



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

SISTEMÁTICA

VARIACIÓN MORFOLÓGICA Y GENÉTICA DE *Bessera* (ASPARAGACEAE,

BRODIAEOIDEAE)

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

DAFNE ARIADNA CÓRDOVA MAQUEDA

TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: DR. ELOY SOLANO CAMACHO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA, UNAM

COMITÉ TUTOR: DR. ABISAÍ JOSUÉ GARCÍA MENDOZA

INSTITUTO DE BIOLOGÍA, UNAM

DRA. JUNE KILPATRICK SIMPSON WILLIAMSON

CINVESTAV IRAPUATO

CD. MX.

OCTUBRE, 2019



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
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA
SISTEMÁTICA

**VARIACIÓN MORFOLÓGICA Y GENÉTICA DE *Bessera* (ASPARAGACEAE,
BRODIAEOIDEAE)**

TESIS

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

PRESENTA:

DAFNE ARIADNA CÓRDOVA MAQUEDA

TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: DR. ELOY SOLANO CAMACHO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA, UNAM
COMITÉ TUTOR: DR. ABISAÍ JOSUÉ GARCÍA MENDOZA
INSTITUTO DE BIOLOGÍA, UNAM
DRA. JUNE KILPATRICK SIMPSON WILLIAMSON
CINVESTAV IRAPUATO

MÉXICO, CD. MX.

OCTUBRE, 2019

OFICIO CPCB/1070/2019

Asunto: Oficio de Jurado para Examen de Grado.

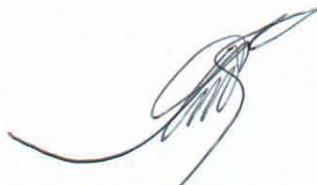
M. en C. Ivonne Ramírez Wence
Directora General de Administración Escolar, UNAM
P r e s e n t e

Me permito informar a usted que el subcomité de Biología Evolutiva, Ecología, Manejo Integral de Ecosistemas y Sistemática, del Posgrado en Ciencias Biológicas, en su sesión ordinaria del día 28 de enero de 2019, aprobó el jurado para la presentación del examen para obtener el grado de **MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS** de la alumna, **CÓRDOVA MAQUEDA DAFNE ARIADNA** con la tesis titulada "**Variación morfológica y genética de *Bessera* (Asparagaceae, Brodiaeoideae)**", realizada bajo la dirección del **DR. ELOY SOLANO CAMACHO**:

Presidente: DRA. PATRICIA DÁVILA ARANDA
Vocal: DR. ABISAÍ GARCÍA MENDOZA
Secretario: DRA. TERESA MARGARITA TERRAZAS SALGADO
Suplente: DR. DAVID NAHÚM ESPINOSA ORGANISTA
Suplente: DR. EZEQUIEL HERNÁNDEZ PÉREZ

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 3 de octubre de 2019.



DR. ADOLFO GERARDO NAVARRO SIGÜENZA
COORDINADOR DEL PROGRAMA



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

COORDINACIÓN DEL POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
UNIDAD DE POSGRADO

Edificio D, 1º Piso. Circuito de Posgrados, Ciudad Universitaria
Alcaldía Coyoacán. C. P. 04510 CDMX
Tel. (+5255)5623 7002 <http://pcbiol.posgrado.unam.mx/>

AGRADECIMIENTOS INSTITUCIONALES

Al Posgrado en Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Autónoma de México, por la oportunidad de realizar mis estudios de maestría y la formación académica recibida.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (Conacyt) por la beca otorgada con número de becario/CVU: 824142.

A mi tutor, el Dr. Eloy Solano Camacho, y a mi comité tutor, los doctores Abisaí Josué García Mendoza y June Kilpatrick Simpson Williamson, por su asesoría, apoyo académico y conocimientos brindados en el desarrollo de este proyecto de investigación.

AGRADECIMIENTOS A TÍTULO PERSONAL

Al Dr. Eloy Solano Camacho, por la paciencia, el apoyo y conocimiento que me brindó, ya que sus enseñanzas han sido de gran valía para mi formación académica y profesional.

A la Dra. June Simpson por darme la oportunidad de trabajar en el Laboratorio de Genética del Desarrollo del Departamento de Ingeniería Genética que se encuentra a su cargo en el Centro de Investigación y Estudios Avanzados (CINVESTAV), Campus Irapuato, que fue de vital importancia al realizar este estudio.

Al Dr. Abisaí García Mendoza, por su gran contribución y valiosas observaciones a lo largo de la investigación y la elaboración de esta tesis.

