), siendo significativo cuando los valores del AUC son mayores a lo esperado al azar, es decir, $AUC=1.0$ (Escobar et al. 2013).

4.5 Análisis moleculares

4.5.1 Extracción de DNA

La extracción del DNA genómico se realizó a partir de material de herbario, así como a partir de material fresco de las hojas (tejido diploide) mediante el método de CTAB (Bromuro de Hexadeciltrimetilamonio), protocolo descrito por Doyle & Doyle (1987). Se tomaron 3 acículas para cada muestra, las cuales fueron maceradas en mortero con el buffer (CTAB) previamente calentado. Se obtuvieron también extracciones de DNA genómico del megagametofito, tejido haploide de origen materno. Estos fueron extraídos usando el Wizard Genomic DNA purification kit (Promega). El DNA obtenido fue cuantificado a través de fluorometría Qubit para valores precisos de las extracciones realizadas. Se obtuvo entre 800 ng y 2000 ng de DNA.

La obtención de las secuencias génicas se llevó a cabo con el uso de sondas de enriquecimiento siguiendo el método “*target enrichment*” (Gnirke et al. 2009). Un total de 1045 genes nucleares de copia única con un tamaño mayor a 500 pb de *P. taeda* (subsección *Austerales*), fueron seleccionados con base en diferentes estudios recientes: 940 provenientes de un estudio de exones (Neves et al. 2014), 96 de un mapa de ligamiento (Echt et al. 2011) y 9 de conjuntos de datos filogenéticos (Liewlaksaneeyanawin et al. 2009; Liston et al. 2007). Un ensayo in silico de sondas de ARN permitió la exclusión de sondas no específicas dejando un subconjunto de 711 exones nucleares. Las secuencias conocidas de estos genes de *P. taeda* fueron la base para el diseño de sondas de RNA de 120 pb (MYbaits, 2016) que permitieron capturar fragmentos de las bibliotecas de *P. patula* (Arbor Biosciences, Ann Arbor, Michigan, EUA).

Las bibliotecas genómicas fueron preparadas a partir de 800-2000 nanogramos (ng) de DNA, los cuales fueron digeridos en fragmentos de aproximadamente 250 pb. Enseguida el DNA fue fragmentado en tamaños de 250 pb. Los adaptadores fueron ligados para la secuenciación, siguiendo el protocolo TruSeq (Illumina, San Diego, California, USA), usando un nivel de paralelización (multiplexado) de 8 reacciones x 12 plex. El enriquecimiento de los exones nucleares se hizo en pools de 24 bibliotecas en concentraciones iguales. Los loci de interés fueron capturados siguiendo el protocolo del Kit MYbaits (Biodiscovery-LLC, Ann Arbor, Michigan, USA). Finalmente, cada librería enriquecida se combinó en juegos de 48 y se secuenciaron sobre una celda de Illumina Hi-Seq con el módulo 100 pb con lecturas “*paired-end*”.

Se usaron los siguientes criterios para filtrar los datos antes de realizar análisis posteriores: 1) se eliminaron primero los nucleótidos de baja calidad. Entonces, fueron excluidas aquellas lecturas que mostraron una longitud menor a

50 pb y solo fueron consideradas las lecturas que tenían más de 50 pb. Una vez realizado este paso, se analizó el resto de los fragmentos que correspondían a 400 genes del total de 711. 2) Se eliminaron las secuencias repetidas a través del software Geneious (Sequence->remove duplicate reads) dejando los parámetros por default como se sugiere en (Kearse et al. 2012). Este paso de remover las secuencias fue llevado a cabo porque suelen ser el producto de PCR que se utiliza en la construcción de las bibliotecas genómicas. Estos duplicados pueden aumentar artificialmente la cobertura del ensamblaje, pero no aportan información sobre la composición de la secuencia. Analizamos 103 loci para análisis posteriores. Los nombres de los genes analizados se encuentran en el Anexo I.

4.5.2 Ensamblaje y polimorfismo de un sólo nucleótido (SNPs)

Los archivos FASTQ se importaron al software Geneious vers. 10.1.3 (Kearse et al. 2012). Los duplicados fueron removidos usando este mismo software con la herramienta Dedupe de BBTools (Bushnell, 2016). Las bases que tenían una baja calidad fueron removidas con base en la calidad (“trimming”) en ambos sentidos con una probabilidad límite de error de 0.01.

Las secuencias de una muestra haploide de *P. patula* var. *patula* (DSG1321) fueron ensambladas a los 711 genes de referencia utilizando el software Geneious, con una sensibilidad baja y 5 iteraciones. Los genes que mostraron nucleótidos ambiguos en las secuencias consenso se inspeccionaron visualmente para distinguir entre el ensamblaje simultáneo de lecturas similares que sugerían la existencia de parálogos. Estos fueron anotados y excluidos de análisis posteriores.

Las secuencias consenso para cada gen se obtuvieron de la muestra con el umbral de mayor calidad (DSG1321). Todas las demás muestras de *P. patula* fueron mapeadas en Geneious con la herramienta “Reference Mapper with Low Sensitivity” y 5 iteraciones a estas nuevas secuencias de referencia y fueron procesadas junto con todas las demás muestras como control negativo para la detección de variantes.

Se detecto polimorfismos de un sólo nucleótido (SNPs), sobre los ensamblajes con los siguientes parámetros aplicados en el software Geneious: cobertura mínima 20x, frecuencia alélica variante mínima 0.3, variante máxima del valor P 10^{-7} , sesgo mínimo 65% del valor P-value 10^{-3} . La estrategia fue escoger aleatoriamente un SNP por locus para un total de 103 loci. La frecuencia de la variante (es decir, la frecuencia con que un nucleótido distinto de la referencia aparece entre las lecturas) fue utilizada en muestras diploides como un indicador del estado homocigo/heterocigo (>0.8 vs. 0.3-0.7, respectivamente).

4.5.3 Relaciones genéticas entre poblaciones

Para evaluar las relaciones genéticas entre las poblaciones, la distancia genética de Nei (Nei 1978) fue calculada para 103 SNPs y utilizada para construir un fenograma con el método Neighbor-Joining (NJ) utilizando 10,000 réplicas de bootstrap mediante el software POPTREE2 disponible en línea (Takezaki, Nei, and Tamura 2010).

También fueron concatenados los SNPs para obtener una secuencia y de esta manera también explorar las relaciones entre los genotipos de los individuos usando el software POPART (Leigh and Bryant 2015).

4.5.4 Diversidad genética en las poblaciones de *P. patula*

El software GenAlex vers. 6.5 (Peakall and Smouse 2012) fue utilizado para evaluar los parámetros de la diversidad genética. Estos parámetros fueron la heterocigosidad esperada y observada (H_e , H_o), porcentaje de polimorfismo (%P), e Índice de información de Shannon (I). Se calculó el número de SNPs que son privados en cada una de las poblaciones para cada región.

4.6 Análisis filogeográficos

4.6.1 Estructura genética

Como un primer análisis, los coeficientes de fijación F de Wright se obtuvieron mediante el programa Arlequin vers. 3.5.2 (Excoffier and Lischer 2010). El estadístico F_{ST} se utilizó para conocer la estructura genética entre las poblaciones. El índice proporciona información importante sobre los procesos evolutivos que influyen la estructura de la variación genética dentro y entre poblaciones, y es ampliamente utilizado en estadística descriptiva, en genética evolutiva y de poblaciones (Holsinger and Weir 2009). A nivel poblacional, el índice de estructura genética (F_{ST}) fue estimado con un intervalo de confianza del 95% con 9999 permutaciones.

Un segundo método, corresponde al análisis de coordenadas principales (ACoP) basado en una matriz de distancia genética, conducido con datos estandarizados por GenAlex vers. 6.5 (Peakall and Smouse 2012). Para los SNPs, los nucleótidos fueron codificados numéricamente como sigue: A=1, C=2, G=3, T=4 y los datos faltantes se codificaron como 0, así como lo sugiere el manual GenAIEx (Peakall and Smouse 2012).

Un método Bayesiano, implementado en el software STRUCTURE 2.3.3 (Pritchard, Stephens, and Donnelly 2000), identifica el número de agrupamientos genéticos diferentes (" K ") y probabilísticamente asigna los genotipos multilocus de

los individuos en estos agrupamientos. Para inferir las probabilidades posteriores de “ K ”, se llevó a cabo una serie de corridas independientes (Markov Chain Monte Carlo, MCMC) con diferentes valores definidos de “ K ” de 1 a 10. Considerando la suposición de que los individuos pueden tener ancestría mezclada y que las diferentes poblaciones tienen frecuencia de alelos correlacionados, los análisis fueron corridos 20 veces para un millón de iteraciones de MCMC después de un periodo de burn-in de 300000. Los resultados de STRUCTURE fueron procesados en un programa que se encuentra en línea, STRUCTURE HARVESTER (Earl and vonHoldt 2012), el cual implementa el método de Evanno (Evanno, Regnaut, and Goudet 2005) para estimar un valor de “ K ” aproximado. El valor más probable de “ K ” fue determinado 1) observando un gráfico con la información de la probabilidad media log de los datos vs. valores de “ K ”, y 2) usando el estadístico ΔK según el método de (Evanno, Regnaut, and Goudet 2005).

4.6.3 Tiempos de divergencia y cambios demográficos

Se utilizaron modelos ABC (Beaumont 2010) implementado en el software DIYABC vers.2.1 (Cornuet et al. 2014) para poner a prueba dos escenarios filogeográficos plausibles para *P. patula* var. *longipedunculata*, considerando los resultados del ACP (3 agrupamientos: 1) La Felicidad (Guerrero); 2) Ixtlán de Juárez (Oaxaca) y 3) Santa Ma. Yavesía (Oaxaca). Se generaron 4 millones de simulaciones para los datos de SNPs utilizando siete parámetros históricos (Anexo IIa). La primera hipótesis consistió en una divergencia de dos grupos en t_1 (grupo 2 y 1) y una expansión demográfica de una población ancestral (N_{bc2}) en t_1 (tiempo en generaciones) seguido de una divergencia en t_2 del grupo 2 y 3. La segunda hipótesis consistió en una divergencia de los tres grupos en t_3 (tiempo en generaciones) asumiendo al grupo 3 como ancestral para los otros dos grupos y bajo un escenario estable (Figura 3).

Se analizaron también las pozas génicas de las dos variedades de *Pinus patula*. Se generaron 4 millones de simulaciones utilizando 12 parámetros históricos (Anexo IIb) y se pusieron a prueba cuatro escenarios filogeográficos. La primera y segunda hipótesis muestran escenarios estables. La primera hipótesis consistió en una divergencia de los grupos de la Sierra Madre del Sur en t_1 , asumiendo una poza de *Pinus patula* como la ancestral de estos grupos. Las otras pozas de *Pinus patula* fueron consideradas en una divergencia de t_2 y t_3 . La segunda hipótesis consistió en una divergencia del grupo Ixtlán de Juárez y Santa Ma. Yavesía (Oaxaca) en t_1 . La poza de La Felicidad (Guerrero) fue hipotetizada en una divergencia en t_2 y las pozas de *P. patula* se consideraron en divergencias de t_2 y t_3 , asumiendo la poza de San Bartolo, Hidalgo como la ancestral (Anexo IIc).

Las otras dos hipótesis difieren en escenarios con cambios demográficos. La tercera hipótesis consistió en una divergencia y cambios demográficos de los grupos de la Sierra Madre del Sur en t_1 , mientras que las pozas de la Sierra Madre Oriental se hipotetizaron en divergencia de t_2 y t_3 , asumiendo a la poza Villa del Carbón como la ancestral. La cuarta hipótesis consistió en una divergencia en las pozas de la Sierra Madre del Sur en t_1 y t_2 . Se asumió que todas las pozas de la Sierra Madre Oriental divergieron en t_2 con cambios demográficos en la población ancestral de San Bartolo, Hidalgo (Anexo IIc).

DIYABC utiliza simulaciones basadas en coalescencia con el mismo número de loci que los datos observados consistentes en simulaciones coalescentes de los parámetros del modelo extraído de las distribuciones “*priors*”. Luego, compara los estadísticos de resumen para cada conjunto de datos simulados a partir de los datos observados (Castellanos-Morales et al. 2016; Cornuet et al. 2014). Los estadísticos de resumen únicos no proporcionan suficiente poder estadístico para distinguir entre los escenarios. Por lo tanto, es necesario considerar una combinación de los estadísticos de resumen para proporcionar la estimación de los parámetros y la selección del modelo para cualquier conjunto de datos (Beaumont 2010; Lacey Knowles and Alvarado-Serrano 2010). Se seleccionaron cinco estadísticos de resumen para realizar el análisis (La media, varianza, media completa de distribución de la distancia F_{ST} y la media y varianza de la distancia de Nei). La probabilidad posterior de cada escenario fue evaluada usando el procedimiento de regresión logística en el 1% de los datos simulados más cercanos a nuestros datos observados (Fontaine et al. 2013). Para determinar el escenario con mejor soporte, se utilizó la distribución posterior para simular 500 datos pseudo-observados para evaluar si este modelo reproducía exitosamente los datos observados (Castellanos-Morales et al. 2016) y estimar las tasas de error tipo I y II (Robert et al. 2011).

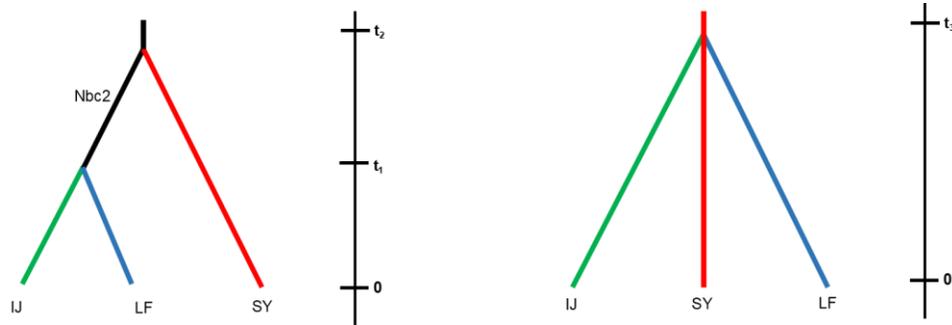


Figura 3. Escenarios demográficos simulados en DIYABC para *P. patula* var. *longipedunculata*. Escenario 1: IJ, tamaño de la población del grupo 2 (Ixtlán de Juárez, Oaxaca); LF, tamaño de la población del grupo 1 (La Felicidad, Guerrero), SY, tamaño de la población del grupo 3 (Santa Ma. Yavesía, Oaxaca), Nbc2, tamaño de la población ancestral expandida; t_1 , tiempo (en generaciones) para la divergencia de dos grupos bajo un escenario de expansión; t_2 , tiempo (en generaciones) para la divergencia de los grupos 2 y 3. Escenario 2: IJ, tamaño de la población del grupo 2 (Ixtlán de Juárez, Oaxaca); SY, tamaño de la población del grupo 3 (Santa Ma. Yavesía, Oaxaca) y ancestral de los grupos 2 y 1; LF, tamaño de la población del grupo 1; t_3 , tiempo (en generaciones) para la divergencia de los tres grupos bajo un escenario estable.

V RESULTADOS

5.1 Distribución geográfica natural de *Pinus patula*

Se analizaron 70 ejemplares de *P. patula* var. *patula* y 30 de *P. patula* var. *longipedunculata*. Las colectas provenientes de algunos estados fueron excluidas, por ejemplo, los ejemplares de la localidad el Desierto de los Leones en la Cd. de México indicaron que la presencia de esta variedad es por una reforestación que se llevó a cabo en 1985 y por tanto no se encuentra de forma natural. También fue excluida la distribución en Chiapas para *P. patula* var. *longipedunculata*, ya que, lo que se conserva en herbarios, corresponde a *P. tecunumanii*.

Cuadro 2. Información resumida para el análisis de la distribución natural de *P. patula*.

Variedad	No. ejemplares examinados	Poblaciones colectadas	Distribución colectada	Distribución no colectada	Distribución no natural
<i>P. patula</i> var. <i>patula</i>	70	9 (42 individuos)	Querétaro Hidalgo Estado de México Morelos Tlaxcala Puebla	Tamaulipas Veracruz	Ciudad de México
<i>P. patula</i> var. <i>longipedunculata</i>	30	2 (11 individuos)	Guerrero	Oaxaca	Hidalgo Chiapas

5.2 Divergencia morfológica de las hojas y los conos ovulados de *P. patula*

5.2.1 Análisis de componentes principales

Los patrones de variación observados en el análisis de componentes principales revelan dos grupos, uno que conforma a *P. patula* var. *patula* y el otro a *P. patula* var. *longipedunculata* (Figura 4). Un total de 18 componentes fueron retenidos para explicar la variación. El ACP-1 y ACP-2 (Cuadro 3-4) resultan en dos grupos discretos en el espacio multivariado. La suma de la variación explicada por el primer y segundo componente principal fue 58.4%. La región elipsoidal con una tolerancia de 0.95, permitió distinguir a *P. patula* var. *patula* de *P. patula* var.

longipedunculata (Figura 4). La mayoría de las variables, principalmente Lcon, Acon, Lap, Nlabx y Lva contribuyen a la diferenciación morfológica. La dispersión de los individuos en el espacio elipsoidal permitió agrupar a cada individuo en su respectiva variedad.

Las correlaciones más altas encontradas en nuestros datos fueron entre la longitud y el ancho del cono ($r=0.94$), el ancho del cono y la longitud de la apófisis ($r=0.80$), la longitud de la apófisis y la longitud del cono ($r=0.79$), y entre el ancho de la vaina y el ancho del cono ($r=0.79$).

Las variables útiles para diferenciar a la variedad de la Sierra Madre del Sur de la Oriental fueron el número de acículas, la longitud del pedúnculo, el ancho del pedúnculo y el ancho de la semilla. Con la varianza se encontraron correlaciones negativas en *P. patula* var. *patula*, es decir, existe, de ninguna ($r=-0.01$ a -0.05) a moderada ($r=-0.5$ a -0.3) relación negativa entre variables morfológicas de ambas variedades (Anexo III).

Cuadro 3. Importancia de la varianza de los componentes principales.

	Comp. 1	Comp. 2
Desviación estándar	2.8671172	1.5106459
Proporción de la varianza	0.4566867	0.1267808
Proporción acumulativa	0.4566867	0.5834673

Cuadro 4. Coeficientes de la primera y segunda dimensión del análisis de componentes principales.

Variable	Dimensión 1 (45.7%)	Dimensión 2 (12.7%)
Longitud del cono	-0.309	0.185
Ancho del cono	-0.313	0.136
Longitud de la apófisis	-0.292	0.154
Ancho de la apófisis	-0.225	0.352
Longitud del umbo	-	-
Ancho del umbo	-	0.337
Longitud de la semilla	-	-0.169
Ancho de la semilla	0.124	0.444

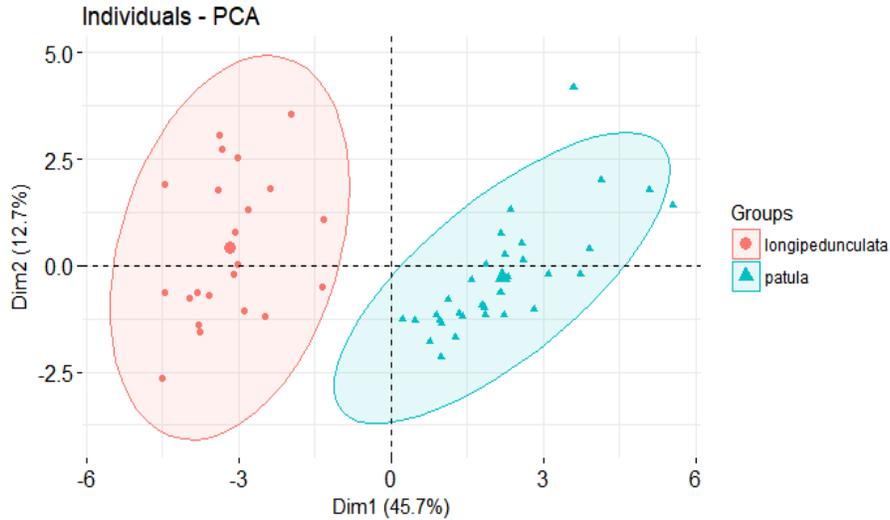


Figura 5. Análisis de Componentes Principales (ACP) para las variables morfométricas utilizados en este trabajo.

5.2.2 Análisis canónico discriminante

Este método permitió corroborar la asignación de individuos y caracteres morfológicos utilizados en el espacio multivariado. La información obtenida fue muy similar al ACP. El ancho de la semilla, el número de acículas, la longitud y ancho del pedúnculo fueron las principales variables que permitieron separar a *P. patula* var. *longipedunculata* de *P. patula* var. *patula* (Figura 6).

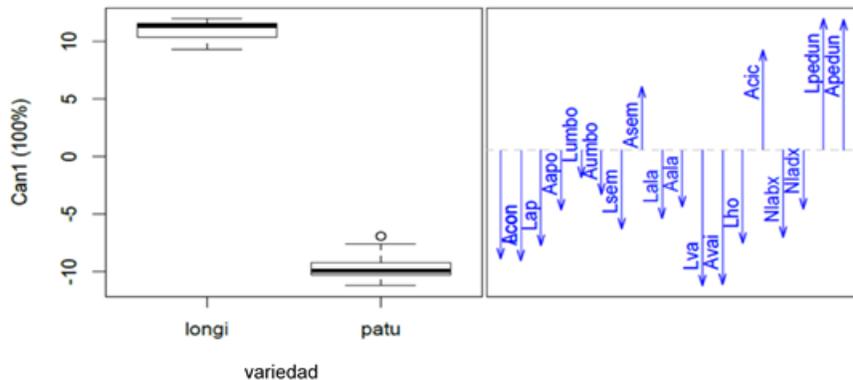


Figura 6. Análisis discriminante de caracteres morfológicos. Los individuos y las variables se agrupan a sus respectivas variedades observándose el patrón observado en el ACP.

5.3 Modelos de nicho ecológico: paleodistribución climática

Los patrones de la distribución geográfica de las variedades de *P. patula* y sus predicciones históricas están basados en el área de la distribución geográfica conocida. De manera general las proyecciones del nicho ecológico muestran que actualmente las dos variedades tienen nichos del clima iguales pero diferentes en el pasado, como si existiera un contacto secundario muy reciente. La superficie ocupada en los diferentes escenarios del tiempo para cada una de las variedades se encuentra graficado en la Figura 7.

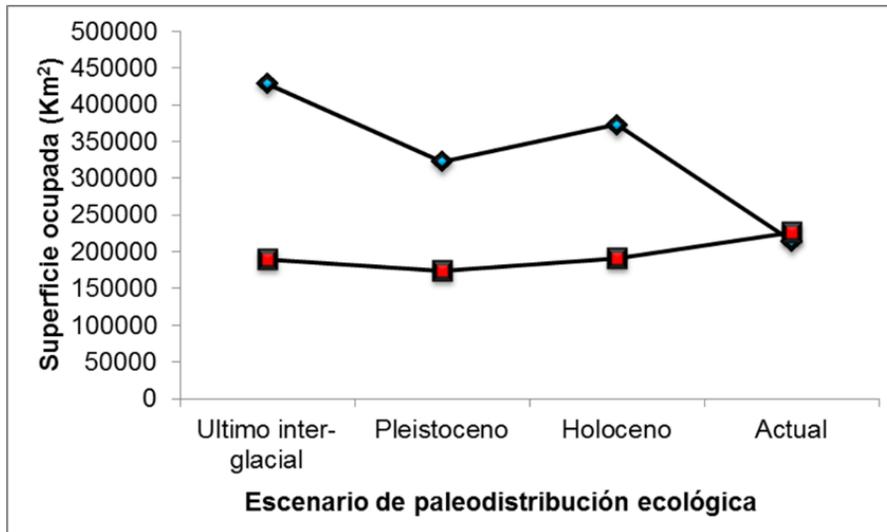


Figura 7. Escenarios de paleodistribución climática de las dos variedades de *P. patula*. Se observa la tendencia histórica de los modelos de nicho ecológico para la distribución geográfica histórica de las dos variedades de *P. patula*. Los rombos corresponden a *P. patula* var. *patula* y los cuadros a *P. patula* var. *longipedunculata*. El último interglacial (hace ~75,000-125,000 años), en el Pleistoceno (hace ~21,000 años), y el Holoceno medio (hace ~6,000 años) (Otto-Bliesner et al., 2008).