A los integrantes de jurado de examen: Dra. Patricia Dávila Aranda, Dr. Abisaí García Mendoza, Dra. Teresa Margarita Terrazas Salgado, Dr. Ezequiel Hernández Pérez y Dr. David Nahum Espinosa Organista, por las observaciones y aportaciones realizadas al trabajo, que enriquecieron considerablemente el manuscrito final.

A mi prometido Isaac Diaz Ortega, a mis padres Germán Córdova Ángel y Celia Maqueda Sanabria, por el infinito apoyo que me brindaron en el transcurso de la maestría, acompañándome a recolectar ejemplares y trasladarlos al laboratorio en Irapuato, brindándome su amor y apoyo incondicional en todo momento, ellos convirtieron esta experiencia en una aventura inolvidable.

A una gran amiga y docente, la M. en C. Magdalena Ayala Hernández y al M. en C. Ramiro Ríos Gómez por su invaluable apoyo durante la recolecta de los ejemplares en campo.

Al M. en C. Miguel Rivera Lugo por sus sugerencias, observaciones y conocimiento compartido durante todo el proceso de este trabajo de investigación. Además, por brindarme su amistad, la cual valoro mucho.

A la M. en C. Katia del Carmen Gil Vega, por la asistencia, el conocimiento y tiempo compartido durante la parte experimental correspondiente al análisis genético.

A mi hermana Analie Córdova Maqueda, te quiero muchísimo, gracias por la ayuda y la compañía durante el trabajo de herbario.

A la M. en C. Arely Viridiana Pérez por toda la ayuda brindada durante el trabajo de laboratorio, por el tiempo dedicado y por hacer de mi estancia en Irapuato una bonita y divertida experiencia que recuerdo con mucho cariño.

A mi suegra Leticia Ortega, mis cuñadas Viridiana Diaz y Claudia Diaz, mis sobrinos Jacobo Aranda y Noé Antonio y mi suegro Francisco Diaz que en paz descanse, les agradezco con el corazón abrirme las puertas de su casa y dejarme entrar en su hermosa familia. Los quiero mucho.

A mi gran amiga Thalia Ortega Bravo, quien a pesar de la distancia que provoca nuestro atareado día a día, siempre me ha demostrado su amistad y apoyo incondicional. Bffa: te llevo siempre en mi corazón.

A Mara Tolentino Velázquez, Saúl Arias Corpus, Frida Barragan López, Roberto Rosales Alcalde, Celic Rodríguez López, Eyvar Cedeño Cervantes, Jaime Jasso Chávez, Ricardo Nava Velázquez, Jessica Rangel Hernández y a mi primo Misael Cano Maqueda por brindarme su amistad y todos los bonitos momentos que hemos compartido, los quiero y valoro mucho.

DEDICATORIAS

A mi prometido Isaac Emmanuell Diaz Ortega, por otro logro que hemos alcanzado juntos, por haberme impulsado a iniciar mis estudios de posgrado y siempre estar a mi lado sujetando mi mano y brindándome su amor y apoyo incondicional en el estrés, los desvelos, viajes de recolecta improvisados, los días complicados y momentos felices que han formado parte de este proyecto de principio a fin. Por ser un gran compañero de vida y mi gran amor. Gracias por ser, por estar, por cada día que a tu lado ha sido maravilloso y un gran aprendizaje. “En descuidos crearemos universos...” ¡Te amo!

A mi madre Celia Maqueda Sanabria y a mi padre Germán Córdova Ángel, quienes siempre han sido mi ejemplo y me han inculcado el amor por la vida, la ciencia y el conocimiento, ustedes con su amor eterno y grandes enseñanzas formaron a la mujer que soy actualmente. Este logro es por y para ustedes, espero que se sientan tan orgullosos de mi como yo lo estoy de ustedes.

“Soñaba con poder lograr, vivir del cuento a una buena edad, sin que asomara ni una cana de impaciencia...”

ÍNDICE

	Páginas
RESUMEN	1
I INTRODUCCIÓN	3
II ANTECEDENTES	4
III HIPÓTESIS	8
IV OBJETIVOS	8
V METODOLOGÍA	9
VI RESULTADOS	13
VII DISCUSIÓN	41
VIII CONCLUSIONES	44
IX LITERATURA CITADA	45