Durante el último interglacial el espacio de clima adecuado para *P. patula* var. *patula* según las proyecciones de los modelos de nicho ecológico se encontraba entre Nuevo León y al suroeste de Chiapas, aunque una mayor proporción del área accesible de esta variedad se encontraba en el centro de México ocupando casi la totalidad del Eje Neovolcánico. Cuando la edad de hielo llegó (UMG), el espacio adecuado seguía en el centro de México, aunque desapareció su presencia en el sureste de Chiapas y se observa una reducción en el estado de Oaxaca y sur de Nuevo León.

Actualmente el espacio adecuado para la variedad *P. patula* var. *patula* es congruente con nuestros datos de la distribución geográfica natural. A lo largo de la historia climática, el área geográfica con un clima adecuado para esta variedad

fue posiblemente en el centro de México, lo que hoy corresponde a las cadenas montañosas del Eje Neovolcánico y la Sierra Madre Oriental. Los cambios de distribución geográfica del nicho ocupado por esta variedad indican una dispersión tanto al norte y sur, dificultando la determinación de los factores climáticos óptimos a lo largo del tiempo (Figura 8).

En el caso de *P. patula* var. *longipedunculata*, durante el último interglacial el espacio adecuado estaba en una parte de la Sierra Madre Oriental y del Eje Neovolcanico, al sur en el norte de Michoacán y la mayor área geográfica en la Sierra Madre del Sur. Los modelos de nicho climático indican pequeños manchones en el Este de Puebla y Oeste de Veracruz. No obstante, no se han reportado localidades en estos lugares y podría ser recomendable explorar parte de Veracruz. Finalmente, en este trabajo, se ha concebido únicamente su distribución en Guerrero y Oaxaca (Figura 9).

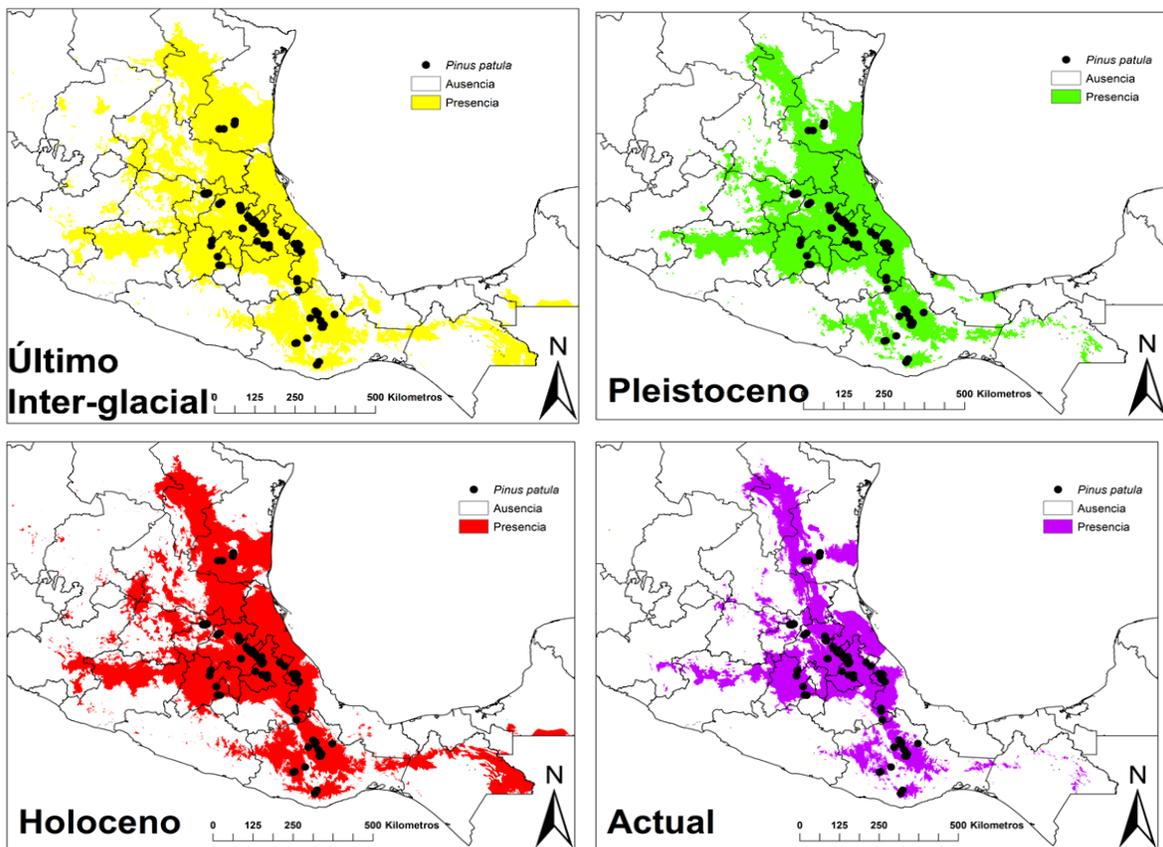


Figura 8. Escenarios de la paleodistribución climática para *P. patula* var. *patula*. Los escenarios del pasado muestran cambios en el área geográfica ocupada por la variedad.

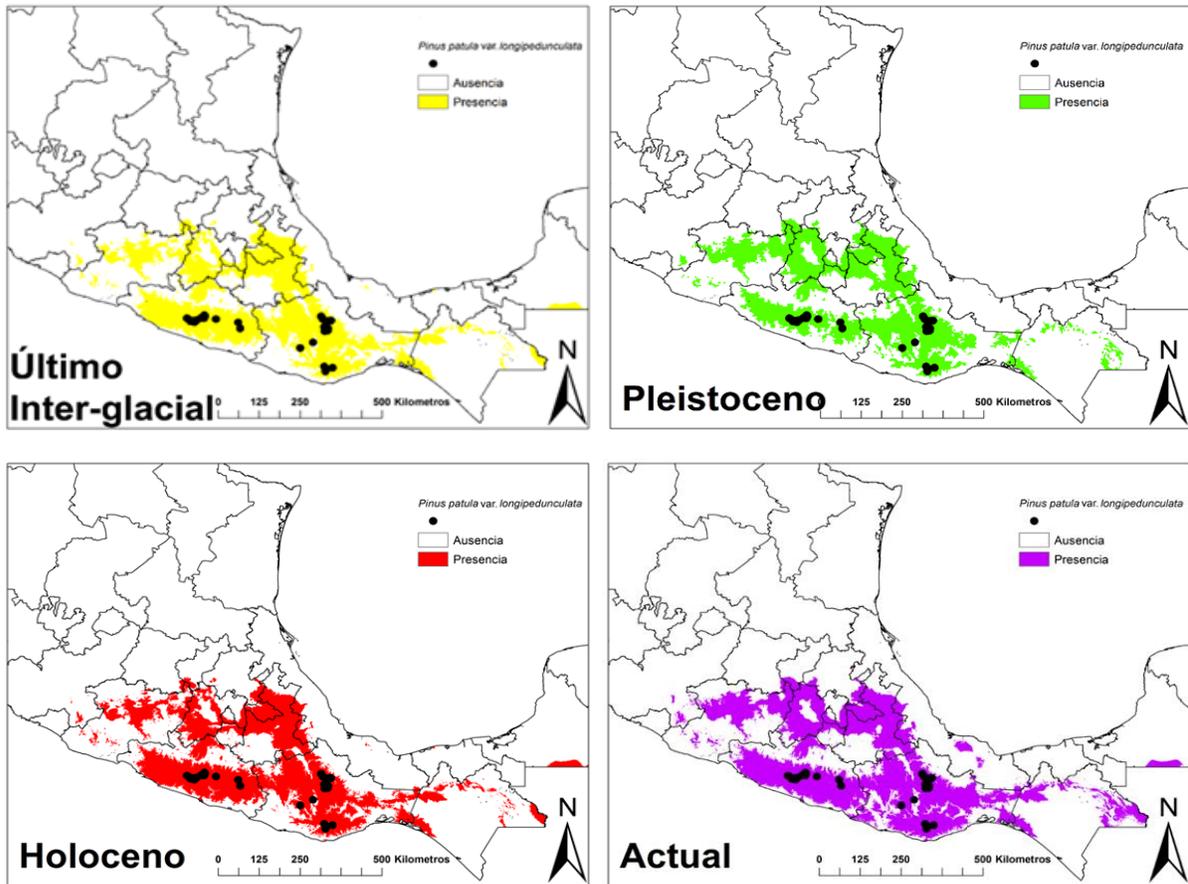


Figura 9. Escenarios de la paleodistribución climática para *P. patula* var. *longipedunculata*. Los escenarios del pasado muestran cambios en el área geográfica ocupada por la variedad.

5.4 Relaciones genéticas entre poblaciones de *P. patula*

Los datos moleculares muestran un patrón complejo y una débil definición de las relaciones genéticas sobre todo en *P. patula* var. *patula*. Los SNPs nucleares evidencian tres grupos utilizando el método de Neighbor-joining a través de un análisis de distancias genéticas de Nei (Anexo IV). El primer grupo está conformado por las poblaciones de *P. patula* var. *patula*, el segundo conformado por poblaciones de la variedad *P. patula* var. *longipedunculata* de Oaxaca y el tercero de esta misma variedad del estado de Guerrero, estos grupos fueron congruentes con la red de haplotipos (Anexo V). El árbol genealógico muestra evidencia de estructura en las poblaciones de *P. patula* var. *longipedunculata*, dos pozas génicas que corresponden a las poblaciones de Oaxaca y una tercera a las poblaciones de Guerrero, con soporte de bootstrap de 90 y 100%, respectivamente.

5.5 Diversidad genética en las poblaciones de *P. patula*

La diversidad genética para las poblaciones es proporcionada en el Cuadro 5. El valor más alto del polimorfismo genético (52.3%) fue observado en la población La Felicidad, Guerrero, mientras que el valor más bajo del mismo parámetro fue para la población San Pedro el Alto, Oaxaca (12.5%). Ambos estimados corresponden a poblaciones de *P. patula* var. *longipedunculata* (Cuadro 6).

El índice de Shannon que permite establecer la relación entre la frecuencia de un determinado alelo y el número de individuos en cada población en términos de riqueza y uniformidad de su distribución osciló entre 0.061($\sigma=0.013$) para la población Santa Ma. Yavesía, Oaxaca y 0.163($\sigma=0.018$) para la población Cerro la Pingüica, Querétaro (Cuadro 6).

Los alelos privados encontrados en algunas poblaciones de *P. patula* permiten inferir que, en estas poblaciones, donde se han detectado, existe un limitado flujo génico. El mayor número de alelos privados fue detectado en *P. patula* var. *longipedunculata* (Cuadro 5).

Cuadro 5. Información de las poblaciones de *P. patula* donde se detectaron alelos privados.

Población	No. de alelos privados
<i>Pinus patula</i> var. <i>patula</i>	
Las Vigas, Veracruz	1
San Bartolo, Hidalgo.	2
Zacuiltapán, Hidalgo.	1
Pinal de Amoles, Querétaro	3
Cerro de la Pingüica, Querétaro	1
Villa del Carbón, México	1
El Conejo, Puebla	1
Sierra La Encantada, Morelos	1
Total	11
<i>Pinus patula</i> var. <i>longipedunculata</i>	
La Felicidad, Guerrero.	9
Ixtlán de Juárez, Oaxaca	12
Santa Ma. Yavesía, Oaxaca	1
Total	22

Cuadro 6. Índices de diversidad genética en las poblaciones evaluadas de *P. patula*, **I**= Índice de Shannon; %P= porcentaje del polimorfismo; **He**= Heterocigosidad esperada; **Ho**= Heterocigosidad observada, FIS (Coeficiente de endogamia).

Población	He	Ho	FIS	I	%P
GF(Tam)	0.099(0.017)	0.112(0.024)	-0.13(-0.41)	0.143(0.025)	23.2
LV(Ver)	0.119(0.016)	0.137(0.022)	-0.15(-0.37)	0.180(0.024)	33.9
PA(Qro)	0.140(0.017)	0.086(0.015)	0.38(0.12)	0.214(0.025)	42.9
CP(Qro)	0.163(0.018)	0.154(0.021)	0.05(-0.17)	0.246(0.026)	47.3
SB(Hgo)	0.121(0.015)	0.107(0.016)	0.12(-0.07)	0.191(0.023)	42.0
ZP(Hgo)	0.144(0.016)	0.105(0.015)	0.27(-0.07)	0.227(0.024)	49.1
VC(Méx)	0.122(0.016)	0.131(0.018)	-0.07(-0.13)	0.191(0.023)	42.0
SE(Mor)	0.128(0.017)	0.131(0.020)	-0.02(-0.18)	0.193(0.025)	35.7
TL(Tlx)	0.115(0.015)	0.127(0.018)	-0.10(-0.2)	0.179(0.023)	37.5
EC(Pue)	0.108(0.016)	0.121(0.021)	-0.12(-0.3)	0.166(0.023)	33.0
LF(Gro)	0.158(0.017)	0.162(0.020)	-0.02(-0.18)	0.246(0.025)	52.7
CH(Gro)	0.156(0.017)	0.159(0.022)	-0.02(-0.3)	0.240(0.025)	48.2
IJ(Oax)	0.162(0.018)	0.196(0.027)	-0.2(-0.5)	0.242(0.027)	43.7
SA(Oax)	0.056(0.014)	0.027(0.011)	0.52(0.21)	0.080(0.020)	12.5
SY(Oax)	0.061(0.013)	0.067(0.015)	-0.098(-0.15)	0.093(0.019)	17.7

5.6 Exploración y evaluación de la estructura genética

5.6.1 Coeficientes F de Wright

En las poblaciones de la Sierra Madre Oriental una F_{ST} de 0.06-0.16 y en la Sierra Madre del Sur una F_{ST} de 0.06-0.19. La estructura genética entre ambas variedades consistió en una F_{ST} de 0.09-0.24. Ver Anexo VI de los intervalos de las F_{ST} para todas las poblaciones. Las diferencias grandes fueron observadas en las poblaciones de *P. patula* var. *longipedunculata* (0.12-0.16). La F_{IS} total de las poblaciones de la Sierra Madre del Sur fue de 0.04 y en la Sierra Madre Oriental 0.03.

5.6.2 Estructura genética a partir de análisis de componentes principales

El primer y segundo componente del análisis del ACP explicaron el 38.44% de la variación total (el primer componente 21.94%, el segundo componente 16.5%) identificando tres principales grupos (Fig. 10). El grupo I (SA y SY)

corresponde a las poblaciones de *P. patula* var. *longipedunculata*. El grupo II (LF y CH) corresponde a las poblaciones de *P. patula* var. *longipedunculata*. El grupo III (puntos verdes) corresponde a todas las poblaciones de *P. patula* var. *patula*. La estructura en las poblaciones de la Sierra Madre del Sur es más clara que en las poblaciones de la Sierra Madre Oriental, por lo cual, también se obtuvieron exploraciones sobre la subestructura genética dentro de cada una de las variedades.

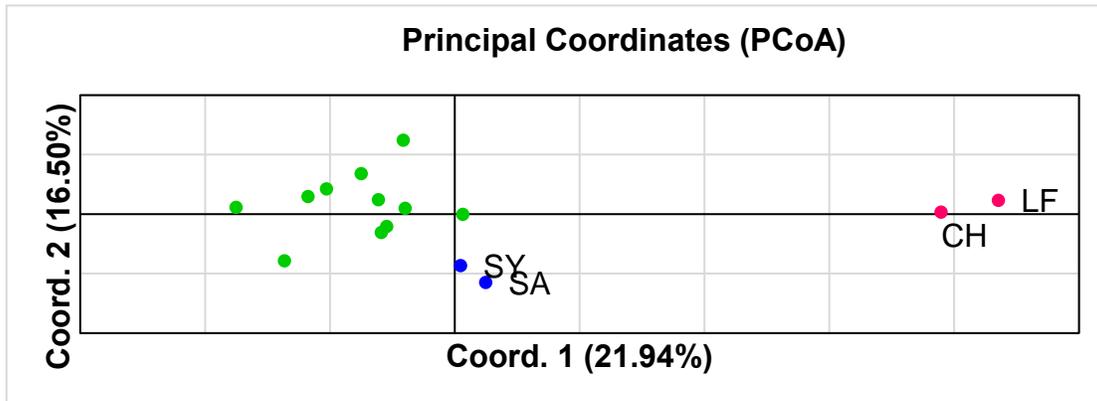


Figura 10. Resultados del análisis de coordenadas principales para todas las poblaciones de *P. patula*. Los puntos verdes corresponden a *P. patula* var. *patula* donde la nube de poblaciones engloba todas las poblaciones utilizadas en este estudio, así como una población de Oaxaca, Ixtlán de Juárez. Los puntos azules y rosas corresponden a *P. patula* var. *longipedunculata* de Oaxaca (azules) y Guerrero (rosas).

5.6.3 Subestructura en las poblaciones de *P. patula* var. *patula*

El primer y segundo componente del análisis del ACP explicaron el 41.16% de la variación total (el primer componente 21.79%, el segundo componente 19.37%) revelando cuatro pozas genéticas (Fig. 11). La poza I corresponde a Gómez Farías (Tamaulipas), la poza II a Las Vigas de Ramírez (Veracruz), Pinal de Amoles y Cerro de la Pingüica (Querétaro) y San Bartolo (Hidalgo), (LV, PA, CP, SB). La poza III a la Sierra la Encantada (Morelos) y la poza IV a Zacualtipán de Ángeles (Hidalgo) Villa del Carbón (México) El Conejo (Puebla) y Tlaxco (Tlaxcala) (ZP, VC, EC, TL).

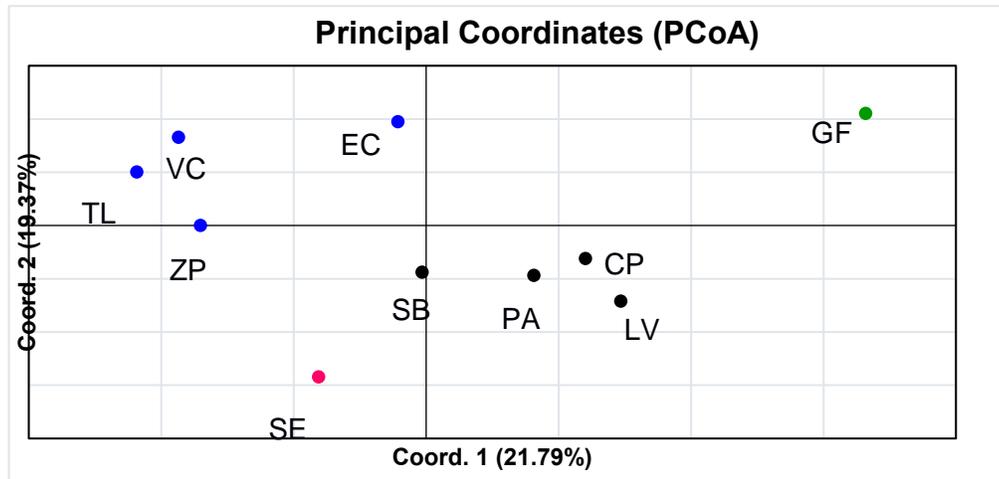


Figura 11. Resultados de la subestructura genética de las poblaciones de *P. patula*. Cuatro pozas genéticas fueron identificadas cuando se excluyó la información molecular de las poblaciones de la Sierra Madre del Sur.

5.6.4 Subestructura en las poblaciones de *P. patula* var. *longipedunculata*

El primer y segundo componente del análisis del ACP explicaron el 76.65% de la variación total (el primer componente 41.10%, el segundo componente 35.55%) identificando tres pozas genéticas (Fig. 12). La poza I corresponde a las localidades de La Felicidad y Chichihualco (Guerrero). La poza II corresponde a las localidades de San Pedro el Alto y Sta. Ma. Yavesía (Oaxaca) La poza III a la localidad de Ixtlán de Juárez (Oaxaca).

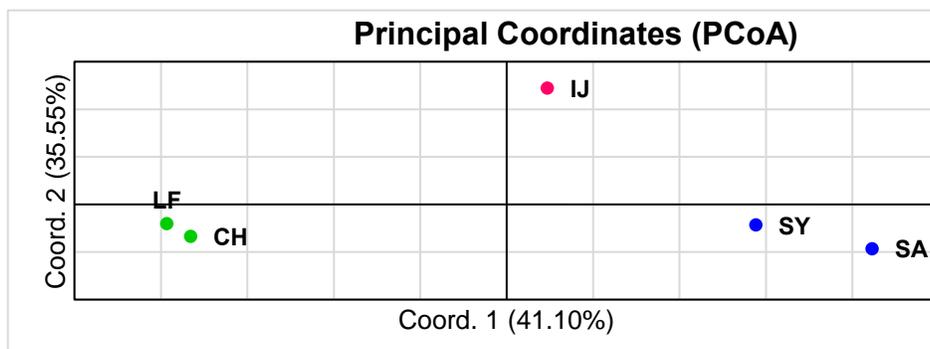


Figura 12. Resultados de la evaluación de la subestructura genética de las poblaciones de *P. patula* var. *longipedunculata*. Los puntos verdes corresponden a las poblaciones de Guerrero (La Felicidad (LF) y Chichihualco (CH)) y los puntos azules a las poblaciones de Oaxaca (Santa Ma. Yavesía (SY) y San Pedro el Alto (SA)). El punto rosa corresponde a la población Ixtlán de Juárez (Oaxaca).

5.7 Prueba de asignación usando STRUCTURE

El análisis de STRUCTURE revela la posible existencia de sub-estructuración genética en *P. patula*. El STRUCTURE para todas las poblaciones de las dos variedades de *P. patula* mostró un agrupamiento de $K=3$ (Figura 13). Este agrupamiento fue observado también en el ACP, en el fenograma NJ y en la red de haplotipos (Anexo IV y V). Se observaron a nivel de los individuos patrones de mezcla y no detectamos estructura geográfica, a excepción de las poblaciones de Guerrero.

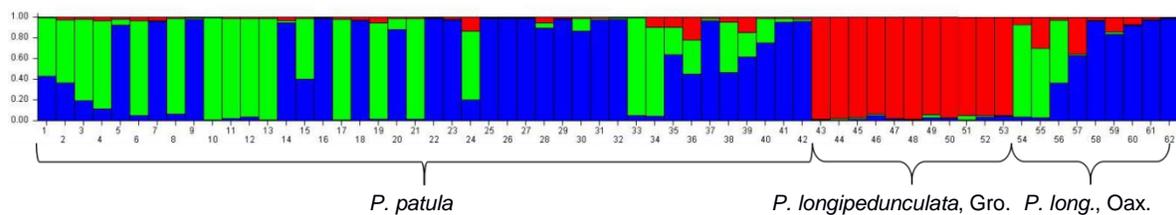


Figura 13. Asignación de los individuos en $K=3$ cuando fue considerada la información molecular de las dos variedades. Los individuos de 1-42 corresponden a *P. patula* var. *patula*, 43-53 *P. patula* var. *longipedunculata* de Guerrero, 54-62 *P. patula* var. *longipedunculata* de Oaxaca.