LISTA DE FIGURAS

		Páginas
1	Sitios de recolecta de especímenes e individuos vivos para análisis de ADN de <i>Behria</i> y <i>Bessera</i>	14
2	Distribución geográfica de <i>Bessera</i> y <i>Behria</i>	15
3	Gráfica de dispersión de puntos para el largo del corno de los individuos de <i>Bessera</i> y <i>Behria</i>	24
4	Gráfica de dispersión de puntos para el largo del corno de los individuos de <i>Bessera</i> y <i>Behria</i>	24
5	Dispersión y tendencias fenotípicas de los individuos analizados con ACD	32
6	Distancias morfológicas de individuos pertenecientes a <i>Behria</i> y <i>Bessera</i>	34
7	Algunas de las poblaciones recolectadas que muestran la variación en el color de las flores	36
8	Electroforesis que muestra la presencia e integridad del ADN en algunas muestras de <i>Bessera</i>	37
9	Electroforesis con algunas muestras preamplificadas de ADN correspondientes a individuos de <i>Bessera</i>	37
10	Algunos polimorfismos en la longitud de fragmentos de ADN amplificados de diferentes muestras de <i>Bessera</i> , reconocidos con el programa Geneious, versión 6.01	38
11	Agrupación de los individuos de <i>Behria</i> y <i>Bessera</i> , con base en sus distancias genéticas determinadas con AFLP's	40

LISTA DE CUADROS

	Páginas
1 Ubicación geográfica, tipos de vegetación y números de recolecta de las poblaciones muestreadas	16
2 Estadística básica de los ejemplares de <i>Behria</i> y <i>Bessera</i> evaluados en el análisis morfométrico	22
3 Caracteres y estados de carácter de <i>Bessera</i> y <i>Behria</i> utilizados en el análisis morfométrico	25
4 Correlación y significancia de los caracteres de <i>Bessera</i> y <i>Behria</i> analizados en el análisis morfométrico	28
5 Funciones discriminantes y porcentaje de la varianza de los datos analizados	30
6 Proporción de cada una de las variables en las primeras tres funciones discriminantes, con las variables que explican la agrupación señaladas	31
7 Probabilidad de que los individuos hayan sido asignados a los grupos establecidos <i>a priori</i>	33
8 Número de recolecta y población correspondientes a las muestras analizadas genéticamente	35
9 Diversidad genética de los AFLP's en diferentes poblaciones de <i>Behria</i> y <i>Bessera</i>	39

RESUMEN

Bessera y *Behria* (Asparagaceae), son géneros endémicos de México y presentan problemas en su delimitación taxonómica. *Bessera* está conformado por dos especies validas, *B. elegans* y *B. tuitensis*. La primera tiene distribución geográfica y variabilidad morfológica amplias, que dificultan su reconocimiento y delimitación taxonómica. En este estudio se analizó la diversidad morfológica y genética que presentan diferentes poblaciones de *Bessera* y *Behria*, para definir la relación entre ambos géneros y delimitar las especies que los conforman. Se muestrearon en campo 19 poblaciones, una de *Behria* y 18 de *Bessera*, también se colectó material para los análisis morfológicos y moleculares. En el morfológico se emplearon 262 ejemplares procedentes de estas recolectas y de colecciones históricas. Se evaluaron 105 estados de carácter vegetativos y reproductivos, codificándose en una matriz multiestado. Se realizaron análisis discriminante canónico y de conglomerados. Se construyó una matriz de similitud empleando un coeficiente de distancia y mediante el método de agrupamiento UPGMA se elaboró un árbol de similitud. Para el análisis genético se utilizó la técnica de AFLP's, mediante la cual se registraron 160 loci por población. Se construyó una matriz de presencia-ausencia y otra de similitud y con el mismo coeficiente y técnica de agrupamiento señaladas en el análisis morfológico, se obtuvo el árbol de distancias genéticas. Los cuatro análisis coinciden en que *Behria* y *Bessera* son géneros independientes. Asimismo, el análisis discriminante canónico y los árboles de distancia morfológica y genética separan a *Bessera tuitensis* de *Bessera elegans* s. l. Sin embargo, de esta última especie se disgregan poblaciones con características morfológicas y genéticas bien definidas, que podrían ser consideradas como especies o variedades nuevas.

ABSTRACT

Bessera and *Behria* are genera endemic to Mexico and show problems in their taxonomical delimitation. *Bessera* is made up of two valid species, *B. elegans* and *Bessera tuitensis*. The first has a wide geographical distribution and morphological variability, which complicates its taxonomical delimitation and recognition. This study examined the morphological and genetic diversity in different populations of *Bessera* and *Behria*, in order to define the relation between both genera and to recognize the limits of their species. Nineteen populations were sampled on the field, one of *Behria* and eighteen of *Bessera*. Additionally, material was collected for the morphological and molecular analyses. In the morphological analysis, 262 specimens were employed. An analysis of 105 vegetative and reproductive states was done and coded in a multistate matrix. Analyses canonical discriminants and clusters. A similarity matrix was prepared using a distance coefficient, and a neighbor joining was generated through the UPGMA grouping method. For the genetic analysis, the AFLP technique was used. 160 loci were registered per population. A presence/absence matrix was generated, as well as another similarity matrix, and the genetic distance tree was obtained using the same coefficient and grouping technique mentioned in the morphological analysis. The results of the four analyses coincide that *Behria* and *Bessera* are independent genera. Additionally, the canonical discriminatory analysis and the morphological and genetic distance trees enabled to separate *Bessera tuitensis* from *Bessera elegans* s. l. From the latter species, populations with well-defined morphological and genetic characteristics were separated, which could be considered new species or varieties.