5.8 Divergencia de las pozas genéticas de *P. patula* var. *longipedunculata* y cambios demográficos

Encontramos que el escenario con la mayor probabilidad posterior fue la hipótesis del escenario 1 de una divergencia reciente para las pozas de Guerrero y Oaxaca en t_1 y una expansión demográfica de una población ancestral en t_1 (tiempo en generaciones) en el Holoceno y una segunda divergencia en t_2 para las pozas de Oaxaca (Ixtlán de Juárez y Santa Ma. Yavesía). El escenario 1 mostró la más alta probabilidad posterior y un intervalo de confianza del 95% (PP, 95% CI: escenario 1: 0.9700 [0.9635,0.9764]. El escenario 2 mostró una probabilidad posterior de 0.0300 [0.0236,0.0365]. Bajo la hipótesis del escenario 1 y asumiendo un tiempo generacional de 60 años, se encontró que la divergencia entre las pozas génicas detectadas por el ACP (La Felicidad, Guerrero, Ixtlán de Juárez, Oaxaca) ocurrieron en el (t_1) en el Holoceno (10,000 años). Así mismo se encontró una expansión demográfica en la población ancestral (Nbc2) en t_1 . Las pozas génicas Ixtlán de Juárez y Santa Ma. Yavesía divergieron en t_2 (Pleistoceno, c. 13,000 años antes del presente).

El escenario 1 fue correctamente identificado en el 100% de los 1000 conjuntos de datos pseudo-observados simulados (PODs) para el enfoque logístico

cuando fue comparado con el segundo escenario. El error tipo I fue de 0 y un error tipo II de 0.46 siendo bajos cuando el escenario I fue escogido como la hipótesis más cercana a nuestros datos genéticos.

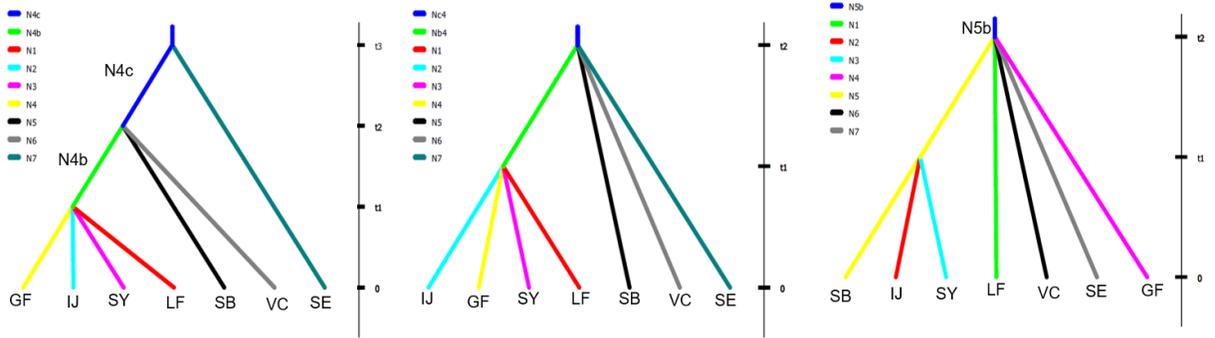
Cuadro 7. Parámetros estimados y valores de la confianza del modelo del análisis ABC de *P. patula* var. *longipedunculata* usando DIYABC.

	Escenario con cambios demográficos	Escenario estable
Probabilidad posterior	0.9700 (0.9635,0.9764)	0.0300 (0.0236,0.0365)
Rendimiento del modelo		
PODs expansión en el Holoceno	0.1	0 (Tipo error I)
PODs sin cambios demográficos	0.46 (Tipo de error II)	0.54

5.9 Divergencias de las pozas genéticas de la Sierra Madre Oriental y del Sur

Se estimo a través de DIY-ABC, diferentes escenarios plausibles que incluyeron la información del escenario anterior con la mayor probabilidad posterior y la información de las pozas de la Sierra Madre Oriental. Se encontró que el escenario con la mayor probabilidad posterior fue la hipótesis de una divergencia de las pozas de la Sierra Madre del Sur de una poza ancestral de la Sierra Madre Oriental en t_1 (Holoceno) y t_2 (Pleistoceno superior) y la divergencia en t_2 de las demás pozas de *P. patula*. El escenario 4 mostró la probabilidad posterior más alta y un intervalo de confianza del 95% (PP, 95% CI: escenario 4: 1.0000 [1.0000,1.0000]). Los otros tres escenarios mostraron valores de 0. Aunque las divergencias resultaron en tiempos recientes, se detectó también expansión demográfica de la población ancestral de la Sierra Madre Oriental en t_2 .

El escenario 4 fue correctamente identificado en el 100% de los 500 conjuntos de datos pseudo-observados simulados (PODs) para el enfoque logísticos cuando fue comparado con los otros tres escenarios. Finalmente se exploró otros tres escenarios posibles modificando la poza ancestral en diferentes tiempos y cambios demográficos y de esta manera, reanalizar la hipótesis anterior con mayor probabilidad posterior.



Entonces, detectamos que el escenario con la mayor probabilidad posterior fue la hipótesis tres, que consistió en la divergencia de las pozas de la Sierra Madre del Sur en t_1 y t_2 . Mientras que las demás pozas génicas de la Sierra Madre Oriental en t_2 . Estos resultados fueron consistentes con la evaluación de las hipótesis del Anexo IIc. Es decir, reafirmamos que la mayor probabilidad posterior fue para el mismo escenario con un cambio demográfico en t_2 . El escenario tres mostró una probabilidad posterior con un intervalo de confianza del 95% de 0.8501[0.8446,0.8557]. El escenario uno mostró una probabilidad posterior de 0 y el escenario dos, 0.1499 [0.1443,0.1554]. Los parámetros históricos se encuentran en el Anexo IIc.

El escenario tres fue correctamente identificado en el 95% de los 500 conjuntos de datos pseudo-observados simulados (PODs) para el enfoque logístico cuando fue comparado con los otros dos escenarios, ya que el análisis indicó para el escenario uno 0% y para el segundo escenario 5%. El error tipo I fue de 0 y un error tipo II de 0.20 siendo bajos cuando el escenario tres fue escogido como la hipótesis más cercana a nuestros datos genéticos.

VI DISCUSIÓN

6.1 Distribución geográfica natural de *Pinus patula*

Históricamente se han reconocido dos variedades de *P. patula*, una de las cuales fue caracterizada por tener un pedúnculo largo en el cono (Martínez, 1948) en el estado de Oaxaca. Se ha reportado que la zona de distribución no ha sido definida en *P. patula* var. *longipedunculata* (Loock, 1950), por lo cual hace falta la exploración sobre todo en Veracruz y Chiapas (Farjon & Filer, 2013). No obstante, el conocimiento sobre la distribución de la especie ha ido cambiando. Por ejemplo, Martínez (1948) y Mirov (1967) concibieron la distribución de *P. patula* var. *patula* en Querétaro, Hidalgo, México, Puebla, Veracruz y Tamaulipas. Posteriormente el conocimiento de la distribución se amplió a otros estados tales como Morelos, Tlaxcala y Oaxaca (Farjon & Styles, 1997).

En la bibliografía se ha considerado la distribución geográfica en la Ciudad de México y en Chiapas (Perry, 1991; Farjon & Styles, 1997; Farjon, 2010). No obstante, para *P. patula*, en la Ciudad de México el Desierto de los Leones no es una localidad que corresponda a la distribución natural, sino a una reforestación; y en Chiapas los caracteres morfológicos de ejemplares del sitio reportado corresponden a la especie *P. tecunumanii* y no a *P. patula* var. *longipedunculata*, aunque es una especie estrechamente relacionada y morfológicamente similar a lo que se encuentra en Guerrero y Oaxaca. Por otra parte, la información sobre la distribución geográfica es más pobre y difícil de comprender para la variedad del sur, debido a que la información en herbarios es suficiente en Guerrero y Oaxaca, ya que recientes colectas han confirmado la presencia de la variedad en el estado de Veracruz.

6.2 Divergencia morfológica de las variedades de *Pinus patula*

Stead (1981) señaló que el género *Pinus* no se presta fácilmente a las descripciones cualitativas tradicionales que permiten distinguir a las especies con la morfología de las hojas y conos ovulados. En el trabajo de McCarter & Birks (1985), utilizaron un enfoque numérico para elucidar problemas taxonómicos dentro del género *Pinus*. Su estudio se enfocó en identificar los caracteres que permitirían discriminar a *P. oocarpa* y *P. tecunumanii* (tratado por ellos como *P. patula* subsp. *tecunumanii*), y *P. patula* var. *longipedunculata* como *P. patula* subsp. *longipedunculata* (tratado por ellos como *P. patula* subsp. *longipedunculata*). Encontraron que al menos los caracteres del número de hojas por fascículo, la longitud de la vaina, el número de hileras estomáticas, el número de canales resiníferos, la longitud del cono y del pedúnculo fueron los principales caracteres que permitieron discriminar estos dos taxa. Estos caracteres en nuestro estudio han sido útiles para discriminar a las dos variedades de *P. patula*, así como en *P. greggii* (Donahue and Lopez-Upton 1996).

En algunos trabajos morfológicos de los pinos se han encontrado correlaciones altas entre los caracteres. Por ejemplo, en la longitud de la semilla y el peso total por cien semillas ($r=0.76$) y la longitud de la apófisis del cono y el ancho del cono ($r=0.75$) en *P. greggii* (Donahue and Lopez-Upton 1996). También entre la

longitud de la vaina y el grueso del cono ($r=0.83$) (Viveros-Viveros et al. 2013). Nuestro estudio encontró correlaciones altas en los siguientes caracteres morfológicos: longitud del cono y el ancho del cono ($r=0.94$), el ancho del cono y la longitud de la apófisis ($r=0.80$), longitud de la apófisis y la longitud del cono ($r=0.79$) y el ancho de la vaina y el ancho del cono ($r=0.79$). Las correlaciones altas de los caracteres han sido propuestas como hipótesis, por ejemplo, se ha mencionado la posibilidad de que las vainas puedan cumplir funciones de protección a las acículas contra factores del ambiente (ejemplo, las heladas); esta hipótesis se basa en la evidencia de que las vainas son más largas a mayores altitudes (Espinoza et al. 2012). Se ha sugerido también que la presencia de conos más gruesos pudiera brindar una mayor protección de las semillas contra el daño por heladas (Espinoza et al. 2012; Viveros-Viveros et al. 2013).

Los pinos que son de divergencia poco clara, por ejemplo, la subsección *Australes* (5 millones de años) (Hernández-León et al. 2013) y (Saladin et al. 2017) (20 millones de años), tienen variación en los caracteres morfológicos, pero hay solapamiento de esta variación entre las especies, y esto en parte es atribuible a que las especies muestran flujo génico entre especies (Eckenwalder, 2009). Aunque, nuestro muestreo no fue intenso a nivel de poblaciones para evaluar con métodos multivariados los caracteres morfométricos, fue suficiente para detectar los dos grupos que se han propuesto por Martínez (1948), *P. patula* var. *patula* y var. *longipendunculata*.

Los caracteres microscópicos de la anatomía interna de las hojas han sido poco explorados debido a que se ha encontrado evidencia de que están influenciados por el ambiente. No obstante, se han explorado en algunas especies y se ha concluido que pueden llegar a ser buenos caracteres para discriminar especies (López-Reyes et al. 2015; Ortiz-Martínez and Gernandt 2016). El estudio de (López-Reyes et al. 2015) encontró diferencias entre dos especies de pinos mexicanos, *P. douglasiana* y *P. maximinoi*, a través de las intrusiones hipodermales. El carácter fue consistente en *P. douglasiana* y permitió separarlo de *P. maximinoi*. Otras especies, como *P. devoniana* y *P. pseudostrobus* presentaron intrusiones hipodermales con respecto a otras especies que fueron evaluadas como *P. greggi* y *P. patula* (Espinoza-pelcastre, Gernandt, and Arce-cervantes 2018). En *P. pinceana* y *P. teocote* el número de los canales resiníferos fue consistente en las muestras del estado de Hidalgo y Guerrero, respectivamente (Espinoza-pelcastre, Gernandt, and Arce-cervantes 2018; Ortiz-Martínez and Gernandt 2016). Se ha mencionado que el número de los canales resiníferos tiene una estrecha relación con el medio ambiente (Helmers, 1943) y que algunas acículas pueden no tener canales resiníferos, por ejemplo, *P. leiophylla* (Ortiz-Martínez and Gernandt 2016), pero dicha condición no está asociada con ninguna especie en particular. Finalmente, el número de canales resiníferos, al ser altamente variable, no puede tomarse como elemento sistemático (Martínez, 1945).

6.3 Modelos de nicho ecológico: paleodistribución climática

La especie *P. patula* generalmente se encuentra en sitios templados, subtropicales o húmedos, con precipitación anual de 1000 a 2200 mm y con una altitud de (1400) 1800-2800 (3300) m (Farjon & Styles, 1997). Este estudio es el primero en determinar y comparar diferentes escenarios del nicho ecológico basado en clima del pasado (Interglacial, Pleistoceno, Holoceno) para las dos variedades de *P. patula*. Los modelos obtenidos mostraron un desempeño alto de acuerdo con los resultados de partial ROC (Peterson, Papeş, and Soberón 2008). Aunque, detectamos diferencias climáticas en ambas variedades, es necesario utilizar otros métodos para evaluar las hipótesis de divergencia del nicho y/o conservadurismo de nicho (Ortiz-Medrano et al. 2016), sobre todo en especies que tienen una divergencia reciente (Peterson 2011). Por ejemplo, para determinar si dos especies son diferentes o similares en su nicho se han utilizados medidas para cuantificar el solapamiento de los nichos; la D de Schoener y la distancia de Hellinger. En ambos estadísticos el 0 equivale a que no existe solapamiento de nicho y el 1 a nichos idénticos (Warren, Glor, and Turelli 2010). En estudios recientes se han utilizado estos métodos para evaluar si las especies han divergido en su nicho ecológico (Aguirre-Gutiérrez et al. 2015; Ortiz-Medrano et al. 2016).

Un estudio llevado a cabo en *P. patula* var. *patula* utilizó las variables derivadas de la base de datos WorldClim (Hijmans et al. 2005) para predecir la distribución de las especies para el año 2050, debido a los impactos del cambio climático (van Zonneveld et al. 2009). Las variables climáticas que mejor definieron el hábitat natural de *P. patula* fueron la temperatura máxima del mes más frío, precipitación anual, precipitación del mes más seco, estacionalidad en la temperatura y rango anual de la temperatura. Sin embargo, en el caso de *P. patula* var. *patula*, las variables que mejor contribuyeron para conocer su distribución potencial fueron la temperatura del mes más cálido (44.9%), temperatura del trimestre más seco (17.4%), precipitación del trimestre más seco (14%) y precipitación anual (9.5%). Los resultados distintos obtenidos pueden deberse a que se utilizó información del estado de Guerrero.

La contribución climática con mayor porcentaje en *P. patula* fue la temperatura media y la temperatura máxima del mes más húmedo (Bio 2 y Bio 5), mientras que para la variedad de la Sierra Madre del Sur fue la estacionalidad de la temperatura y el rango de temperatura media anual (Bio 4 y Bio 7). La importancia de la estacionalidad radica en que conduce a la variación adaptativa dentro y entre especies de clima templado (Bonebrake and Mastrandrea 2010; Williams and Jackson 2007). En Norte América, por ejemplo, la estacionalidad incremento después del Último Máximo Glacial, lo cual podría explicar los cambios observados en la adaptación a las condiciones estacionales (Williams and Jackson 2007). Aunado a esto, se ha encontrado que las diferencias en la estacionalidad facilitan la diferenciación de caracteres en otras especies de *Pinus*, incluyendo el tamaño de la semilla, el año reproductivo, liberación del polen y las tasas de establecimiento y crecimiento de las plantulas (Bolte 2017).

Cuadro 8. Variables de temperatura y precipitación que fueron utilizados en las variedades para modelar escenarios del clima en tiempos pasado y presente, (√) variable que contribuye al modelo de nicho ecológico y (x) variable que no contribuye al modelo de nicho ecológico.

Variable/Variedad	<i>P. patula</i> var. <i>patula</i>	<i>P. patula</i> var. <i>longipedunculata</i>
Rango de temperaturas diurnas	√	x
Estacionalidad en la temperatura	x	√
Temperatura máxima del mes más cálido	√	x
Rango anual de temperatura	√	√
Temperatura media del trimestre más lluvioso	x	√
Temperatura media del trimestre más seco	√	x
Temperatura media del trimestre más cálido	x	√
Temperatura media del trimestre más frío	x	√
Precipitación anual	√	√
Estacionalidad en la precipitación	√	x
Precipitación del trimestre más seco	√	x
Precipitación del trimestre más cálido	x	√
Precipitación del trimestre más frío	√	x

Los sistemas de información geográfica en combinación con otras herramientas analíticas han permitido evaluar los requerimientos climáticos de las especies (Kozak, Graham, and Wiens 2008). La especie *P. patula* presenta una distribución de norte a sur en México. La mayor distribución es encontrada en la variedad *P. patula* var. *patula* en el Norte, Centro y Sur (Oaxaca), donde la topografía y el clima es variado, mientras que en *P. patula* var. *longipedunculata* la distribución está restringida a Guerrero y Oaxaca. Los métodos de SIG hacen posible modelar los patrones espaciales de los requerimientos climáticos para los organismos, basado en las distribuciones actuales y la proyección de las condiciones estimadas mapeadas de los climas del pasado (Carstens and Richards 2007; Hugall et al. 2002; Kozak, Graham, and Wiens 2008; Peterson, Bauer, and Mills 2004) para conocer hipotéticamente el movimiento del área accesible donde pudo haber estado presente.

Nuestros modelos para ambas variedades proporcionaron información sobre la posibilidad de cambios en el área geográfica ocupada y del clima favorable para su distribución. La hipótesis planteada sobre la dinámica de la distribución geográfica del pasado podría explicar la variación genética detectada en la Sierra Madre Oriental y del Sur. Las predicciones de los modelos CCSM soportan el aumento y reducción de *P. patula* durante los períodos del pasado, lo cuál ha sido encontrado en otras especies de plantas (Ramírez-Barahona and Eguiarte 2013; Ruiz-Sanchez and Specht 2013). La diversidad genética en *P. patula* fue alta dentro de las poblaciones. Este patrón es posiblemente el resultado de grandes tamaños de las poblaciones y la conectividad entre poblaciones de la Sierra Madre Oriental y del Sur. Las diferencias observadas en la distribución geográfica en las variedades hoy en día, podría indicar que estuvieron sujetas a fluctuaciones del área geográfica (Carstens and Richards 2007), ya que, las fluctuaciones pudieron haber sido un factor clave que afecto la distribución de la variación genética de las especies

(Carnaval, Hickerson, and Haddad 2009). Sin embargo, es necesario obtener una clara imagen en cómo el cambio del clima ejerció efecto en la genética de poblaciones de las especies (Ramírez-Barahona and Eguiarte 2013).

6.4 Relaciones genéticas y variación genética entre poblaciones

La distancia genética entre poblaciones de *P. patula* var. *patula* fue variable, desde 0.073 hasta 0.230. Hay una distancia grande entre la variedad anterior y *P. patula* var. *longipedunculata*. Las distancias de (Nei 1978) varían de 0.15 a 0.24. Los valores estimados de la diversidad genética son congruentes a las conclusiones obtenidas para *P. greggii* (Parraguirre-Lezama et al. 2002) en el sentido de que existe una fuerte influencia de la deriva genética debido al aislamiento de las poblaciones naturales.

Las relaciones genéticas recuperadas a partir de nuestros datos siguieron un patrón geográfico definido en las poblaciones de *P. patula* var. *longipedunculata*. La topología del árbol N-J (Anexo IV) sugiere una asociación entre las relaciones evolutivas y geográficas de las localidades de *P. patula*. Un grupo corresponde a una localidad de *P. patula* var. *patula* de Veracruz y *P. patula* var. *longipedunculata* de Ixtlán de Juárez, Oaxaca. Esto ha sido visto también, por ejemplo, en *P. oocarpa* donde un grupo corresponde a una provincia de México y otro de Guatemala (W. S. Dvorak et al. 2009). La especie *P. oocarpa* es de amplia distribución geográfica que va desde la Sierra Madre Occidental hasta Guatemala, Honduras, El Salvador y noroeste de Nicaragua (W. S. Dvorak et al. 2009). En esta especie tres grupos fueron encontrados, *P. oocarpa* (Sur-México), *P. oocarpa* (centro y norte de México) y *P. oocarpa* (América Central) (W. S. Dvorak et al. 2009). Nuestros análisis de componentes principales también muestran un patrón sobre la diferenciación entre una población del estado de Oaxaca, que no se encuentra relacionado con las otras poblaciones de la Sierra Madre del Sur, sino con las poblaciones de la Sierra Madre Oriental. Este patrón se ha encontrado en otros estudios, donde la hipótesis que resalta es que puede ser debido a una migración de norte a sur durante el Pleistoceno (Corona, Toledo, and Morrone 2007; Sánchez-Sánchez et al. 2012). Esto ha sido atribuido en parte a que las provincias de la Sierra Madre Oriental y del Sur funcionaron como corredores naturales para las comunidades de plantas y animales. Además de que el registro fósil mostró un incremento de los bosques tropicales (Lozano-Garcial and Vizquez-Selem 2005) que resultó en las contracciones de estos bosques en las montañas de altitudes grandes (Mastretta-Yanes et al. 2015; Ramírez-Barahona and Eguiarte 2013).

Cuadro 9. Parámetros genéticos de diferentes marcadores en *Pinus* subsección *Australes*.

Especie o variedad (no. de poblaciones)	Alelos privados	No alelos efectivos	% loci polimorficos	Ho	He	Marcador molecular	Referencia
<i>P. caribaea</i> var. <i>hondurensis</i> (2)	-	-	-	0.422(0.216)	0.465(9.235)	6 microsatélites nucleares	(Delgado et al. 2011)
<i>P. echinata</i> (15)	-	-	-	Este,0.164 Oeste, 0.186	Este,0.186 Oeste,0.190	23 isoenzimas	(Raja et al. 1998)
<i>P. echinata</i> (12)	-	Este,1.25 Oeste, 1.24	65.87	-	Este,0.15 Oeste,0.15	794 polimorfismosen la longitud de fragmentos amplificados	(Xu, Tauer, and Nelson 2008)
<i>P. greggii</i> (19)	-	-	Sur,30.01 Norte,34.07	Sur,0.087 Norte,0.087	Sur,0.115 Norte,0.133	14 isoenzimas	(Parraguierre-Lezama et al. 2002)
<i>P. occidentalis</i> (4)	-	5.521	-	-	0.839	8 microsatélites de cloroplasto	(de Francisco 2016)
<i>P. oocarpa</i> (50)	-	-	-	-	0.635	11 microsatélites nucleares	(W. S. Dvorak et al. 2009)
<i>P. palustris</i> (23)	-	-	62.1	39.5	0.103	24 aloenzimas	(Schmidting and Hipkins 1998)
<i>P. pungens</i> (20)	-	1.39	58.3	0.216(0.010)	0.204(0.011)	21 aloenzimas	Gibson & Hamrick (1990)
<i>P. patula</i> var. <i>patula</i> (10)	8	1.20	38.66	0.144	0.115	112 polimorfismos de nucleótido único nucleares	Este estudio
<i>P. patula</i> var. <i>longipedunculata</i> (5)	3	1.20	35	0.122	0.118	112 polimorfismos de nucleótido único nucleares	Este estudio
<i>P. radiata</i> (7)	-	-	48.4	0.089	0.091	31 aloenzimas	(Moran and Bell 1987)
<i>P. radiata</i> (18)	-	7.2	-	0.87	0.83	5 microsatélites	(Espinoza et al. 2012)
<i>P. taeda</i> (11)	-	Este, 1.21 Oeste, 1.19	46.68	-	Este, 0.13 Oeste, 0.10	303 polimorfismosen la longitud de fragmentos amplificados	(Xu, Tauer, and Nelson 2008)
<i>P. taeda</i> (188)	-	-	-	-	0.72	23 microsatélites nucleares	(A. J. Eckert et al. 2010)
<i>P. taeda</i> (188)	-	-	-	-	0.25	3029 polimorfismos de nucleótido único nucleares	(A. J. Eckert et al. 2010)

6.5 Evaluación y exploración de la estructura genética

En nuestro estudio se han detectado valores atípicos de la F_{ST} en las poblaciones de *P. patula* (-0.448 a -0.566). Se ha utilizado ampliamente los índices de fijación, el coeficiente de estructura genética entre poblaciones $F_{ST} = 1 - HS/HT$, coeficiente de endogamia de poblaciones ($F_{IS} = 1 - HI/HS$) y coeficiente de endogamia total ($F_{IT} = F_{IS} + [(1-F_{IS}) F_{ST}]$) (Wright, 1951). Estos valores atípicos (valores negativos) en F_{IS} , sugiere que fuerzas evolutivas como la selección balanceadora estén actuando en estos loci. Los valores atípicos altos han sido encontrados en otro estudio de *P. patula* en una localidad de Oaxaca (Sánchez-García, 2015), donde sus valores oscilan en -0.094 a -0.607.

En ocasiones la estructura genética ha sido evaluada en regiones donde se tiene el conocimiento o la sospecha de que existen diferencias genéticas. Cuando los datos genéticos fueron analizados en STRUCTURE la mayoría de los individuos mostraron ancestría mezclada; aunque, los individuos de la Sierra Madre del Sur, específicamente las poblaciones de Guerrero se asignaron correctamente al grupo en particular (Figura 13). De la misma manera, cuando toda la información genética de la Sierra Madre Oriental y del Sur fue analizada en PCoA se detectaron tres agrupamientos genéticos, siendo las poblaciones de Guerrero las que mejor concordaron con la geografía (Figura 10).

Cuadro 10. Información de la estructura genética en diferentes especies de *Pinus* subsección *Australes*, a partir de los índices de fijación F.

Especie o variedad	FIS	FIT	FST	Marcador molecular	Referencia
<i>P. caribaeae</i> var. <i>hondurensis</i>	0.053	-	-	microsatélites nucleares	(Delgado et al. 2011)
<i>P. echinata</i>	0.018	0.105	0.089	isoenzimas	(Raja et al. 1998)
<i>P. greggii</i>	0.271	0.547	0.379	isoenzimas	(Parraguierre-Lezama et al. 2002)
<i>P. occidentalis</i>	-	-	0.198-0.384	microsatélites de cloroplasto	(de Francisco 2016)
<i>P. palustris</i>	- 0.002	0.039	0.04	aloenzimas	(Schmidtling and Hipkins 1998)
<i>P. patula</i> var. <i>patula</i>	- 0.015	0.299	0.312	polimorfismos de nucleótido único nucleares	Este estudio
<i>P. patula</i> var. <i>longipedunculata</i>	- 0.062	0.141	0.205	Polimorfismos de nucleótido nucleares	Este estudio
<i>P. pungens</i>	0.081	0.198	GST=0.135	aloenzimas	Gibson and Hamrick (1990)
<i>P. radiata</i>	-	-	0.04	microsatélites	(Espinoza et al. 2012)

La interpretación de la estructura y los patrones de distribución de la diversidad genética han sido objetivos de la ecología molecular y genética de poblaciones (Manel and Holderegger 2013). Estos patrones llegan a ser mas predecibles cuando la estructura genética concuerda con la estructura geográfica (Holderegger and Wagner 2006). Los individuos de *P. patula*, no estuvieron claramente asignados geográficamente, sobre todo, los de la Sierra Madre Oriental; aunque, Sierra la Encantada (Morelos) y Gómez Farías (Tamaulipas) se mostraron diferentes genéticamente (Figura 10). Las poblaciones en las que no concordó la geografía fueron Zacuiltapán, Hidalgo y San Bartolo, Hidalgo. Este patrón fue encontrado también en poblaciones de la Sierra Madre del Sur, donde Ixtlán de Juárez mostró una relación genética más fuerte a las poblaciones de la Sierra Madre Oriental (Anexo IV). Este patrón ha sido observado en otros organismos, en las mismas sierras, donde se ha mencionado que esto puede ser debido a una migración de norte a sur durante el Pleistoceno (Corona, Toledo, and Morrone 2007).

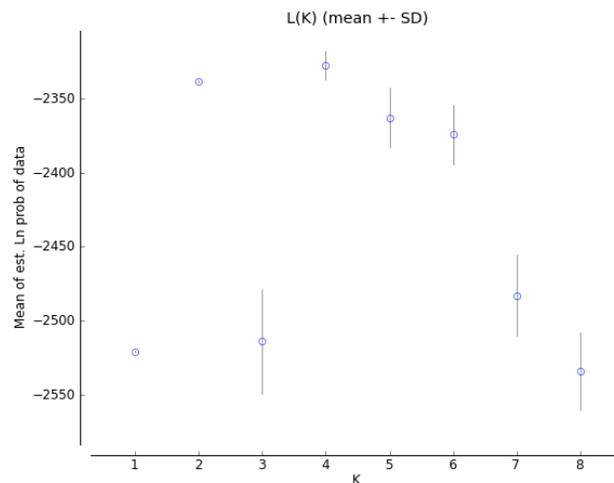


Figura 14. Asignamiento de los individuos en $K=4$ utilizando la información de la probabilidad media (Ln).

Esta asociación entre ambas provincias biogeográficas es una tendencia común que refleja el hecho de que estas dos provincias funcionaron como corredores para las comunidades de plantas y animales durante los sucesivos eventos climáticos (McDonald, 1993). Nuestros datos también detectaron subestructura genética en las poblaciones de la Sierra Madre Oriental en el ACoP (Figura 10) y en STRUCTURE (Figura 14) cuando la información molecular de la Sierra Madre del Sur fue excluida. Ambos análisis concordaron con cuatro agrupamientos genéticos y esto corroboró la hipótesis planteada en el trabajo sobre la estructura a nivel local. En estudios recientes sobre todo en especies de amplia distribución se han encontrado patrones de diferenciación genética a nivel regional (Liu et al. 2016; Rodríguez-Banderas et al. 2009).

6.7 Historia filogeográfica de *Pinus patula* a partir de datos nucleares

La provincia biótica de la Sierra Madre del Sur es geológicamente la más compleja de todas las provincias de México, lo que ha permitido una gran heterogeneidad de hábitats y el desarrollo de una biota muy diversa (Navarro 1993). La Sierra Madre del Sur y la Sierra Madre Oriental han sido consideradas como componentes transicionales que representa parte de los límites entre dos grandes regiones biogeográficas y que debido a la mezcla biótica ha permitido la interacción de cenocrones neárticos, neotropicales y endémicos (Escalante, Rodríguez, and Morrone 2004; Morrone 2005, 2017; Zink, Blackwell-Rago, and Ronquist 2000).

Aunque pocos datos detallan cambios de clima en México durante el Pleistoceno (Metcalf et al. 2000), la evidencia disponible sugiere que las condiciones en el centro y norte de México fueron más húmedas y frías durante el Último Máximo Glacial de lo que es ahora. Se han propuesto tres avances glaciales y, también altos niveles de erosión debido al aumento de la humedad en los siguientes tiempos: 36,000-32,000 años antes del presente, 12,000 años antes del presente y 10,000-8,500 años antes del presente (Heine 1994), y se ha reportado que durante episodios post-glaciales los bosques montañosos se contrajeron en las altas montañas (Metcalf et al. 2000). Estas contracciones y expansiones de las poblaciones pudieron haber causado reducción en la diversidad genética y aumentar la diferenciación genética entre las poblaciones (Petit et al. 2003).

La historia después del Pleistoceno fue posiblemente complicada, consistiendo en fases repetidas de expansiones y contracciones, y asociadas con fluctuaciones del clima, como se ha reportado en *Pseudotsuga menziesii* (Gugger et al. 2011; T. R. Pennington, Prado, and Pendry 2000). No obstante, después del máximo glacial, el incremento de la temperatura en el mundo trajo mayor lluvia en el área (Halffter 1987). Aunque las formaciones glaciales en los volcanes mexicanos ocurrieron durante periodos más cálidos (entre 12,000-10,000 años), los glaciares de montañas tropicales se formaron en un periodo comprendido entre el máximo glacial y el máximo interglacial, y caracterizado por periodos secos (Halffter 1987). También se ha sugerido que los periodos interglaciares del Plioceno-Pleistoceno, la intensa actividad del vulcanismo y la conformación geomorfológica del Eje Neovolcánico Transveral, pudieron influir para que las poblaciones de *P. hartwegii* experimentaran en repetidas ocasiones ciclos verticales de expansión y contracción

durante este periodo. De esta manera se reforzó la idea de que las poblaciones de *P. hartwegii* han experimentado crecimientos rápidos en tiempos recientes (Obregón Molina 2010). Nuestro análisis estadístico DIYABC prefirió un escenario en el cual se puso a prueba una expansión de la población ancestral en el Holoceno (c. 10,000 años), posiblemente a partir de tamaños efectivos poblacionales pequeños que pudieron haber fijado alelos diferentes en la Sierra Madre del Sur (Cuadro 5). El eje Neovolcánico y la Sierra Madre del Sur han sido catalogadas como regiones en las que las fluctuaciones del clima del Pleistoceno al Holoceno fueron importantes para la estructura genética y la divergencia de las poblaciones (Metcalfe et al. 2000). Estas hipótesis han sido probadas recientemente, ya que, los pinos se han caracterizado por cambios demográficos en los períodos que van del Pleistoceno al Holoceno (Norris, Betancourt, and Jackson 2016; Potter et al. 2015; Rodríguez-Banderas et al. 2009). Otros procesos filogeográficos post-glaciales por ejemplo en *Pinus strobus* a partir de modelos ABC sugirieron que la especie se expandió hacia el norte de Norte América a lo largo de dos rutas de recolonización de un solo refugio localizado en el sur de Norte América (Zinck and Rajora 2016). En *Pseudotsuga menziessi* se ha reportado a través de DNA de plasto expansion poblacional durante la glaciación de Wisconsin, la cual es previa a la entrada del Holoceno (Gugger et al. 2011). Por otra parte, en *Picea chihuahuana*, *Pinus leiophylla* y *P. strobiformis* en la Sierra Madre Occidental se ha concluido que los patrones de flujo génico fueron posibles a las expansiones de las poblaciones en el pasado (Jaramillo-Correa et al. 2006; Moreno-Letelier and Piñero 2009; Rodríguez-Banderas et al. 2009).

VII CONCLUSIONES

Basado en la información morfométrica de las variedades, las poblaciones de la Sierra Madre del Sur son diferentes a las de la Sierra Madre Oriental en el número de acículas, longitud y ancho del pedúnculo y ancho de la semilla.

La distribución geográfica de las variedades en función de los modelos de nicho climático del pasado, indican que ambas especies mostraron diferencias en el área ocupada, aunque en las proyecciones actuales muestran un contacto secundario reciente.

Pinus patula tiene una gran diversidad genética, así como alto grado de subestructura genética dentro de cada variedad. La Sierra Madre Oriental mostró una mayor variación genética. No obstante, el mayor número de alelos privados se encontró en la Sierra Madre del Sur.

En lo que respecta a la variación genética neutral, los análisis bayesianos indican que las poblaciones de *P. patula* han expandido su área geográfica durante el Pleistoceno-Holoceno.

A partir de la información genética neutral pudimos detectar una divergencia reciente (Holoceno) de las pozas genéticas de *P. patula* var. *longipedunculata* de *P. patula* var. *patula*.

Las expansiones post-glaciales pudieron haber jugado un rol importante en la diferenciación genética de las poblaciones de Guerrero y Oaxaca. Estas expansiones pudieron haber estado asociadas con la colonización potencial de la especie debido a la alta producción de semillas y su tolerancia a distintos ambientes, lo que la hace una de las especies más ampliamente distribuidas en México.

LITERATURA CITADA

- Aguillon, Stephanie M. et al. 2017. "Deconstructing Isolation-by-Distance: The Genomic Consequences of Limited Dispersal." *PLoS Genetics* 13(8): 1–27.
- Aguirre-Gutiérrez, Jesús et al. 2015. "Similar but Not Equivalent: Ecological Niche Comparison across Closely-Related Mexican White Pines." *Diversity and Distributions* 21(3): 245–57.
- Anderson, Robert P, Daniel Lew, and A. Townsend Peterson. 2003. "Evaluating Predictive Models of Species' Distributions: Criteria for Selecting Optimal Models." *Ecological Modelling* 162(3): 211–32.
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304380002003496>.
- Ann, Willyard et al. 2007. "Fossil Calibration of Molecular Divergence Infers a Moderate Mutation Rate and Recent Radiations for Pinus." *Molecular Biology and Evolution* 24(1): 90–101.
- Arroyo-Cabrales, Joaquín, et al. 2008. "La Diversidad En El Pasado." *Uv.Mx I*: 227–62. <http://www.uv.mx/personal/tcarmona/files/2010/08/Arroyo-et-al-2008.pdf>.
- Bartish, Igor V., Joachim W. Kadereit, and Hans Peter Comes. 2006. "Late Quaternary History of *Hippophaë Rhamnoides* L. (Elaeagnaceae) Inferred from Chalcone Synthase Intron (Chsi) Sequences and Chloroplast DNA Variation." *Molecular Ecology* 15(13): 4065–83.
- Beaumont, Mark A. 2010. "Approximate Bayesian Computation in Evolution and Ecology." *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 41(1): 379–406. <http://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev-ecolsys-102209-144621>.
- Bolte, Constance. 2017. "NICHE CONSERVATISM OR DIVERGENCE: INSIGHTS INTO THE EVOLUTIONARY HISTORIES OF *Pinus Taeda*, *Pinus Rigida*, AND *Pinus Pungens*." <http://scholarscompass.vcu.edu/etd/4842>.
- Bonebrake, Timothy C., and Michael D. Mastrandrea. 2010. "Tolerance Adaptation and Precipitation Changes Complicate Latitudinal Patterns of Climate Change Impacts." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 107(28): 12581–86. <http://www.pnas.org/lookup/doi/10.1073/pnas.0911841107>.
- Brousseau, Louise, Matthieu Foll, Caroline Scotti-Saintagne, and Ivan Scotti. 2015. "Neutral and Adaptive Drivers of Microgeographic Genetic Divergence within Continuous Populations: The Case of the Neotropical Tree *Eperua Falcata* (Aubl.)." *PLoS ONE* 10(3): 1–23.
- Carnaval, Ana Carolina, Michael J Hickerson, and Célio F B Haddad. 2009. "Reports 27%." *Experientia* 323(February): 785–89.
- Carstens, Bryan C., and Corinne L. Richards. 2007. "Integrating Coalescent and

- Ecological Niche Modeling in Comparative Phylogeography." *Evolution* 61(6): 1439–54.
- Castellanos-Morales, Gabriela, Niza Gámez, Reyna A. Castillo-Gámez, and Luis E. Eguiarte. 2016. "Peripatric Speciation of an Endemic Species Driven by Pleistocene Climate Change: The Case of the Mexican Prairie Dog (*Cynomys Mexicanus*)." *Molecular Phylogenetics and Evolution* 94: 171–81. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ympev.2015.08.027>.
- Cayuela, Luis, Marcelino De la Cruz, and Kalle Ruokolainen. 2011. "A Method to Incorporate the Effect of Taxonomic Uncertainty on Multivariate Analyses of Ecological Data." *Ecography* 34(1): 94–102.
- Comes, Hans Peter, and Joachim W. Kadereit. 1998. "The Effect of Quaternary Climatic Changes on Plant Distribution and Evolution." *Trends in Plant Science* 3(11): 432–38.
- Cornuet, Jean Marie et al. 2014. "DIYABC v2.0: A Software to Make Approximate Bayesian Computation Inferences about Population History Using Single Nucleotide Polymorphism, DNA Sequence and Microsatellite Data." *Bioinformatics* 30(8): 1187–89.
- Corona, Angélica Ma, Víctor H. Toledo, and Juan J. Morrone. 2007. "Does the Trans-Mexican Volcanic Belt Represent a Natural Biogeographical Unit? An Analysis of the Distributional Patterns of Coleoptera." *Journal of Biogeography* 34(6): 1008–15.
- Cuenca, Argelia, Ana Elena Escalante, and Daniel Piñero. 2003. "Long-Distance Colonization, Isolation by Distance, and Historical Demography in a Relictual Mexican Pinyon Pine (*Pinus Nelsonii* Shaw) as Revealed by Paternally Inherited Genetic Markers (CpSSRs)." *Molecular Ecology* 12(8): 2087–97.
- Delgado, Patricia et al. 2011. "Genetic Variation and Demographic Contraction of the Remnant Populations of Mexican Caribbean Pine (*Pinus Caribaea* Var. *Hondurensis*: Pinaceae)." *Annals of Forest Science* 68(1): 121–28.
- Donahue, Jeffrey K., and Javier Lopez-Upton. 1996. "Geographic Variation in Leaf, Cone and Seed Morphology of *Pinus Greggii* in Native Forests." *Forest Ecology and Management* 82(1–3): 145–57.
- Dvorak, W. S., K. M. Potter, V. D. Hipkins, and G. R. Hodge. 2009. "Genetic Diversity and Gene Exchange in *Pinus Oocarpa*, a Mesoamerican Pine with Resistance to the Pitch Canker Fungus (*Fusarium Circinatum*)." *International Journal of Plant Sciences* 170(5): 609–26. <https://www.journals.uchicago.edu/doi/10.1086/597780>.
- Dvorak, W.B. et al. 2001. "Quantifying the Geographic Range of *Pinus Patula* Var *Longipedunculata* in Southern Mexico Using Morphologic and RAPD Marker Data." *The Southern African Forestry Journal* 192(1): 19–30. <http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-0035715240&partnerID=tZOtx3y1%0Ahttp://www.tandfonline.com/doi/abs/10.>

1080/20702620.2001.10434130.

- Dvorak, W S, a P Jordan, G R Hodge, and J L Romero. 2000. "Assessing Evolutionary Relationships of Pines in the Oocarpae and Australes Subections Using RADP Markers." *New Forests* 20: 163–92.
- Earl, Dent A., and Bridgett M. vonHoldt. 2012. "STRUCTURE HARVESTER: A Website and Program for Visualizing STRUCTURE Output and Implementing the Evanno Method." *Conservation Genetics Resources* 4(2): 359–61.
- Echt, Craig S. et al. 2011. "An Annotated Genetic Map of Loblolly Pine Based on Microsatellite and CDNA Markers." *BMC Genetics* 12.
- Eckert, Andrew J. et al. 2010. "Patterns of Population Structure and Environmental Associations to Aridity across the Range of Loblolly Pine (*Pinus Taeda* L., Pinaceae)." *Genetics* 185(3): 969–82.
- Eckert, Andrew J., and Rodney J. Dyer. 2012. "Defining the Landscape of Adaptive Genetic Diversity." *Molecular Ecology* 21(12): 2836–38.
- Eckert, C. G., K. E. Samis, and S. C. Loughheed. 2008. "Genetic Variation across Species' Geographical Ranges: The Central-Marginal Hypothesis and Beyond." *Molecular Ecology* 17(5): 1170–88.
- Emslie, Steven D., Larry Coats, and Eva Oleksy. 2015. "Packrat Middens and the Holocene Palaeohistory of Colorado Piñon (*Pinus Edulis*) in Western Colorado." *Journal of Biogeography* 42(3): 565–74.
- Escalante, T., G. Rodríguez, and J. Morrone. 2004. "The Diversification of Nearctic Mammals in the Mexican Transition Zone." *Biological Journal of the Linnean Society* 83: 327–39. file://localhost/Users/alan/Documents/abh/Projects/Sente Documents/Documents/Escalante, T/The diversification of Nearctic mammals in the Mexican transition zone.pdf.
- Escobar, Luis E. et al. 2013. "Ecology and Geography of Transmission of Two Bat-Borne Rabies Lineages in Chile." *PLoS Neglected Tropical Diseases* 7(12).
- Espinoza-pelcastre, Cristhian, David S Gernandt, and Oscar Arce-cervantes. "Taxonomic Identification Key with Leaf Anatomical Characters For." 9(47).
- Espinoza, S. et al. 2012. "Genetic Diversity and Differentiation of Chilean Plantations of *Pinus Radiata* D. Don Using Microsatellite DNA Markers." *Silvae Genetica* 61(6): 221–27.
- Evanno, G., S. Regnaut, and J. Goudet. 2005. "Detecting the Number of Clusters of Individuals Using the Software STRUCTURE: A Simulation Study." *Molecular Ecology* 14(8): 2611–20.
- Excoffier, Laurent, and Heidi E L Lischer. 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): 564–67.
- Fontaine, Michael C. et al. 2013. "Genetic Signature of a Range Expansion and

- Leap-Frog Event after the Recent Invasion of Europe by the Grapevine Downy Mildew Pathogen *Plasmopara Viticola*." *Molecular Ecology* 22(10): 2771–86.
- de Francisco, LE. 2016. "Caracterización de La Variabilidad de Poblaciones de *Pinus Occidentalis* Swartz En La República Dominicana Mediante El Empleo de Técnicas Morfoanatómicas y Moleculares." : 213.
- Farjon, A. 2010. "A handbook of the world's conifers". Brill, Leiden. Boston.
- Farjon, A. 2005. "Pines: drawings and descriptions of the genus *Pinus*". Brill Academic Publishers Leiden, Netherlands.
- Farjon, A. and Filer D. 2013. "An atlas of the world's conifers. An analysis of their distribution, biogeography, diversity and conservation status". Brill, Leiden.
- Farjon, A., Pérez de la Rosa, JA and Styles, BT. 1997. "Guía de campo de los pinos de México y América Central". The Royal Botanic Gardens.
- Farjon, A. and Styles, BT. 1997. "Flora Neotropica: *Pinus* (Pinaceae)". New York Botanical Garden, New York.
- Ferrusquía, VI. 1993. "Geology of Mexico: a synopsis in biological diversity of Mexico: origins and distribution". In Ramamoorthy, TP, Bye, R., Lot, A. and Fa, J. (eds.). Oxford University Press, New York and Oxford.
- Fonseca, RM. 2013. "Pinaceae". Flora de Guerrero. México: UNAM, Facultad de Ciencias.
- Friendly, M. and Fox, J. 2012. "Package Candisc. R: a language and environment for statistical computing". Vienna, Austria.
- Gernandt, David S. et al. 2008. "Use of Simultaneous Analyses to Guide Fossil-Based Calibrations of Pinaceae Phylogeny." *International Journal of Plant Sciences* 169(8): 1086–99.
<http://www.journals.uchicago.edu/doi/10.1086/590472>.
- Giuseppe, Vendramin Giovanni, Santiago C González-martínez, and Pinus Ait. 2005. "Genetic Diversity and Differentiation of Two Mediterranean Pines (*Pinus halepensis* Mill. and *Pinus pinaster* Ait.) along a ... Two Mediterranean Pines (*Pinus* along a Latitudinal Cline Using Chloroplast." *Diversity and Distributions* 11: 257–63.
- Gnrke, Andreas et al. 2009. "HHS Public Access." 27(2): 182–89.
- Godbout, Julie, Jean Beaulieu, and Jean Bousquet. 2010. "Phylogeographic Structure of Jack Pine (*Pinus banksiana*; Pinaceae) Supports the Existence of a Coastal Glacial Refugium in Northeastern North America." *American Journal of Botany* 97(11): 1903–12.
- 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.
- Gugger, Paul F. et al. 2011. "Southward Pleistocene Migration of Douglas-Fir into

- Mexico: Phylogeography, Ecological Niche Modeling, and Conservation of 'rear Edge' Populations." *New Phytologist* 189(4): 1185–99.
- Halffter, Gonzalo. 1987. "Biogeography of the Montane." *Annual Review of Entomology* 32: 95–114.
- He, Tianhua et al. 2012. "Fire-Adapted Traits of Pinus Arose in the Fiery Cretaceous." *New Phytologist* 194(3): 751–59.
- Hedrick, P. 2005. "Genetics of populations, 3rd. Ed". Jones and Bartlett, Sudbury, Massachusetts, USA.
- Heine, Klaus. 1994. "The Late-Glacial Moraine Sequences in Mexico: Is the Evidence for the Younger Dryas Event?" *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 112(1–2): 113–23.
- Hernández-León, Sergio, David S. Gernandt, Jorge A. Pérez de la Rosa, and Lev Jardón-Barbolla. 2013. "Phylogenetic Relationships and Species Delimitation in Pinus Section Trifoliae Inferred from Plastid DNA." *PLoS ONE* 8(7): 1–14.
- Hernandez-Velasco, Javier et al. 2016. "Spatial Genetic Structure in Four Pinus Species in the Sierra Madre Occidental, Durango, Mexico." *Canadian Journal of Forest Research* 47(1): 73–80.
- Hewitt, G. M. 2004. "Genetic Consequences of Climatic Oscillations in the Quaternary." *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 359(1442): 183–95.
- Hewitt, G M. 1996. "Some Genetic Consequences of Ice Ages, and Their Role in Speciation." *Biological Journal of the Linnaean Society* 58(July): 247–76. papers3://publication/uuid/B9DB7D5E-D6AE-404C-BFFC-9F8133453294.
- Hewitt, Godfrey M. 2000. "The Genetic Legacy of the Quaternary Ice Ages." *Nature* 405: 907–13.
- Hickerson, M. J. et al. 2010. "Phylogeography's Past, Present, and Future: 10 Years after Avise, 2000." *Molecular Phylogenetics and Evolution* 54(1): 291–301. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ympev.2009.09.016>.
- Hijmans, Robert J. et al. 2005. "Very High Resolution Interpolated Climate Surfaces for Global Land Areas." *International Journal of Climatology* 25(15): 1965–78.
- Hollick, A. and Jeffrey, EC. 1909. "Studies of Cretaceous formation on Staten Island". Transactions of the New York Academy of Sciences.
- Huerta, VAR. 2014. "Descripción e identificación de impresiones fósiles de coníferas del Cretácico del norte y sur de México, con énfasis en la familia Pinaceae". Tesis de licenciatura, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México.
- Holderegger, Rolf, and Helene H. Wagner. 2006. "A Brief Guide to Landscape Genetics." *Landscape Ecology* 21(6): 793–96.

- Holsinger, Kent E., and Bruce S. Weir. 2009. "Genetics in Geographically Structured Populations: Defining, Estimating and Interpreting FST." *Nature Reviews Genetics* 10(9): 639–50.
- Hugall, A., C. Moritz, A. Moussalli, and J. Stanisic. 2002. "Reconciling Paleodistribution Models and Comparative Phylogeography in the Wet Tropics Rainforest Land Snail *Gnarosiphia Bellendenkerensis* (Brazier 1875)." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 99(9): 6112–17. <http://www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.092538699>.
- Jackson, ST., and Dov F. Sax. 2010. "Balancing Biodiversity in a Changing Environment: Extinction Debt, Immigration Credit and Species Turnover." *Trends in Ecology and Evolution* 25(3): 153–60. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tree.2009.10.001>.
- Jackson, ST., Overpeck, JT., Webb, III et al. 1997. "Mapped plant-micro-fossil and pollen records of Late-Quaternary vegetation change in eastern North America". *Quaternary Science Reviews*.
- Jaramillo-Correa, Juan P. et al. 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): 2476–90.
- Jaramillo-Correa, Juan P., Jean Beaulieu, F. Thomas Ledig, and Jean Bousquet. 2006. "Decoupled Mitochondrial and Chloroplast DNA Population Structure Reveals Holocene Collapse and Population Isolation in a Threatened Mexican-Endemic Conifer." *Molecular Ecology* 15(10): 2787–2800.
- Jardón-Barbolla, Lev et al. 2011. "Phylogeography of *Pinus* Subsection *Australes* in the Caribbean Basin." *Annals of Botany* 107(2): 229–41.
- Karhu, A. et al. 2006. "Analysis of Microsatellite Variation in *Pinus Radiata* Reveals Effects of Genetic Drift but No Recent Bottlenecks." *Journal of Evolutionary Biology* 19(1): 167–75.
- Kassambara, Alboukadel, and Fabian Mundt. 2017. "Factoextra: Extract and Visualize the Results of Multivariate Data Analyses." *R package version 1*(3): 1–76. <http://www.sthda.com/english/rpkgs/factoextra%0ABugReports>.
- Kearse, Matthew et al. 2012. "Geneious Basic: An Integrated and Extendable Desktop Software Platform for the Organization and Analysis of Sequence Data." *Bioinformatics* 28(12): 1647–49.
- Kenkel, Author N C et al. 2016. "Multivariate Analysis in Weed Science Research Published by : Weed Science Society of America and Allen Press Stable URL : [Http://Www.Jstor.Org/Stable/4046571](http://www.jstor.org/stable/4046571) REFERENCES Linked References Are Available on JSTOR for This Article : You May Need to Log in To." 50(3): 281–92.
- Kozak, Kenneth H., Catherine H. Graham, and John J. Wiens. 2008. "Integrating

- GIS-Based Environmental Data into Evolutionary Biology.” *Trends in Ecology and Evolution* 23(3): 141–48.
- Lacey Knowles, L., and Diego F. Alvarado-Serrano. 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): 3727–45.
- Lê, Sébastien, Julie Josse, and François Husson. 2008. “FactoMineR: An R Package for Multivariate Analysis.” *J. of Statistical Software* 25(1): 1–18. <http://www.jstatsoft.org/v25/i01>.
- Leigh, Jessica W., and David Bryant. 2015. “POPART: Full-Feature Software for Haplotype Network Construction.” *Methods in Ecology and Evolution* 6(9): 1110–16.
- Liewlaksaneeyanawin, Cherdasak et al. 2009. “Identification of COS Markers in the Pinaceae.” *Tree Genetics and Genomes* 5(1): 247–55.
- Liston, Aaron et al. 2007. “Interspecific Phylogenetic Analysis Enhances Intraspecific Phylogeographical Inference: A Case Study in *Pinus Lambertiana*.” *Molecular Ecology* 16(18): 3926–37.
- Liu, Jun-Jun et al. 2016. “Genetic Diversity and Population Structure of Whitebark Pine (*Pinus Albicaulis* Engelm.) in Western North America.” *Plos One* 11(12): e0167986. <http://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0167986>.
- Loock, EEM. 1950. “The pines of Mexico and British Honduras”. *Bulletin Pretoria Sudáfrica*.
- López-Reyes, Alejandro, Jorge Pérez de la Rosa, Enrique Ortiz, and David S. Gernandt. 2015. “Morphological, Molecular, and Ecological Divergence in *Pinus Douglasiana* and *P. Maximinoi*.” *Systematic Botany* 40(3): 658–70. <http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-84942916426&partnerID=tZOtx3y1>.
- Lozano-Garcial, Socorro, and Lorenzo Vizquez-Selem. 2005. “A High-Elevation Holocene Pollen Record from Iztaccihuatl Volcano, Central Mexico.” *The Holocene* 15(3): 329–38. <http://journals.sagepub.com/doi/10.1191/0959683605hl814rp>.
- Manel, Stéphanie, and Rolf Holderegger. 2013. “Ten Years of Landscape Genetics.” *Trends in Ecology and Evolution* 28(10): 614–21.
- Marshall, H. Dawn, C. Newton, and K. Ritland. 2002. “Chloroplast Phylogeography and Evolution of Highly Polymorphic Microsatellites in Lodgepole Pine (*Pinus Contorta*.)” *Theoretical and Applied Genetics* 104(2–3): 367–78.
- Martínez Hernández, Enrique, and Elia Ramírez Arriaga. 1996. “Palaeocorología de Angiospermas de La Flora Mexicana Durante El Mezozoico y Terciario. Algunas Evidencias Palinológicas.” *Bol. Soc. Bot. México* 58: 87–97.

- Martínez, M. 1948. "Los pinos mexicanos, segunda edición". Universidad Nacional Autónoma de México, México, DF.
- Mastretta-Yanes, Alicia et al. 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.
- McCarter, PS. and Birks, JS. 1985. "*Pinus patula* subspecies *tecunumanii*: the application of numerical techniques to some problems of its taxonomy".
- McDonald, JA. 1993. "Phytogeography and history of the alpine-subalpine flora of northeastern Mexico". In Ramamoorthy, PT., Lot, R. Bye., Fa JA. "Biological diversity of Mexico: origins and distributions". New York Oxford University Press.
- Metcalf, Sarah E., Sarah L. O'Hara, Margarita Caballero, and Sarah J. Davies. 2000. "Records of Late Pleistocene-Holocene Climatic Change in Mexico - A Review." *Quaternary Science Reviews* 19(7): 699–721.
- Millar, CI. 1998. "Early evolution of pines". In Richardson, DM. (ed.). "Ecology and biogeography of *Pinus*". Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- Miranda, Faustino, and Efraim Hernández-X. 2016. "Los Tipos de Vegetación de México y Su Clasificación." *Botanical Sciences* (28): 29.
<http://www.botanicalsciences.com.mx/index.php/botanicalSciences/article/view/1084>.
- Mirov, NT. 1967. "The genus *Pinus*". New York: Ronald Press Co.
- Moo Llanes, David A. 2016. "Nicho Ecológico Actual y Futuro de La Leishmaniasis En La Región Neotropical." *Revista de Biología Tropical* 64(3): 1237–45.
- Moran, G. F., and J. C. Bell. 1987. "The Origin and Genetic Diversity of *Pinus Radiata* in Australia." *Theoretical and Applied Genetics* 73(4): 616–22.
- Moreno-Letelier, Alejandra, and Daniel Piñero. 2009. "Phylogeographic Structure of *Pinus Strobiformis* Engelm. across the Chihuahuan Desert Filter-Barrier." *Journal of Biogeography* 36(1): 121–31.
- Morrone, Juan J. 2017. "Regionalización Biogeográfica de La Provincia de La Sierra Madre Del Sur, México." *Revista Mexicana de Biodiversidad* 88(3): 710–14. <http://dx.doi.org/10.1016/j.rmb.2017.07.012>.
- Morrone, Juan J. 2005. "Hacia Una Síntesis Biogeográfica de México\r\nToward a Synthesis of Mexican Biogeography." *Revista Mexicana de Biodiversidad* 76(2): 207–52.
- Navarro, S. A. G. y H. Benítez. 1993. "Patrones de Riqueza y Endemismo de Las Aves." *Ciencias* 7: 45–54.
- Nei, M. 1978. "Estimation of Average Heterozygosity and Genetic Distance from a Small Number of Individuals." *Genetics* 89(3): 583–90.

- Neves, Leandro Gomide, John M. Davis, William B. Barbazuk, and Matias Kirst. 2014. "A High-Density Gene Map of Loblolly Pine (*Pinus Taeda* L.) Based on Exome Sequence Capture Genotyping." *G3: Genes/Genomes/Genetics* 4(1): 29–37. <http://g3journal.org/lookup/doi/10.1534/g3.113.008714>.
- Norris, Jodi R., Julio L. Betancourt, and Stephen T. Jackson. 2016. "Late Holocene Expansion of Ponderosa Pine (*Pinus Ponderosa*) in the Central Rocky Mountains, USA." *Journal of Biogeography* 43(4): 778–90.
- Novembre, John, and Matthew Stephens. 2008. "Interpreting Principal Component Analyses of Spatial Population Genetic Variation." *Nature Genetics* 40(5): 646–49.
- Obregón Molina, Gabriel. 2010. "Estudio Filogeográfico de *Pinus Hartwegii* Lindley (Pinaceae)." : 57.
- Olson, David M. et al. 2001. "Terrestrial Ecoregions of the World: A New Map of Life on Earth." *BioScience* 51(11): 933. <https://academic.oup.com/bioscience/article/51/11/933-938/227116>.
- Ortiz-Martínez, Alfredo, and David S. Gernandt. 2016. "Species Diversity and Plastid Dna Haplotype Distributions of *Pinus* Subsection Australes (Pinaceae) in Guerrero and Oaxaca." *Tip* 19(2): 92–101. <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1405888X1630002X>.
- Ortiz-Medrano, Alejandra et al. 2016. "Morphological and Niche Divergence of Pinyon Pines." *Ecology and Evolution* 6(9): 2886–96.
- Ortiz-Olivas, María Elena et al. 2017. "Spatial Genetic Structure within and among Seed Stands of *Pinus Engelmannii* Carr. and *Pinus Leiophylla* Schiede Ex Schldl. & Cham, in Durango, Mexico." *Forests* 8(1).
- Ospina, Carlos et al. 2011. Guías silviculturales para el manejo de especies forestales con miras a la producción de madera en la zona andina colombiana *Guías Silviculturales Para El Manejo de Especies Forestales Com Miras a La Producción de Madera En La Zona Andina Colombiana. El Pino Pátula*. <https://www.cenicafe.org/es/publications/pinus.pdf%0Ahttp://www.cenicafe.org/es/publications/pinus.pdf>.
- Otto-bliesner, Bette L et al. 2009. "Simulating Arctic Climate Warmth and Icefield Retreat in the Last Interglaciación Bette." *Science* 311(2006): 1751–55.
- Owens, Hannah L. et al. 2013. "Constraints on Interpretation of Ecological Niche Models by Limited Environmental Ranges on Calibration Areas." *Ecological Modelling* 263: 10–18. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecolmodel.2013.04.011>.
- Parraguerre-Lezama, Conrado; et al. 2002. "Estructura de La Diversidad Genética En Poblaciones Naturales de *Pinus Greggii* Englem." *Revista Fitotecnia Mexicana* 25(3): 279–87. <http://www.redalyc.org/html/610/61025308/>.
- Peakall, Rod, and Peter E. Smouse. 2012. "GenALEx 6.5: Genetic Analysis in

- Excel. Population Genetic Software for Teaching and Research-an Update." *Bioinformatics* 28(19): 2537–39.
- Pennington, R. Toby et al. 2004. "Historical Climate Change and Speciation: Neotropical Seasonally Dry Forest Plants Show Patterns of Both Tertiary and Quaternary Diversification." *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 359(1443): 515–37.
- Pennington, Toby R, Darién E Prado, and Colin A Pendry. 2000. "Neotropical Seasonally Dry Forests and Quaternary Vegetation Changes." *Journal of Biogeography* 27(2): 261–73. <http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-2699.2000.00397.x>.
- Perry, JP. 1991. "The pines of Mexico and Central America". Portland, OR: Timber Press.
- Peterson, A. Townsend. 2011. "Ecological Niche Conservatism: A Time-Structured Review of Evidence." *Journal of Biogeography* 38(5): 817–27.
- Peterson, A. Townsend, John T. Bauer, and James N. Mills. 2004. "Ecologic and Geographic Distribution of Filovirus Disease." *Emerging Infectious Diseases* 10(1): 40–47.
- Peterson, A. Townsend, Monica Papeş, and Jorge Soberón. 2008. "Rethinking Receiver Operating Characteristic Analysis Applications in Ecological Niche Modeling." *Ecological Modelling* 213(1): 63–72.
- Petit, Rémy J. et al. 2003. "Glacial Refugia: Hotspots but Not Melting Pots of Genetic Diversity." *Science* 300(5625): 1563–65.
- Phillips, Sharon B., Viney P. Aneja, Daiwen Kang, and S. Pal Arya. 2006. "Modelling and Analysis of the Atmospheric Nitrogen Deposition in North Carolina." *International Journal of Global Environmental Issues* 6(2–3): 231–52.
- Potter, Kevin M., Valerie D. Hipkins, Mary F. Mahalovich, and Robert E. Means. 2013. "Mitochondrial DNA Haplotype Distribution Patterns in *Pinus Ponderosa* (Pinaceae): Range-Wide Evolutionary History and Implications for Conservation." *American Journal of Botany* 100(8): 1562–79.
- . 2015. "Nuclear Genetic Variation across the Range of *Ponderosa Pine* (*Pinus Ponderosa*): Phylogeographic, Taxonomic and Conservation Implications." *Tree Genetics and Genomes* 11(3).
- Pritchard, Jonathan K., Matthew Stephens, and Peter Donnelly. 2000. "Inference of Population Structure Using Multilocus Genotype Data." *Genetics* 155(2): 945–59.
- Quiñones-Pérez, C. Z. et al. 2014. "Spatial Genetic Structure in the Very Rare and Species-Rich *Picea Chihuahuana* Tree Community (Mexico)." *Silvae Genetica* 63(4): 149–59.

- Raja, R. G., C. G. Tauer, R. F. Wittwer, and Y. Huang. 1998. "Regeneration Methods Affect Genetic Variation and Structure in Shortleaf Pine (*Pinus Echinata*)." *Forest genetics* 5(3): 171–78.
- Ramírez-Barahona, Santiago, and Luis E. Eguiarte. 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): 725–38.
- Ramírez, HC., Vargas, JJ., Jasso, MJ. et al., 1997. "Variación isoenzimática en diez poblaciones naturales de *Pinus greggii* Engelm". *Agrociencia* (31): 223-230.
- Reyes-Murillo, Carlos Alonso et al. 2016. "Spatial Genetic Structure in Seed Stands of *Pinus Lumholtzii* B.L. Rob. & Fernald in Durango, Mexico." *Tree Genetics and Genomes* 12(4). <http://dx.doi.org/10.1007/s11295-016-1023-x>.
- Robert, C. P., J.-M. Cornuet, J.-M. Marin, and N. S. Pillai. 2011. "Lack of Confidence in Approximate Bayesian Computation Model Choice." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 108(37): 15112–17. <http://www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.1102900108>.
- Rodríguez-Banderas, Abril, Carlos F. Vargas-Mendoza, Anna Buonamici, and Giovanni G. Vendramin. 2009. "Genetic Diversity and Phylogeographic Analysis of *Pinus Leiophylla*: A Post-Glacial Range Expansion." *Journal of Biogeography* 36(9): 1807–20.
- Rothwell, Gar W., Gene Mapes, Ruth A. Stockey, and Jason Hilton. 2012. "The Seed Cone *Eathiestrobus* Gen. Nov.: Fossil Evidence for a Jurassic Origin of Pinaceae." *American Journal of Botany* 99(4): 708–20.
- Rueda, GJ. 1967. "Contribution à l'étude palynologique et pétrographique du charbon crétacé du Bassin de Sabinas, Coahuila, Mexique: applications géologiques". Tesis de doctorado. Facultad de Ciencias. Universidad Lille, Francia.
- Ruiz-Sanchez, Eduardo, and Chelsea D. Specht. 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): 1336–47.
- Ryberg, Patricia E. et al. 2012. "Reconsidering Relationships among Stem and Crown Group Pinaceae: Oldest Record of the Genus *Pinus* from the Early Cretaceous of Yorkshire, United Kingdom." *International Journal of Plant Sciences* 173(8): 917–32. <http://www.journals.uchicago.edu/doi/10.1086/667228>.
- Saladin, Bianca et al. 2017. "Fossils Matter: Improved Estimates of Divergence Times in *Pinus* Reveal Older Diversification." *BMC Evolutionary Biology* 17(1): 1–15.

- Sánchez-García, G. 2015. "Estructura genética de *Pinus patula* Schl. et Cham. en un gradiente altitudinal en Ixtlán de Juárez, Oaxaca". Tesis de Maestría. Instituto Politécnico Nacional.
- Sánchez-Sánchez, Hermilo et al. 2012. "Phylogeography Reveals Routes of Colonization of the Bark Beetle *Dendroctonus Approximatus* Dietz in Mexico." *Journal of Heredity* 103(5): 638–50.
- Schmidting, R C, and V Hipkins. 1998. "Influence of Historical and Prehistorical Events." *Canadian Journal of Forest Research* 28(8): 1135–45.
- Schuchert, C. 1955. "Atlas of paleogeographic maps of North America". New York, John Wiley and Sons.
- Soberon, Jorge, and A. Townsend Peterson. 2005. "Interpretation of Models of Fundamental Ecological Niches and Species' Distributional Areas." *Biodiversity Informatics* 2(0): 0–10.
<https://journals.ku.edu/index.php/jbi/article/view/4>.
- Stead, JW. 1981. "Studies on the taxonomy and variation of some Central American Pines". Unpublished D.Phil. thesis. Dept. of Forestry, University of Oxford.
- Stewart, John R., Adrian M. Lister, Ian Barnes, and Love Dalén. 2010. "Refugia Revisited: Individualistic Responses of Species in Space and Time." *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 277(1682): 661–71.
- Styles, TB. 1998. "El género *Pinus*: su panorama en México". In: Ramamorthy, T P., Bye, R., Lot, A. and Fa, J. (eds.). "La diversidad biológica de México, orígenes y distribución". Instituto de Biología, UNAM, México.
- Takezaki, Naoko, Masatoshi Nei, and Koichiro Tamura. 2010. "POPTREE2: Software for Constructing Population Trees from Allele Frequency Data and Computing Other Population Statistics with Windows Interface." *Molecular Biology and Evolution* 27(4): 747–52.
- Toledo, VM. 1982. "Pleistocene changes of vegetation in tropical Mexico. Biological Diversification in the Tropics". Columbia University Press. New York.
- Viveros-Viveros, Héctor, Alfredo R Camarillo-Luna, Cuauhtémoc Sáenz-Romero, and Armando Aparicio-Rentería. 2013. "Variación Altitudinal En Caracteres Morfológicos de *Pinus Patula* En El Estado de Oaxaca (México) y Su Uso En La Zonificación." *Bosque (Valdivia)* 34(2): 11–12.
http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-92002013000200006&lng=en&nrm=iso&tlng=en.
- Wang, Jing et al. 2009. "Refugia within Refugia: The Case Study of a Canopy Tree (*Eurycorymbus Cavaleriei*) in Subtropical China." *Journal of Biogeography* 36(11): 2156–64.
- Warren, Dan L., Richard E. Glor, and Michael Turelli. 2010. "ENMTools: A Toolbox

for Comparative Studies of Environmental Niche Models." *Ecography* 33(3): 607–11.

Whitmore, J. 2004. "North American and Greenland modern pollen data for multi-scale paleoecological and paleoclimatic applications". The School of Graduate and Postdoctoral studies in partial fulfillment for the degree of Master of Science in Geography.

Williams, John W., and Stephen T. Jackson. 2007. "Novel Climates, No-Analog Communities, and Ecological Surprises." *Frontiers in Ecology and the Environment* 5(9): 475–82.

Xu, Shiqin, C. G. Tauer, and C. Dana Nelson. 2008. "Genetic Diversity within and among Populations of Shortleaf Pine (*Pinus Echinata* Mill.) and Loblolly Pine (*Pinus Taeda* L.)." *Tree Genetics & Genomes* 4(4): 859–68.
<http://link.springer.com/10.1007/s11295-008-0158-9>.

Zinck, John W.R., and Om P. Rajora. 2016. "Post-Glacial Phylogeography and Evolution of a Wide-Ranging Highly-Exploited Keystone Forest Tree, Eastern White Pine (*Pinus Strobus*) in North America: Single Refugium, Multiple Routes." *BMC Evolutionary Biology* 16(1): 1–17.
<http://dx.doi.org/10.1186/s12862-016-0624-1>.

Zink, Robert M., Rachelle C. Blackwell-Rago, and Fredrik Ronquist. 2000. "The Shifting Roles of Dispersal and Vicariance in Biogeography." *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 267(1442): 497–503.

van Zonneveld, Maarten et al. 2009. "Climate Change Impact Predictions on *Pinus Patula* and *Pinus Tecunumanii* Populations in Mexico and Central America." *Forest Ecology and Management* 257(7): 1566–76.

Anexo I. Matriz de los nombres de los genes filtrados y SNPs analizados en este trabajo.

SNP/Muestra	1/POB1	2/POB1	1/PO B2	2/POB 2	3/POB2	1/POB3	2/POB3	3/POB3	4/POB3	5/POB3
SNP_0683	AA	AG	AG	AG	AA	AA	AG	GG	AA	GG
SNP_01568	AA	AG	AA	AA	AA	AG	AA	GG	AG	GG
SNP_01710	TT	TT	TT	TC	TT	CC	TT	TT	TT	TT
SNP_02157	TT	TT	TT	TT	TT	TC	TT	TT	TT	TT
SNP_02381	GG	GG	GG	GG	GT	GG	GG	GG	GG	GG
SNP_02791	CC	CC	CC	CC	CA	CC	CC	CC	CC	CC
SNP_02844	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA
SNP_02902	AA	AA	AA	AA	AA	AT	AT	AA	AT	AT
SNP_03006	GG	GG	GA	GA	GG	GA	GG	GG	GG	GG
SNP_03243	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG
SNP_3458	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CC
SNP_3600	GG	GG	GG	GG	GG	GA	GG	GG	GG	AA
SNP_3995	TT	GG	TG	TT	TT	TT	TT	TT	TT	GG
SNP_5024	AT	AA	AT	AA	AA	AA	AA	AA	AA	TT
SNP_5550	AA	CC	AC	AC	AC	AC	AA	AA	AA	AA
SNP_5832	CG	CG	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CC
SNP_5918	TT	TT	TC	TT	TC	TC	TT	TT	TT	TT
SNP_6364	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TA	TT	TT	TT
SNP_6366	TT	TT	TT	TT	GG	TT	GG	GG	GG	GG
SNP_8773	TT	TT	TT	CC	TC	TT	TC	TT	TT	TT
SNP_8868	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA
SNP_8914	AA	AA	AA	AA	AA	AT	AA	AA	AA	AA
SNP_9317	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GC
SNP_9382	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CC
SNP_9570	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TC	TT	TT	TT
SNP_9808	TT	TT	GG	GG	TT	TG	TT	TT	TT	TT
SNP_10104	GG	GG	AG	AG	AA	AA	AA	GG	AA	GG
SNP_10453	GT	GT	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG
SNP_10770	AA	AA	AT	AT	AA	AA	AA	AT	AA	AT
SNP_11017	CC	CC	CC	CC	CC	CT	CC	CC	CC	CC
SNP_11386	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA
SNP_11821	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG
SNP_11936	CC	CC	TT	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CC
SNP_12211	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT
SNP_12310	CC	CC	GG	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CC
SNP_12721	GG	GC	GG	GG	GG	GG	GG	GC	GG	GG
SNP_12949	AA	AA	TT	AT	AA	TT	AA	TT	AA	TT
SNP_13031	TT	CC	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT
SNP_13089	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CC
SNP_13245	AA	AG	AG	AG	AA	AG	AA	AG	AA	AG
SNP_13256	GA	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG
SNP_13302	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AT	AA	AA	AA

SNP_13609	TT									
SNP_14502	AA									
SNP_14567	GG	GG	GG	GG	GG	GT	GG	GG	GG	GG
SNP_14573	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CT	CC	CC	CC
SNP_14649	TT	TC	TT	TT	TC	TT	TT	TT	TT	TT
SNP_14894	AA	AA	AA	AC	AA	AA	AA	AA	AA	AA
SNP_15125	CC									
SNP_15253	AA	AA	AA	AA	AC	AA	AC	AA	AA	AC
SNP_15739	GG	GT	GG	TT	GG	TT	GG	TT	GG	TT
SNP_15938	TT	TT	CC							
SNP_16257	TT									
SNP_16446	AA									
SNP_16486	TT	TT	TG	TT	TT	TT	TT	TT	TT	GG
SNP_16729	TT	TT	TT	TT	TT	TC	TT	CC	TT	TT
SNP_16743	CC	TT	CC	CC	CC	CC	CT	CC	CC	CC
SNP/SN	AA	AA	AG	AA	AA	AG	AA	AA	AA	AA
SNP_17396	AA									
SNP_18079	AA									
SNP_18170	GG									
SNP_18399	AA									
SNP_18897	GG									
SNP_2613	CC	CC	CT	CT	CC	CC	CC	CT	CC	CT
SNP_21845	CT	CT	CC							
SNP_21973	CC									
SNP_22125	CC									
SNP_22270	GG	CC								
SNP_2559	CT	CC								
SNP_23592	TT	TT	TC	TC	TT	TT	TT	TT	TT	TT
SNP_23890	GG	GG	GC	GC	GG	CC	GG	GG	GG	CC
SNP_24035	AT	TT	AA	AA	AA	AA	AA	TT	AA	AA
SNP_25199	TT									
SNP_25632	AA	AA	GG							
SNP_25887	CC									
SNP_26379	TT									
SNP_26560	TT									
SNP_27121	AA	GG								
SNP_27671	TG	TT								
SNP_27710	GG	TT								
SNP_27725	CC									
SNP_28831	AA									
SNP_29148	AA									
SNP_29404	TT	TT	TC	TC	TT	TC	TT	TC	TT	TC
SNP_29666	TT	TG	TT	TG	TT	TT	TG	GG	TG	TT
SNP_29677	CC	CC	GG	CC	GC	GC	GG	GG	GG	GG
SNP_210140	CC	CG	CC	CG	CC	CG	CC	CC	CG	CG
SNP_210246	TC	TC	TC	TT						

SNP_210285	TT									
SNP_210478	CC	CA	CC							
SNP_210527	CC	CC	CA	CC	CC	CA	CC	CC	CC	CC
SNP_EU309973	TT	TT	TT	TC	TT	TC	TT	TT	TT	TT
SNP_EU309971	TA	TA	TT							
SNP_UMT1185	GG	GG	GG	GA	GG	GG	GG	GG	GG	GG
SNP_2672	TT	TT	TA	TA	AA	AA	TT	AA	TT	AA
SNP_2824	TT	TT	TT	TT	TC	TT	TC	TT	TT	TT
SNP_3547	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AC	CC	AA	AA
SNP_3554	CC	CC	CC	CC	CC	CA	CC	CC	CC	CC
SNP_4514	GG	GT	GT	GG	GG	GT	GG	TT	GG	TT
SNP_5774	CT	CT	CC	CC	CC	CT	CC	CC	CT	CC
SNP_6729	CC	CC	CC	CT	CC	CC	CC	CT	CC	CC
SNP_4cl	TT	TT	TC	TT						
SNP/Muestra	1/POB4	2/POB4	3/POB4	4/POB4	5/POB4	1/POB5	2/POB5	3/POB5	4/POB5	5/POB5
SNP_0683	AG	AA	AG	AA	AA	AG	AA	AG	AA	AA
SNP_01568	AG	AG	AA	GG	AG	AA	GG	AA	AA	AA
SNP_01710	TT	TC	TC	TT	TT	TT	CC	TT	TT	TT
SNP_02157	TT	TC	TT							
SNP_02381	GG	GG	GG	GG	GG	GT	GG	GG	GG	GG
SNP_02791	CC									
SNP_02844	AA	AA	AC	AA						
SNP_02902	AA	AT	AT	AT	AT	AT	AA	AT	AA	AA
SNP_03006	GA	GA	GA	GG	GA	GG	GA	GG	GA	GG
SNP_03243	GG	GC	GG							
SNP_3458	CC									
SNP_3600	GA	AA	GA	GG	GA	GG	GA	GG	GG	GG
SNP_3995	TT	GG	TT	TT	TT	TT	TT	TG	TT	TT
SNP_5024	AA	AA	AT	AA	AA	AA	AT	AT	AA	AA
SNP_5550	AA	AA	AC	AA	AA	AA	AC	AA	AA	AA
SNP_5832	CC									
SNP_5918	TC	CC	TT	TC	TC	TC	TC	TC	TC	TT
SNP_6364	TT									
SNP_6366	TT	TT	TT	GG	GG	GG	TT	GG	TT	GG
SNP_8773	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TC	TT	TT	TT
SNP_8868	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AG	AG	AG	AA
SNP_8914	AA	AA	AA	AA	AT	AA	AA	AT	AA	AA
SNP_9317	GG	CC	GG	GC	GC	GG	GC	GG	GG	GG
SNP_9382	CC	CC	CC	CG	CC	CC	CC	CC	CC	CC
SNP_9570	TT									
SNP_9808	GG	TG	TT	TT	TT	TT	TG	TT	TT	TT
SNP_10104	AG	GG	GG	AA	AG	AA	GG	AA	AG	AA
SNP_10453	GG									
SNP_10770	AT	AT	AA	AA	AT	AA	AT	AA	AT	AA
SNP_11017	CC									
SNP_11386	AA									

SNP_11821	GG	GG	GG	GG	GG	GA	GA	GG	GA	GG
SNP_11936	CT	CT	CC	CC	CT	CC	TT	CC	CC	CC
SNP_12211	TT									
SNP_12310	CG	CG	CC	CC	CG	CC	CG	CC	CC	CC
SNP_12721	GC	GG								
SNP_12949	TT	TT	AT	AA	AA	AA	TT	AA	TT	AA
SNP_13031	TT									
SNP_13089	CT	CT	CC							
SNP_13245	AG	AG	AG	AA	AG	AA	AG	AA	AG	AG
SNP_13256	GG									
SNP_13302	AA									
SNP_13609	TT									
SNP_14502	AA	AA	TT	AA						
SNP_14567	GG	GG	GT	GG						
SNP_14573	CC	CC	CC	CT	CC	CC	CC	CT	CC	CC
SNP_14649	TT									
SNP_14894	AA	AA	AC	AA	AC	AA	AA	AA	AC	AA
SNP_15125	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CT	CC	CC	CC
SNP_15253	AC	AC	AC	AC	AA	AA	AA	AA	AA	AA
SNP_15739	TT	GG	TT	GG	GG	GG	TT	GG	TT	GG
SNP_15938	CC									
SNP_16257	TT									
SNP_16446	AA	AG	AA							
SNP_16486	TG	TT	TG	TT	GG	TT	TT	TT	TG	TT
SNP_16729	TT	TT	TT	TT	TT	TT	CC	TT	CC	TT
SNP_16743	CC									
SNP/SN	AA	AG	AA							
SNP_17396	AA									
SNP_18079	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AT	AA	AA	AA
SNP_18170	GG									
SNP_18399	AA									
SNP_18897	GG									
SNP_2613	CT	CT	CT	CC	CC	CC	CC	CC	CT	CT
SNP_21845	CC									
SNP_21973	CC									
SNP_22125	CC									
SNP_22270	GC	GG	GG	GG	GC	GG	GG	GG	GG	GG
SNP_2559	CC									
SNP_23592	TT									
SNP_23890	GG	GG	GC	CC	GG	GG	GC	GG	CC	GG
SNP_24035	AT	AT	AT	AA						
SNP_25199	TT									
SNP_25632	GG	GG	GG	GG	GG	AA	AA	AA	AA	AA
SNP_25887	AA	CA	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CA	CC
SNP_26379	TT									
SNP_26560	TT									

SNP_27121	GG									
SNP_27671	TT									
SNP_27710	TT									
SNP_27725	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CG	CC	CC	CC
SNP_28831	AA									
SNP_29148	AA									
SNP_29404	TC	TC	TC	TT	TT	TT	TC	TT	TC	TC
SNP_29666	TT									
SNP_29677	GC	GG	GG	GC	GG	GG	CC	GG	GG	GG
SNP_210140	CC	CC	CG	CC	CG	CC	CG	CC	CG	CG
SNP_210246	TC	TT								
SNP_210285	TT									
SNP_210478	CC	CA	CC	CC						
SNP_210527	CC	CA	CC	CA	CC	CC	CA	CA	CC	CC
SNP_EU309973	TT	TT	TT	TC	TT	TT	TT	TT	TT	TT
SNP_EU309971	TT									
SNP_UMT1185	GG									
SNP_2672	TT	TA	AA	TT	TA	TT	AA	TT	TA	TT
SNP_2824	TT	TC	TT							
SNP_3547	AA	AA	CC	CC	AA	AA	AC	AA	AA	AA
SNP_3554	CC									
SNP_4514	GG	TT	TT	GG	GG	GG	TT	GG	TT	GG
SNP_5774	CT	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CT	CT	CC
SNP_6729	CT	CC	CT	CC	CC	CC	CC	CC	CT	CC
SNP_4cl	TC	TC	TT	TT	TT	TT	TC	TT	TT	TC
SNP/Muestra	1/POB6	2/POB6	3/POB6	4/POB6	5/POB6	1/POB7	2/POB7	3/POB7	4/POB7	5/POB7
SNP_0683	GG	AA	AA	AA	AG	AG	GG	AG	AG	AA
SNP_01568	GG	AA	AA	AA	AG	AA	GG	AA	AA	AA
SNP_01710	TT	TT	TT	TC	TT	TT	TT	TT	TT	TT
SNP_02157	TT									
SNP_02381	GG	GT	GG	GT	GG	GG	GG	GG	GG	GT
SNP_02791	CC	CC	CC	CC	CC	CA	CA	CC	CA	CC
SNP_02844	AA	AA	AA	AA	AA	AC	AC	AA	AC	AC
SNP_02902	AA	AA	AA	AA	AT	AA	AA	AT	AA	AA
SNP_03006	GG	GG	GG	GA	GG	GA	GG	GA	GG	GA
SNP_03243	GG									
SNP_3458	CC	CT	CC	CC						
SNP_3600	AA	GG								
SNP_3995	TT	TG	TT							
SNP_5024	AA	AA	AA	AA	AA	AT	AT	AA	AT	AA
SNP_5550	AA									
SNP_5832	GG	CC								
SNP_5918	TT									
SNP_6364	TT									
SNP_6366	TT	GG	GG	GT	GG	TT	TT	TT	TT	TT
SNP_8773	TT									

SNP_8868	AA	AA	AA	AG	AA	AA	AG	AA	AG	AA
SNP_8914	TT	AA	AT							
SNP_9317	CC	GG								
SNP_9382	CC	CG	CG	CC						
SNP_9570	TT									
SNP_9808	TT	TT	TT	TG	TT	TT	TT	TT	TT	TT
SNP_10104	AA	AA	AA	AG	AA	AA	AA	AA	AA	AA
SNP_10453	GG	TT	TT	GG						
SNP_10770	AT	AA	TT							
SNP_11017	CC									
SNP_11386	AA									
SNP_11821	AA	GA	GG	GG	GA	GG	GG	GG	GG	GG
SNP_11936	CC	TT	CC	TT	CC	CT	CT	CC	CT	CC
SNP_12211	TT									
SNP_12310	CC									
SNP_12721	GC	GG	GG	GC	GG	GG	GG	GG	GG	GG
SNP_12949	TT	AA	AA	TT	AA	AA	AA	AA	AA	AA
SNP_13031	TT									
SNP_13089	CC									
SNP_13245	AA	AA	AA	AG	AA	AA	AA	AA	AA	AA
SNP_13256	GG									
SNP_13302	AA									
SNP_13609	TT	TC	TT	TT						
SNP_14502	AA	AA	AA	TT	AA	AA	AA	AA	AA	AA
SNP_14567	GG	TT								
SNP_14573	CC	CT	CT	CT	CT	CT	CC	CC	CC	CC
SNP_14649	TT	TC	TC	TT						
SNP_14894	AC	AA	AC	AC	AA	AA	AA	AA	AA	AA
SNP_15125	TT	CC	CC	CT	CC	CC	CC	CC	CC	CC
SNP_15253	AC	AC	AC	AC	CC	AA	AA	AA	AA	AA
SNP_15739	TT	GG	GG	GT	GG	GT	GT	GT	GT	GT
SNP_15938	CC									
SNP_16257	TT									
SNP_16446	AA									
SNP_16486	TT									
SNP_16729	TT	TT	TC	TT	TT	TC	TT	TT	TT	TT
SNP_16743	CC	TT	CT	CT						
SNP/SN	AA	AA	AG	AA						
SNP_17396	AA									
SNP_18079	AA	AT								
SNP_18170	GG	GT								
SNP_18399	AA									
SNP_18897	GG									
SNP_2613	CT	CC								
SNP_21845	CC									
SNP_21973	CC									

SNP_22125	TT	CT	CC	CC						
SNP_22270	GG	GG	GG	GG	GG	GC	GC	GG	GG	GG
SNP_2559	CC	CC								
SNP_23592	TT	TT								
SNP_23890	GG	GG	GG	GC	CC	GG	GC	GG	GC	GG
SNP_24035	AA	AA	AA	TT	AA	AA	AA	AA	AA	AA
SNP_25199	TT	TT								
SNP_25632	AA	AG	AA	AA						
SNP_25887	CC	CC	CC	CA	CC	CC	CC	CC	CC	CC
SNP_26379	TT	TT								
SNP_26560	TT	TT	TT	TC	TT	TT	TT	TT	TT	TT
SNP_27121	GG	GG	GG	GG	GG	GA	AA	GA	GG	GA
SNP_27671	TT	TT								
SNP_27710	TT	TG	TT							
SNP_27725	CC	CC								
SNP_28831	AA	AA								
SNP_29148	AA	AT	AA	AA						
SNP_29404	TC	TT	TT	TC	TT	TT	TT	TT	TT	TT
SNP_29666	TT	TT	TG	TT	TT	TG	TT	TG	TG	TG
SNP_29677	GG	GG	GG	GG	GG	CC	CC	CC	CC	CC
SNP_210140	CC	CC	CG	CC	CC	CC	CG	CG	CC	CC
SNP_210246	TT	CC	TT	TC						
SNP_210285	TT	TA	TT	TT						
SNP_210478	CC	CC	CA	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CC
SNP_210527	CA	CC	CC	CA	CC	CC	CC	CC	CC	CC
SNP_EU309973	TT	TT	TC	TT	TT	TC	TC	TC	TC	TT
SNP_EU309971	TT	TT								
SNP_UMT1185	GG	GA								
SNP_2672	TT	TA	TT	AA	TA	TT	TT	TT	TT	TT
SNP_2824	TC	TT	TT							
SNP_3547	AA	CC	CC	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA
SNP_3554	AA	AA	CA	CC	CA	CC	CC	CA	CC	CC
SNP_4514	TT	GG	GG	GT	GG	GG	GT	GG	GG	GG
SNP_5774	CC	CC	CC	CC	CC	CT	CC	CT	CT	CT
SNP_6729	CT	CC	CC	CC	CT	CC	CC	CC	CC	CC
SNP_4cl	TT	TT								
SNP/Muestra	6/POB7	1/POB8	2/POB8	3/POB8	1/POB9	2/POB9	3/POB9	4/POB9	1/POB10	2/POB10
SNP_0683	AG	AA	AG	AA	AG	AA	AA	AG	AA	AG
SNP_01568	AG	AA	AG	AA	AA	AG	GG	AA	AA	AG
SNP_01710	TT	TT	CC	CC	TT	TT	TT	TT	TC	TT
SNP_02157	TT	TT								
SNP_02381	GT	GG	GT							
SNP_02791	CC	CC	CC	CA	CC	CA	CC	CA	CC	CC
SNP_02844	AA	AA								
SNP_02902	AA	AA								
SNP_03006	GG	GA	GG	GG	GG	GG	GA	GG	GA	GA

SNP_03243	GG	GG	GC	GC	GG	GG	GG	GG	GG	GG
SNP_3458	CC									
SNP_3600	GG									
SNP_3995	TT	TT	TT	TT	TT	TG	TT	TT	TT	TT
SNP_5024	AT	AT	TT	AA	AT	AA	AA	AA	AA	AA
SNP_5550	AA	AA	AA	AA	AC	AC	AA	AA	AA	AA
SNP_5832	CC	CC	CG	CC	CG	CC	CC	CG	CC	CC
SNP_5918	TT	TT	TT	TT	TT	TC	TT	TT	TT	TT
SNP_6364	TT									
SNP_6366	TT									
SNP_8773	TT	TT	TT	TC	TT	TT	TT	TC	TT	TT
SNP_8868	AA									
SNP_8914	AA	AA	AA	AT	AA	AA	AA	AA	AA	AA
SNP_9317	GG	GG	GG	GG	GG	GC	GG	GC	GC	GC
SNP_9382	CC									
SNP_9570	TT									
SNP_9808	TT									
SNP_10104	AA	AA	AG	AG	AG	GG	GG	AA	AG	GG
SNP_10453	GG	GG	GG	GG	TT	TT	GT	TT	GT	TT
SNP_10770	AA									
SNP_11017	CC	CC	CT	CT	CC	CC	CC	CC	CC	CC
SNP_11386	AA									
SNP_11821	GG	GG	GG	GG	GG	GA	GG	GG	GG	GG
SNP_11936	CC	CT	CT	CC	CC	CT	CC	CT	TT	CC
SNP_12211	TT	TT	TC	TC	TT	TC	TT	TT	CC	TT
SNP_12310	CC									
SNP_12721	GG	GC	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GC	GG
SNP_12949	AA	AT								
SNP_13031	TT	TT	CC	TC	CC	CC	CC	TC	TC	TC
SNP_13089	CC									
SNP_13245	AA									
SNP_13256	GG	GG	GG	GA	GG	GG	GG	GG	GG	GG
SNP_13302	AA									
SNP_13609	TC	TT	TC	TT						
SNP_14502	AA									
SNP_14567	GG	GT	GG	GG						
SNP_14573	CC	CT	CC	CC						
SNP_14649	TC	TT	TC	TT	TT	TC	TC	TT	TC	TC
SNP_14894	AA	AA	AA	AA	AC	AA	AC	AC	AA	AA
SNP_15125	CT	CC								
SNP_15253	AA	AA	AC	AC	AA	AA	AA	AA	AC	AA
SNP_15739	GT	GG	GG	GT						
SNP_15938	CC	CT								
SNP_16257	TT	TT	TC	TT						
SNP_16446	AA									
SNP_16486	TT									

SNP_16729	TT	TT	TT	TT	TC	TT	TT	TT	TT	TC
SNP_16743	CC	CC	TT	CT	CT	CT	CC	CC	CC	CT
SNP/SN	AA									
SNP_17396	AA									
SNP_18079	AA	AA	AA	AA	AT	AA	AA	AA	AA	AA
SNP_18170	GT	GG								
SNP_18399	AA									
SNP_18897	GG									
SNP_2613	CC									
SNP_21845	CC	CC	CT	CT	CC	CC	CC	CC	CC	CC
SNP_21973	CC									
SNP_22125	CC									
SNP_22270	GG	GG	GC	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GC
SNP_2559	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CT	CC	CC	CC
SNP_23592	TT									
SNP_23890	GG	GG	GG	GG	GG	GC	GC	GC	GG	GG
SNP_24035	AA	AA	AA	AA	AA	AT	AA	TT	AA	AA
SNP_25199	TT	TA								
SNP_25632	AG	AA								
SNP_25887	CC									
SNP_26379	TT									
SNP_26560	TT	TC	TT							
SNP_27121	GG	GA	GG	GG						
SNP_27671	TT	TT	TT	TT	TG	TT	TT	TT	TT	TT
SNP_27710	TT	TT	TT	TG	TT	TT	TT	TT	TG	TT
SNP_27725	CC									
SNP_28831	AA	AG								
SNP_29148	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AT	AA	AA	AA
SNP_29404	TT									
SNP_29666	TG									
SNP_29677	CC									
SNP_210140	CC	CC	CC	CC	CG	CC	CC	CG	CG	CC
SNP_210246	TC	TC	TT	TT	TT	TC	TT	TT	TT	TT
SNP_210285	TT	TA	TT							
SNP_210478	CC	CC	CA	CC	CC	CA	CC	CC	CC	CC
SNP_210527	CC									
SNP_EU309973	TT	TC	TT							
SNP_EU309971	TT	TT	TA	TT	TT	TT	TA	TT	TA	TA
SNP_UMT1185	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GA	GG	GA	GG
SNP_2672	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TA	TT	TT	TT
SNP_2824	TT									
SNP_3547	AA									
SNP_3554	CC									
SNP_4514	GG	GG	GG	GG	TT	GG	GT	GG	GT	GT
SNP_5774	TT	CT	CT	CT	CC	CT	CC	CT	CT	CC
SNP_6729	CT	CC								

SNP_4cl	TT	TC								
SNP/Muestra	3/POB10	4/POB10	1/POB11	2/POB11	3/POB11	4/POB11	5/POB11	6/POB11	1/POB12	2/POB12
SNP_0683	GG	GG	AA							
SNP_01568	AG	AA								
SNP_01710	TT	TT	CC	TT	CC	TT	CC	CC	CC	CC
SNP_02157	TT									
SNP_02381	GG									
SNP_02791	CC	CC	CA	CC	CA	CC	CC	CC	CC	CC
SNP_02844	AA	AC	AA							
SNP_02902	AA	AT	AA							
SNP_03006	GA	GA	GG	GA	GA	GA	GG	GA	GG	GG
SNP_03243	GC	GG	GG	GG	GC	CC	CC	GC	GG	GC
SNP_3458	CT	CT	CT	CC	CC	CC	CC	CT	CC	CC
SNP_3600	GG	GG	GG	GA	GG	GG	GG	GG	GG	GG
SNP_3995	TT									
SNP_5024	AA	AT	AT	AA	AT	AA	AA	AA	AT	AA
SNP_5550	AA	AC	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AC	AA
SNP_5832	CC	CC	CG	CC	CC	CG	CG	CC	CG	GG
SNP_5918	TT									
SNP_6364	TT	TT	AA	TA	TA	TA	TT	TA	TA	TT
SNP_6366	TT	TT	TT	TT	TT	GG	GG	TT	TT	GG
SNP_8773	TT	TT	CC	CC	TC	CC	TT	CC	CC	TC
SNP_8868	AA	AA	AG							
SNP_8914	AA									
SNP_9317	GG	GG	GG	GC	GG	CC	GG	GG	GG	GG
SNP_9382	CC	CC	CG							
SNP_9570	TT	TT	TC	TT	TC	TT	TT	TT	TC	TC
SNP_9808	TT	TT	TG	TT	TG	TT	TG	TT	TT	TT
SNP_10104	AA	AA	AG	GG	GG	GG	AG	GG	GG	AG
SNP_10453	GG	GT	GG	GG	GT	GG	GG	GT	GG	GG
SNP_10770	AA	AA	AT	AA	AA	AA	AA	AT	AA	AA
SNP_11017	CC	CC	CC	CC	CC	CT	CT	CT	CC	CC
SNP_11386	AA	AA	AG	AG	AA	AA	AG	AA	AA	AA
SNP_11821	GG									
SNP_11936	CC	CC	CT	TT	TT	CT	TT	CC	CT	CC
SNP_12211	TT	TC	TT	TC	TC	TT	TT	TT	TT	CT
SNP_12310	CC	CC	CC	CC	CC	CG	CC	CC	CC	CC
SNP_12721	GG	GG	GC	GG	GG	GC	GG	GG	GG	GG
SNP_12949	AA	AA	TT							
SNP_13031	TT	TT	TT	CC	TT	TC	TT	TT	TT	TT
SNP_13089	CC	CC	CC	CT	CC	CC	CT	CC	CC	CC
SNP_13245	AG	AA								
SNP_13256	GG									
SNP_13302	AA	AA	AT	TT	AA	AT	AT	AT	TT	TT
SNP_13609	TT	TT	TT	TT	TT	TC	TC	TT	TT	TC
SNP_14502	AA									

SNP_14567	GG										
SNP_14573	CC	CC	CC	CT	CC	CT	CT	CT	CT	CT	CT
SNP_14649	TC	TC	TT								
SNP_14894	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AC	AC	AA	AA	AA
SNP_15125	CC	CT	CC	CC							
SNP_15253	AA	AA	AC								
SNP_15739	GT	GT	GG	GG	GG	GG	GG	GG	TT	GG	GG
SNP_15938	CC	TT	CC	CC	CC	CC	CT	CC	CC	CC	CC
SNP_16257	TT	TT	CC	TC	TT	TT	TT	TC	TT	TT	TT
SNP_16446	AA	AA	AA	GG	AG	AA	AA	AG	AA	AG	AG
SNP_16486	TT										
SNP_16729	TT	TT	TC	TT	TC	TT	TT	TT	TC	TT	TT
SNP_16743	CC	CC	CC	C	CC	CC	CT	CC	CC	CC	CC
SNP/SN	AG	AA	AG	AG	AG	AA	A	AG	AA	AA	AA
SNP_17396	AA	AA	AA	AA	AA	AG	AA	AA	AA	AA	AA
SNP_18079	AA	AA	AA	AT	AA	AA	AA	AA	AT	AA	AA
SNP_18170	GG	GG	GG	GA	GG	GA	GA	GG	GG	GG	GG
SNP_18399	AA	AA	AG	AA	AG	AA	AA	AA	AA	AA	AA
SNP_18897	GG	GG	GC	CC							
SNP_2613	CC										
SNP_21845	CC										
SNP_21973	CC	CC	TC	TT	TT	TT	TC	TT	TT	TT	TC
SNP_22125	CC										
SNP_22270	GG	GC	GC	GC	GG						
SNP_2559	CC	CC	CC	CC	CC	CT	CC	CC	CC	CC	CC
SNP_23592	TT	TT	TT	TT	TT	TC	TT	TT	TT	TT	TT
SNP_23890	GG	GG	GG	GG	CC	CC	GC	CC	CC	CC	GC
SNP_24035	AA	AA	AA	AA	AA	AT	AA	AA	AT	AA	AA
SNP_25199	TT	TT	TT	TT	TT	TA	TA	TT	TT	TT	TT
SNP_25632	AA	AA	GA	AG	AG	AG	AG	AG	AA	AA	AA
SNP_25887	CC	CC	CC	CA	CA	CC	CC	CC	AA	CA	CA
SNP_26379	TT	TT	TT	TT	TT	TA	TA	TT	TT	TT	TT
SNP_26560	TC	TT									
SNP_27121	GG										
SNP_27671	TT	TT	TG	TT	TT	TG	TG	TG	GG	TG	TG
SNP_27710	TT										
SNP_27725	CC										
SNP_28831	AA	AA	AA	AA	AA	AG	AG	AA	AA	AA	AA
SNP_29148	AA	AA	TT	AA	AA	AT	AA	AA	AT	AT	AT
SNP_29404	TT	TT	TC								
SNP_29666	TG	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TG	TT	TT	TT
SNP_29677	CC	CC	GG	GG	GC	GG	GG	GG	GG	GG	GG
SNP_210140	CC	CC	CC	CC	CC	CG	CC	CC	CC	CC	CC
SNP_210246	TT	TT	TC	TT	TC	TT	TT	TT	TC	TT	TT
SNP_210285	TT	TT	TT	TA	TT						
SNP_210478	CC	CC	CC	CC	CC	CA	CC	CC	CA	CC	CC

SNP_210527	CC	CC	CA	AA	AA	AA	AA	AA	CC	CC
SNP_EU309973	TT	TT	TT	TT	TC	TT	TT	TC	TT	TT
SNP_EU309971	TT	TT	TT	TT	TT	TA	TT	TT	TT	TT
SNP_UMT1185	GG	GG	AA	GA	GG	GG	AA	AA	GG	GA
SNP_2672	TT	TT	TT	AA	TA	TT	TT	TA	TT	AA
SNP_2824	TT									
SNP_3547	AA	AA	AC	AC	AA	AC	AC	CC	AC	CC
SNP_3554	CC									
SNP_4514	GT	GG								
SNP_5774	CC	CT	CC	CC	CT	CC	CT	CC	CT	CC
SNP_6729	CC	CT	CC							
SNP_4cl	TC	TT	TC	TT						
SNP/Muestra	3/POB12	4/POB12	5/POB12	1/POB13	2/POB13	3/POB13	1/POB14	2/POB14	3/POB14	4/POB14
SNP_0683	AA	AA	AA	AG	AA	AA	AA	AA	AA	AA
SNP_01568	AA	AA	AA	AG	AG	AG	AA	AA	AA	AA
SNP_01710	CC	TT	TT	TC	CC	TT	TT	TT	TT	TT
SNP_02157	TT	TT	TT	TC	TT	TT	TT	TT	TT	TT
SNP_02381	GG	GG	GG	GT	GG	GG	GG	GG	GG	GG
SNP_02791	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CA	CC	CC	CC
SNP_02844	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AC	AA	AC	AA
SNP_02902	AT	AA	AT	AA	AA	AT	AA	AA	AA	AA
SNP_03006	GA	GA	GG	GA	GA	GA	GG	GG	GG	GG
SNP_03243	GC	GC	GC	GC	GG	GG	GG	GG	GG	GG
SNP_3458	CT	CC	CT	CC	CT	CC	CC	CC	CC	CC
SNP_3600	GA	GG								
SNP_3995	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TG	TT	TT	TT
SNP_5024	AA	AT	AA	AA	AA	AT	AA	AA	AA	AA
SNP_5550	AA	AA	AA	AA	AA	AC	AA	AA	AC	AC
SNP_5832	CC									
SNP_5918	TT	TT	TT	CC	TC	TC	TT	TT	TC	TC
SNP_6364	TT	TT	TA	TA	TT	TT	TT	TT	TT	TT
SNP_6366	GG	GG	GG	TT	TT	GG	GG	GG	GG	GG
SNP_8773	CC	TC	CC	TT	TT	CC	TT	TT	TC	TC
SNP_8868	AG	AG	AG	AA						
SNP_8914	AA	AA	TT	AT	AA	AA	AA	AA	AT	AT
SNP_9317	GG	GC	GC							
SNP_9382	CG	CC	CG	CC	CG	CG	CC	CG	CG	CG
SNP_9570	TT	TC	TC	TT						
SNP_9808	TT	TT	TG	TT	TT	TG	TT	TT	TT	TT
SNP_10104	AG	GG	GG	GG	AG	GG	AA	AA	AG	AA
SNP_10453	GT	GT	GG	GG	GT	GG	GG	GG	GG	GG
SNP_10770	AT	AA	AA	AT	AT	AA	AA	AA	AA	AA
SNP_11017	CC									
SNP_11386	AA									
SNP_11821	GG	GG	GG	AA	GG	GG	GG	GG	GG	GG
SNP_11936	CC	CC	CT	CC	CT	CT	CC	CC	TT	CC

SNP_12211	TT										
SNP_12310	CC	CC	CC	CG	CC	CG	CC	CC	CC	CC	CC
SNP_12721	GG	GC	GG	GC	GG	GC	GG	GG	GG	GG	GG
SNP_12949	TT	TT	TT	TT	AT	TT	TT	TT	TT	TT	TT
SNP_13031	TT										
SNP_13089	CC	CC	CC	CT	CC	CT	CC	CC	CT	CC	CC
SNP_13245	AA	AA	AA	AG	AA						
SNP_13256	GG	GA	GA	GA	GG	GG	GA	GG	GG	GG	GG
SNP_13302	TT	TT	TT	AA	AT	AT	AT	AA	AA	AA	AA
SNP_13609	TT	TT	TC	TT	TT	TT	TT	TT	TC	TC	TC
SNP_14502	AA	AA	AA	AT	AT	AT	AA	AA	AA	AA	AA
SNP_14567	GG	GT	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GT	GG	GG
SNP_14573	CC	CT	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CT	CT	CT
SNP_14649	TT	TT	TT	TT	TT	CC	CC	CC	TC	TC	TC
SNP_14894	AC	AC	AA								
SNP_15125	CC	CT	TT	CC	CT	CC	CC	CC	CC	CC	CC
SNP_15253	AC	AC	AC	AA	AA	AC	AC	AA	AC	AC	AC
SNP_15739	TT	GG	GG	TT	TT	GG	GG	GG	GG	GG	GG
SNP_15938	CC										
SNP_16257	TT	TT	TT	TT	TC	TT	TT	TT	TT	TT	TT
SNP_16446	AA	GG	AA								
SNP_16486	TT	TT	TT	TG	TT	TG	TT	TT	TT	TT	TT
SNP_16729	TT										
SNP_16743	CT	CC									
SNP/SN	AA	AG	AA								
SNP_17396	AA	AG	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AG	AG	AG
SNP_18079	AA										
SNP_18170	GG										
SNP_18399	AA	AA	GG	AA							
SNP_18897	CC										
SNP_2613	CC	CC	CC	CT	CT	CT	CC	CC	CC	CC	CC
SNP_21845	CC										
SNP_21973	CC	CC	TC	CC							
SNP_22125	CC	CC	CC	CT	CC						
SNP_22270	CC	GG	CC	GG							
SNP_2559	CC										
SNP_23592	TT	TT	TT	TC	TT	TC	TC	TT	TT	TT	TT
SNP_23890	CC	CC	GC	GG							
SNP_24035	AA	AT	AA								
SNP_25199	TT										
SNP_25632	AA	AA	AA	AG							
SNP_25887	AA	AA	AA	CC							
SNP_26379	TT	TA	AA	AA							
SNP_26560	TC	TT	TC	TT	TC	TT	TT	TT	TT	TT	TT
SNP_27121	GA	GG	GG	GG	GA	GA	GG	GG	GG	GG	GG
SNP_27671	GG	TG	TG	TT							

SNP_27710	TT	TT	TT	TT	TT	TG	TG	TG	TT	TT
SNP_27725	CC	CC	CC	CG	CC	CC	CC	CC	CC	CC
SNP_28831	AA	AG	AA							
SNP_29148	AT	TT	AT	AA	AA	AA	AT	AA	AA	AA
SNP_29404	TC	TC	TC	TC	TC	TT	TT	TT	TT	TT
SNP_29666	TT	TT	TG	TT	TT	TT	TT	TT	TG	TG
SNP_29677	GG	GG	GG	GC	GC	GG	GG	GG	GG	GC
SNP_210140	CG	CC	CC	CG	CC	CC	CC	CC	CC	CC
SNP_210246	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT
SNP_210285	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT
SNP_210478	CC	CC	CA	CC						
SNP_210527	CC	CA	CA	CC	CA	CA	CC	CC	CA	CC
SNP_EU309973	TT	TT	T	TC	TT	TT	TT	TT	TT	TT
SNP_EU309971	TA	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT
SNP_UMT1185	GG	GA	GG	GG	GA	GG	GG	GG	GG	GG
SNP_2672	AA	TA	AA	AA	TA	TA	AA	TT	TA	TA
SNP_2824	TT	TT	TT	TC	TT	TT	TT	TT	TT	TT
SNP_3547	CC	AA	CC	AA						
SNP_3554	CC	CA	CC	CC	AA	CC	CC	CC	CA	CA
SNP_4514	GG	GG	GG	GG	TT	TT	GG	GG	GG	GG
SNP_5774	CC	CC	CC	CT	CC	CT	CC	CC	CC	CC
SNP_6729	CC	CC	CC	CT	CC	CC	CC	CC	CC	CC
SNP_4cl	TT	TT	TT	TT	TT	TC	TT	TT	TT	TT
SNP/Muestra	1/POB15	2/POB15								
SNP_0683	AG	AA								
SNP_01568	AA	AA								
SNP_01710	TT	TT								
SNP_02157	TT	TT								
SNP_02381	GG	GG								
SNP_02791	CC	CA								
SNP_02844	AA	AA								
SNP_02902	AT	AA								
SNP_03006	GG	GG								
SNP_03243	GG	GG								
SNP_3458	CC	CC								
SNP_3600	GG	GG								
SNP_3995	TT	TG								
SNP_5024	AA	AA								
SNP_5550	AA	AA								
SNP_5832	CC	CC								
SNP_5918	TT	TT								
SNP_6364	TT	TT								
SNP_6366	GG	GG								
SNP_8773	TT	TT								
SNP_8868	AA	AA								
SNP_8914	AA	AA								

SNP_9317	GC	GG
SNP_9382	CC	CG
SNP_9570	TT	TT
SNP_9808	TT	TT
SNP_10104	AA	AA
SNP_10453	TT	GG
SNP_10770	AA	AA
SNP_11017	CC	CC
SNP_11386	AA	AA
SNP_11821	GG	GG
SNP_11936	CC	CC
SNP_12211	TT	TT
SNP_12310	CC	CC
SNP_12721	GG	GG
SNP_12949	TT	TT
SNP_13031	TT	TT
SNP_13089	CC	CC
SNP_13245	AA	AA
SNP_13256	GG	GG
SNP_13302	TT	AA
SNP_13609	TT	TC
SNP_14502	AA	AA
SNP_14567	GG	GG
SNP_14573	CC	CC
SNP_14649	TT	TT
SNP_14894	AA	AA
SNP_15125	CC	CC
SNP_15253	AC	AC
SNP_15739	GG	GG
SNP_15938	CC	CC
SNP_16257	TT	TT
SNP_16446	AA	AA
SNP_16486	TT	TT
SNP_16729	TT	TT
SNP_16743	CC	CC
SNP/SN	AA	AA
SNP_17396	AA	AA
SNP_18079	AA	AA
SNP_18170	GG	GG
SNP_18399	AA	AA
SNP_18897	CC	GG
SNP_2613	CC	CC
SNP_21845	CC	CC
SNP_21973	CC	CC
SNP_22125	CC	CC
SNP_22270	GG	GG

SNP_2559	CC	CT
SNP_23592	TT	TT
SNP_23890	GG	GG
SNP_24035	AA	AA
SNP_25199	TT	TT
SNP_25632	AA	AA
SNP_25887	CC	CC
SNP_26379	TT	TT
SNP_26560	TT	TT
SNP_27121	GG	GG
SNP_27671	TT	TT
SNP_27710	TT	TT
SNP_27725	CC	CC
SNP_28831	GG	AA
SNP_29148	AA	AA
SNP_29404	TT	TT
SNP_29666	TT	TT
SNP_29677	CC	GG
SNP_210140	GG	CC
SNP_210246	TT	TT
SNP_210285	TT	TT
SNP_210478	CC	CC
SNP_210527	CA	CC
SNP_EU309973	TT	TT
SNP_EU309971	TT	TT
SNP_UMT1185	AA	GG
SNP_2672	AA	TT
SNP_2824	TC	TT
SNP_3547	AA	AA
SNP_3554	CC	CC
SNP_4514	GG	GG
SNP_5774	CC	CC
SNP_6729	CT	CC
SNP_4cl	TT	TT

Anexo Ila. Fechamientos de los eventos climáticos y su transformación a número de generaciones de *P. patula* (1 generación= 60 años; Vela, 1980). Esta información fue utilizada para generar las distribuciones previas en DIY-ABC y estimar tiempos de divergencia y cambios demográficos.

Periodo	Evento	Años	Generaciones
Pleistoceno medio (t ₃)	Ciclos climáticos (glaciar-interglaciar)	78,000*	1300
Pleistoceno superior (t ₂)	Fin de la actividad tectónica (Ferrari et al., 2012) Inicio del UMG (Caballero et al., 2010)	12,600*	210

	Fin del UMG (Caballero et al., 2010)		
Holoceno (t_1)		11,000*	183.3

*La información de años fue obtenida de la Cuadro cronoestratigráfica internacional versión 2015. www.stratigraphy.org

Anexo IIb. Distribuciones previas (*priors*) para los parámetros históricos de los modelos en DIYABC para las pozas de la Sierra Madre del Sur.

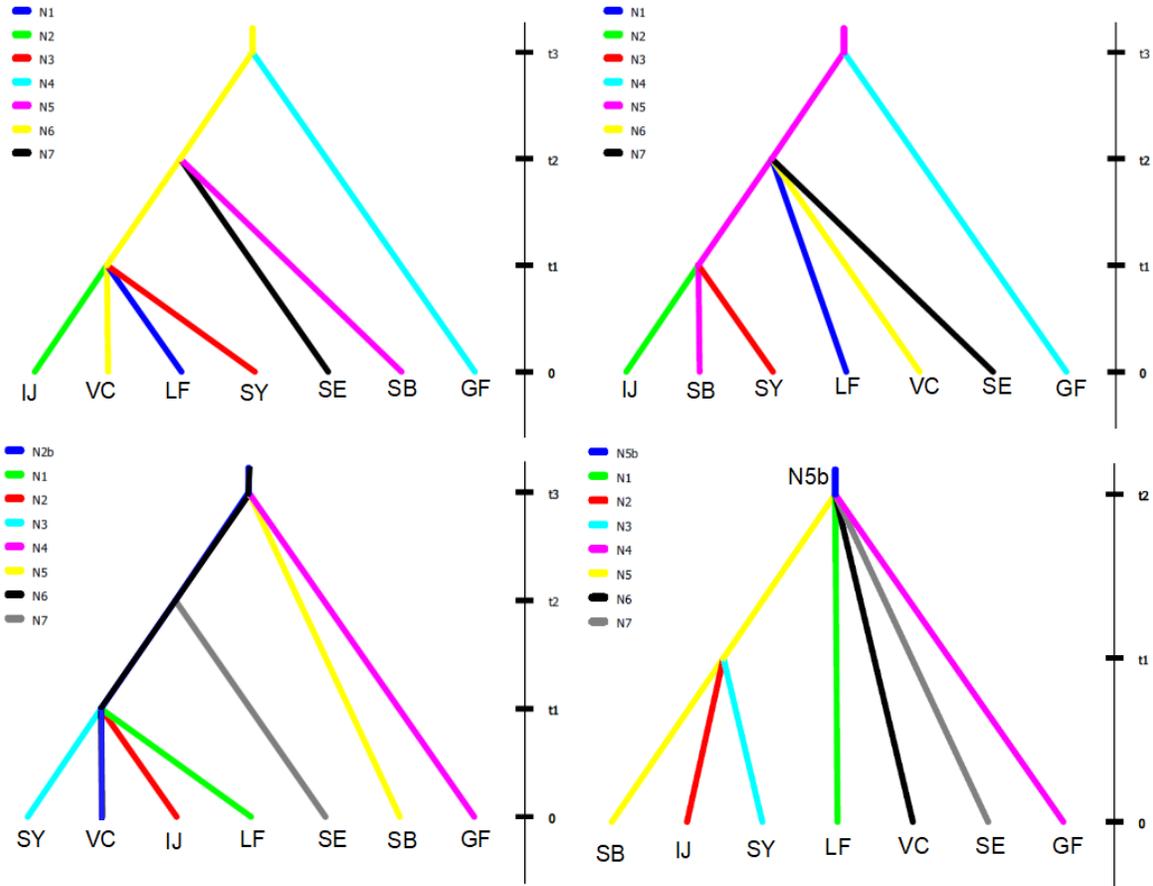
Parámetros	Distribuciones previas (<i>priors</i>)
	SNPs
LF	Uniforme (10-7094)
IJ	Uniforme (10-6690)
SY	Uniforme (10-2577)
nbc₂	Uniforme (10-10000)
t₁	Normal (120-244)
t₂	Normal (145-300)
t₃	Normal (867-1733)

Anexo IIc. Distribuciones previas (*priors*) para los parámetros históricos de los modelos DIYABC para las pozas de la Sierra Madre Oriental y del Sur.

Parámetros	Distribuciones previas (<i>priors</i>)
	SNPs
LF	Uniforme (10-7094)
IJ	Uniforme (10-6690)
SY	Uniforme (10-2577)
GF	Uniforme (10-2650)
SB	Uniforme (10-5000)
VC	Uniforme (10-3496)
SE	Uniforme (10-3715)
N2b	Uniforme (10-10000)
N5b	Uniforme (10-10000)
t₁	Normal (120-244)
t₂	Normal (145-300)
t₃	Normal (867-1733)

LF= La Felicidad, Guerrero; IJ= Ixtlán de Juárez y SY= Santa Ma. Yavesía, Oaxaca; GF= Gomez Farías, Tamaulipas; SB= San Bartolo, Hidalgo; VC= Villa del Carbón; SE= Sierra la Encantada, Morelos; N2b= tamaño de la población ancestral expandida; N5b= tamaño de la población ancestral expandida.

Anexo IIc. Escenarios DIY-ABC para todas las pozas de *P. patula*



IJ, Ixtlán de Juárez; VC; Villa del Carbón; LF, La Felicidad; SY, Santa Ma. Yavesía; SE, Sierra la Encantada; SB, San Bartolo; GF, Gómez Farías; N2b, población ancestral expandida; N5b, población ancestral expandida. Escenario 1 y 2: hipótesis estable. En escenario 1 la población ancestral corresponde a Villa del Carbón, mientras que en el escenario 2 la población ancestral corresponde a San Bartolo, Hidalgo. En el escenario 3 se tiene un cambio demográfico para una población ancestral con evento de expansión (N2b) en t1. En el escenario 4 se tiene un cambio demográfico para una población ancestral con evento de expansión (N5b) en t2.

Anexo IId. Distribuciones previas (*priors*) para los parámetros históricos de los modelos DIYABC para las pozas de la Sierra Madre Oriental y del Sur.

Parámetros	Distribuciones previas (<i>priors</i>)
	SNPs
LF	Uniforme (10-7094)
IJ	Uniforme (10-6690)
SY	Uniforme (10-2577)
GF	Uniforme (10-2650)
SB	Uniforme (10-5000)
VC	Uniforme (10-3496)
SE	Uniforme (10-3715)
N4b	Uniforme (10-10000)
N4c	Uniforme (10-2000)

Nb4	Uniforme (10-1500)
Nc4	Uniforme (10-10000)
N5b	Uniforme (10-10000)
t ₁	Normal (120-244)
t ₂	Normal (145-300)
t ₃	Normal (867-1733)

LF= La Felicidad, Guerrero; IJ= Ixtlán de Juárez y SY= Santa Ma. Yavesía, Oaxaca; GF= Gomez Farías, Tamaulipas; SB= San Bartolo, Hidalgo; VC= Villa del Carbón; SE= Sierra la Encantada, Morelos; N4b= tamaño de la población ancestral expandida en t₂; N4c= reducción de la población ancestral en t₃; Nb4= reducción de la población ancestral en t₁; Nc4= expansión de la población ancestral en t₂; N5b= expansión de la población ancestral en t₂.

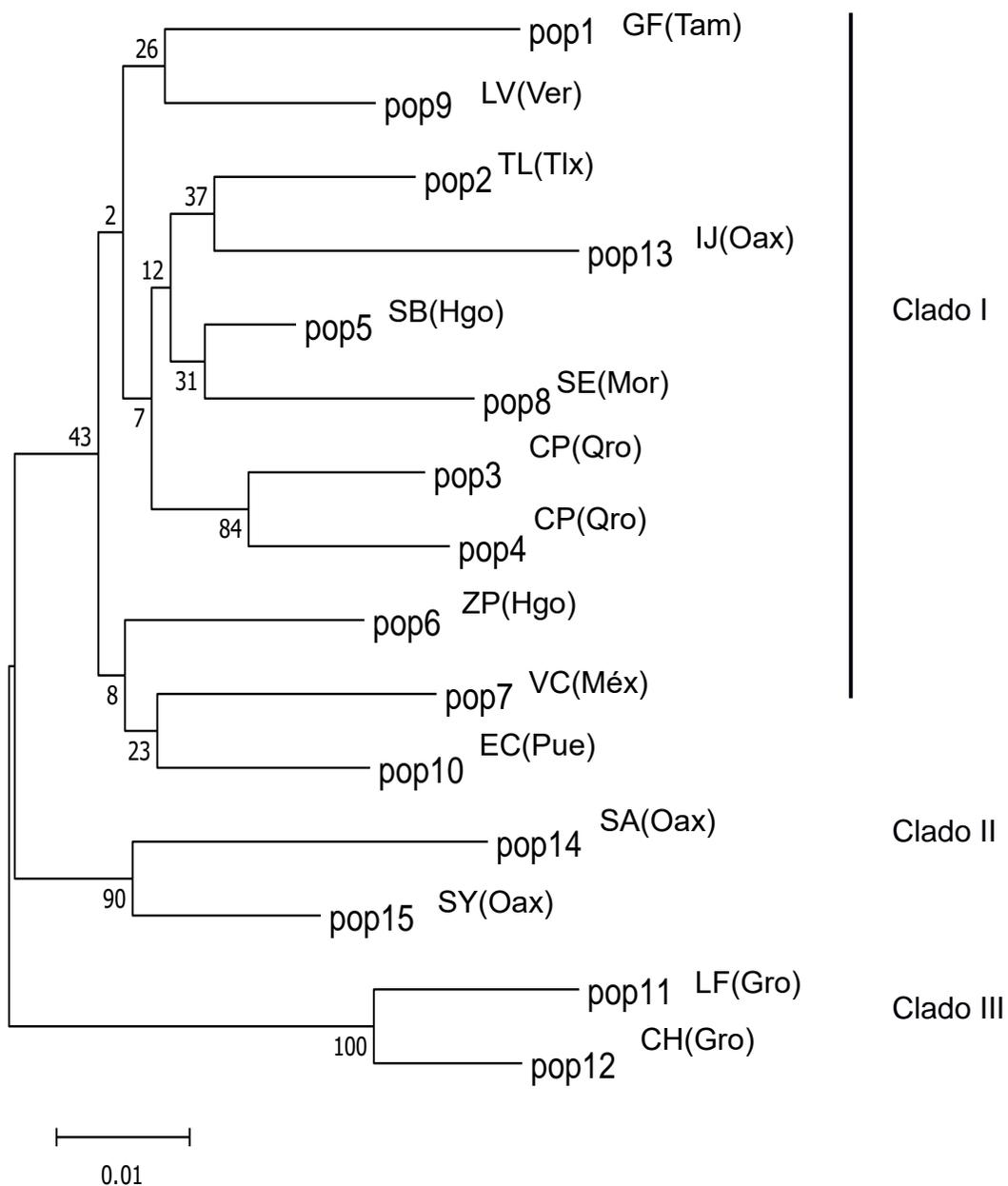
Anexo III. Relación entre las variables morfológicas de las variedades de *P. patula*

	Acic	Lpedun	Apedun	Asem
Apedun	0.75	0.88	1	0.64
Lpedun	0.83	1	0.88	0.41
Nladx	--0.27	-0.28	-0.40	-0.17
Nlabx	-0.57	-0.62	-0.70	-0.34
Acic	1	0.83	0.75	0.14
Lho	-0.35	-0.53	-0.60	-0.41

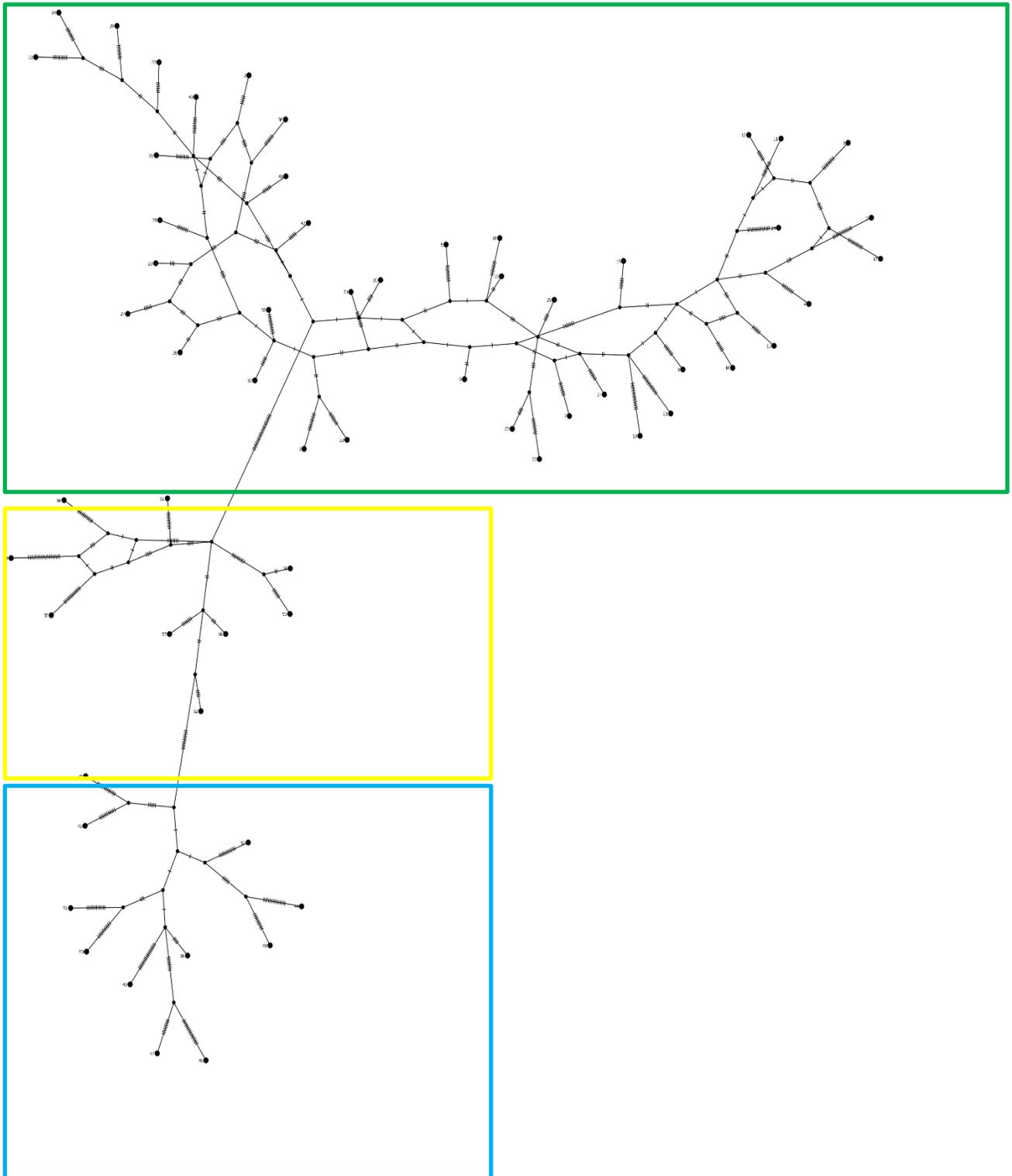
Acon	Lap	Aapo	Lumbo	Aumbo	Lsem	Asem	Lala	Aala	Lva	Avai
-0.59	-0.57	-0.57	-0.05	0.07	0.12	0.14	-0.43	-0.31	-0.31	-0.76
-0.74	-0.61	-0.43	0.01	-0.01	0.09	0.41	-0.51	-0.39	-0.54	-0.92
-0.65	-0.61	-0.29	-0.13	-0.04	-0.20	0.64	-0.32	-0.29	-0.51	-0.89
-0.22	-0.12	0.02	-0.11	0.04	-0.32	1	0.07	0.10	-0.29	-0.44

Lcon				
	-0.54			
		-0.73		
			-0.62	
				-0.19

Anexo IV. Arbol de Neighbor-Joining basado en SNPs nucleares (exones) de las poblaciones de *P. patula* basado en las distancias genéticas de Nei (1972). Los valores de bootstrap son mostrados basados en 10,000 réplicas. Tres principales clados son observados, *P. patula* (Clado I), *P. patula* var. *longipedunculata* de Oaxaca (Clado II) y *P. patula* var. *longipedunculata* de Guerrero (Clado III).



Anexo V. Red de haplotipos para todos los individuos de *P. patula* de la Sierra Madre Oriental y del Sur. Todos los individuos de *P. patula* var. *patula* corresponden al cuadro verde. Los individuos de *P. patula* var. *longipedunculata* de Oaxaca en amarillo y los individuos de Guerrero en azul.



Anexo VI. Información de la estructura genética utilizando el coeficiente F_{ST} partodas las poblaciones de las dos variedades de *P. patula*.

Población	Población	Linaje	Diferenciación genética (F_{ST})
GF(Tam)	LV(Ver)	var. <i>patula</i>	0.126
GF(Tam)	PA(Qro)	var. <i>patula</i>	0.119
LV(Ver)	PA(Qro)	var. <i>patula</i>	0.095
GF(Tam)	CP(Qro)	var. <i>patula</i>	0.116
LV(Ver)	CP(Qro)	var. <i>patula</i>	0.081
PA(Qro)	CP(Qro)	var. <i>patula</i>	0.061
GF(Tam)	SB(Hgo)	var. <i>patula</i>	0.110
LV(Ver)	SB(Hgo)	var. <i>patula</i>	0.063
PA(Qro)	SB(Hgo)	var. <i>patula</i>	0.068
CP(Qro)	SB(Hgo)	var. <i>patula</i>	0.066
GF(Tam)	ZP(Hgo)	var. <i>patula</i>	0.119
LV(Ver)	ZP(Hgo)	var. <i>patula</i>	0.096
PA(Qro)	ZP(Hgo)	var. <i>patula</i>	0.082
CP(Qro)	ZP(Hgo)	var. <i>patula</i>	0.081
SB(Hgo)	ZP(Hgo)	var. <i>patula</i>	0.071
GF(Tam)	VC(Méx)	var. <i>patula</i>	0.117
LV(Ver)	VC(Méx)	var. <i>patula</i>	0.101
PA(Qro)	VC(Méx)	var. <i>patula</i>	0.092
CP(Qro)	VC(Méx)	var. <i>patula</i>	0.102
SB(Hgo)	VC(Méx)	var. <i>patula</i>	0.075
ZP(Hgo)	VC(Méx)	var. <i>patula</i>	0.069
GF(Tam)	SE(Mor)	var. <i>patula</i>	0.154
LV(Ver)	SE(Mor)	var. <i>patula</i>	0.099
PA(Qro)	SE(Mor)	var. <i>patula</i>	0.101
CP(Qro)	SE(Mor)	var. <i>patula</i>	0.094
SB(Hgo)	SE(Mor)	var. <i>patula</i>	0.068
ZP(Hgo)	SE(Mor)	var. <i>patula</i>	0.082
VC(Méx)	SE(Mor)	var. <i>patula</i>	0.099
GF(Tam)	TL(Tlx)	var. <i>patula</i>	0.119
LV(Ver)	TL(Tlx)	var. <i>patula</i>	0.092
PA(Qro)	TL(Tlx)	var. <i>patula</i>	0.097
CP(Qro)	TL(Tlx)	var. <i>patula</i>	0.089
SB(Hgo)	TL(Tlx)	var. <i>patula</i>	0.071
ZP(Hgo)	TL(Tlx)	var. <i>patula</i>	0.082
VC(Méx)	TL(Tlx)	var. <i>patula</i>	0.080
SE(Mor)	TL(Tlx)	var. <i>patula</i>	0.117
GF(Tam)	EC(Pue)	var. <i>patula</i>	0.158

LV(Ver)	EC(Pue)	var. <i>patula</i>	0.112
PA(Qro)	EC(Pue)	var. <i>patula</i>	0.095
CP(Qro)	EC(Pue)	var. <i>patula</i>	0.100
SB(Hgo)	EC(Pue)	var. <i>patula</i>	0.080
ZP(Hgo)	EC(Pue)	var. <i>patula</i>	0.079
VC(Méx)	EC(Pue)	var. <i>patula</i>	0.079
SE(Mor)	EC(Pue)	var. <i>patula</i>	0.113
TL(Tlx)	EC(Pue)	var. <i>patula</i>	0.079
GF(Tam)	LF(Gro)	var. <i>patula</i> vs var. <i>longipedunculata</i>	0.160
LV(Ver)	LF(Gro)	var. <i>patula</i> vs var. <i>longipedunculata</i>	0.113
PA(Qro)	LF(Gro)	var. <i>patula</i> vs var. <i>longipedunculata</i>	0.122
CP(Qro)	LF(Gro)	var. <i>patula</i> vs var. <i>longipedunculata</i>	0.110
SB(Hgo)	LF(Gro)	var. <i>patula</i> vs var. <i>longipedunculata</i>	0.096
ZP(Hgo)	LF(Gro)	var. <i>patula</i> vs var. <i>longipedunculata</i>	0.106
VC(Méx)	LF(Gro)	var. <i>patula</i> vs var. <i>longipedunculata</i>	0.128
SE(Mor)	LF(Gro)	var. <i>patula</i> vs var. <i>longipedunculata</i>	0.124
TL(Tlx)	LF(Gro)	var. <i>patula</i> vs var. <i>longipedunculata</i>	0.102
EC(Pue)	LF(Gro)	var. <i>patula</i> vs var. <i>longipedunculata</i>	0.119
GF(Tam)	CH(Gro)	var. <i>patula</i> vs var. <i>longipedunculata</i>	0.158
LV(Ver)	CH(Gro)	var. <i>patula</i> vs var. <i>longipedunculata</i>	0.126
PA(Qro)	CH(Gro)	var. <i>patula</i> vs var. <i>longipedunculata</i>	0.114
CP(Qro)	CH(Gro)	var. <i>patula</i> vs var. <i>longipedunculata</i>	0.111
SB(Hgo)	CH(Gro)	var. <i>patula</i> vs var. <i>longipedunculata</i>	0.101
ZP(Hgo)	CH(Gro)	var. <i>patula</i> vs var. <i>longipedunculata</i>	0.102
VC(Méx)	CH(Gro)	var. <i>patula</i> vs var. <i>longipedunculata</i>	0.125

SE(Mor)	CH(Gro)	var. <i>patula</i> vs var. <i>longipedunculata</i>	0.132
TL(Tlx)	CH(Gro)	var. <i>patula</i> vs var. <i>longipedunculata</i>	0.105
EC(Pue)	CH(Gro)	var. <i>patula</i> vs var. <i>longipedunculata</i>	0.120
LF(Gro)	CH(Gro)	var. <i>longipedunculata</i>	0.056
GF(Tam)	IJ(Oax)	var. <i>patula</i> vs var. <i>longipedunculata</i>	0.155
LV(Ver)	IJ(Oax)	var. <i>patula</i> vs var. <i>longipedunculata</i>	0.093
PA(Qro)	IJ(Oax)	var. <i>patula</i> vs var. <i>longipedunculata</i>	0.108
CP(Qro)	IJ(Oax)	var. <i>patula</i> vs var. <i>longipedunculata</i>	0.091
SB(Hgo)	IJ(Oax)	var. <i>patula</i> vs var. <i>longipedunculata</i>	0.086
ZP(Hgo)	IJ(Oax)	var. <i>patula</i> vs var. <i>longipedunculata</i>	0.104
VC(Méx)	IJ(Oax)	var. <i>patula</i> vs var. <i>longipedunculata</i>	0.122
SE(Mor)	IJ(Oax)	var. <i>patula</i> vs var. <i>longipedunculata</i>	0.102
TL(Tlx)	IJ(Oax)	var. <i>patula</i> vs var. <i>longipedunculata</i>	0.102
EC(Pue)	IJ(Oax)	var. <i>patula</i> vs var. <i>longipedunculata</i>	0.110
LF(Gro)	IJ(Oax)	var. <i>longipedunculata</i>	0.116
CH(Gro)	IJ(Oax)	var. <i>longipedunculata</i>	0.127
GF(Tam)	SA(Oax)	var. <i>patula</i> vs var. <i>longipedunculata</i>	0.241
LV(Ver)	SA(Oax)	var. <i>patula</i> vs var. <i>longipedunculata</i>	0.150
PA(Qro)	SA(Oax)	var. <i>patula</i> vs var. <i>longipedunculata</i>	0.151
CP(Qro)	SA(Oax)	var. <i>patula</i> vs var. <i>longipedunculata</i>	0.155
SB(Hgo)	SA(Oax)	var. <i>patula</i> vs var. <i>longipedunculata</i>	0.121
ZP(Hgo)	SA(Oax)	var. <i>patula</i> vs var. <i>longipedunculata</i>	0.132

VC(Méx)	SA(Oax)	var. <i>patula</i> vs var. <i>longipedunculata</i>	0.130
SE(Mor)	SA(Oax)	var. <i>patula</i> vs var. <i>longipedunculata</i>	0.185
TL(Tlx)	SA(Oax)	var. <i>patula</i> vs var. <i>longipedunculata</i>	0.159
EC(Pue)	SA(Oax)	var. <i>patula</i> vs var. <i>longipedunculata</i>	0.170
LF(Gro)	SA(Oax)	var. <i>longipedunculata</i>	0.154
CH(Gro)	SA(Oax)	var. <i>longipedunculata</i>	0.161
IJ(Oax)	SA(Oax)	var. <i>longipedunculata</i>	0.191
GF(Tam)	SY(Oax)	var. <i>patula</i> vs var. <i>longipedunculata</i>	0.192
LV(Ver)	SY(Oax)	var. <i>patula</i> vs var. <i>longipedunculata</i>	0.123
PA(Qro)	SY(Oax)	var. <i>patula</i> vs var. <i>longipedunculata</i>	0.132
CP(Qro)	SY(Oax)	var. <i>patula</i> vs var. <i>longipedunculata</i>	0.132
SB(Hgo)	SY(Oax)	var. <i>patula</i> vs var. <i>longipedunculata</i>	0.101
ZP(Hgo)	SY(Oax)	var. <i>patula</i> vs var. <i>longipedunculata</i>	0.099
VC(Méx)	SY(Oax)	var. <i>patula</i> vs var. <i>longipedunculata</i>	0.092
SE(Mor)	SY(Oax)	var. <i>patula</i> vs var. <i>longipedunculata</i>	0.137
TL(Tlx)	SY(Oax)	var. <i>patula</i> vs var. <i>longipedunculata</i>	0.107
EC(Pue)	SY(Oax)	var. <i>patula</i> vs var. <i>longipedunculata</i>	0.109
LF(Gro)	SY(Oax)	var. <i>longipedunculata</i>	0.132
CH(Gro)	SY(Oax)	var. <i>longipedunculata</i>	0.135
IJ(Oax)	SY(Oax)	var. <i>longipedunculata</i>	0.157
SA(Oax)	SY(Oax)	var. <i>longipedunculata</i>	0.163