I INTRODUCCIÓN

De acuerdo con APG III (2009) y APG IV (2016), *Bessera* y *Behria* se incluyen en Asparagaceae, Brodiaeoideae, estos géneros forman parte del complejo o clado *Milla*, conformado por *Behria*, *Bessera*, *Dandya*, *Jaimehintonia*, *Milla* y *Petronymphe* (Moore, 1953), con una, dos, cuatro, una, once y dos especies respectivamente. Estos géneros previamente han sido incluidos en Alliaceae, Amaryllidaceae y Themidaceae, entre otras familias. Estos comparten un conjunto de atributos morfológicos, entre ellos, la presencia de un cormo, con túnicas membranáceas y nervaduras paralelas inconspicuas, ovario estípitado, ginóforo de longitud variable y base del ovario adnada al tubo del perianto (Moore, 1953; Pires y Sytsma, 2002). En particular, actualmente existe controversia para reconocer y delimitar algunas de sus especies, así como establecer los límites entre *Behria* y *Bessera*.

Bessera es un género endémico de México, que contiene dos especies, *B. elegans* que presenta una distribución amplia desde el occidente hasta el sur de México y sus poblaciones presentan variaciones morfológicas que dificultan su reconocimiento y delimitación taxonómica. Por otro lado, *Bessera tuitensis* es propia del occidente de Jalisco (Moore, 1953; Ramírez-Delgadillo, 1992).

En la zona austral de Baja California Sur se distribuye *Behria tenuiflora*, que está relacionada filogenéticamente con *Bessera*, y de hecho algunos autores consideran que tendría que incluirse en *Bessera*, mientras que, otros reconocen ambos géneros (Pires *et al.*, 2001; Pérez-Navarro, 2004).

Ante estos problemas taxonómicos que tienen *Bessera* y *Behria*, en este estudio se realizó un análisis morfométrico de los caracteres vegetativos y reproductivos de algunas poblaciones de ambos géneros, y se determinaron las distancias genéticas de las mismas con técnicas de polimorfismos en la longitud de fragmentos amplificados (AFLP's), para contestar las siguientes preguntas: ¿todas las poblaciones de *Bessera elegans* corresponden a la misma especie? ¿cuáles son los caracteres morfológicos que permiten separar a las especies de *Bessera*, y a este género de *Behria*? ¿existen diferencias morfológicas y genéticas entre las poblaciones de *Bessera* y *Behria*? y por su amplia distribución geográfica ¿*B. elegans* es una sola especie?

II ANTECEDENTES

Schultes *f.*, (1829) describió el género *Bessera*, a partir de los ejemplares que colectó Karwinski en México en 1827, y lo dedicó al profesor Wilibald S. J. G. von Besser (1784-1842), botánico austriaco-ruso. Schultes señaló en el protólogo que este género es diferente a *Bessera* que fue descrito por Sprengel (1815), y que este último corresponde a Euphorbiaceae, por lo cual, este nombre genérico es actualmente inválido para esta familia. De acuerdo con la clasificación de Linnaeus (1753), Schultes *f.*, ubicó este género en la clase Hexandria, orden Monogynia, donde incluyó a *B. elegans* y desde que fue propuesto, ha sido ubicado en diferentes familias.

Con base en la morfología de la copa que forman los filamentos al fusionarse, Herbert (1832) describió *Pharium fistulosum* como una especie diferente de *Bessera elegans*, y la ubicó en Asphodelaceae. Sin embargo, actualmente el primer nombre es sinónimo de *B. elegans*. Por otro lado, Fleming *et al.* (1834) incluyó a *B. elegans* en la familia Liliaceae, enseguida Martens y Galeotti (1842) publicaron *Bessera multiflora* y Lemaire (1848) describió *Bessera miniata*, las cuales ubicaron en esta misma familia. Estas dos últimas especies ahora se consideran sinónimos de *B. elegans*. Del mismo modo, Hässler (1849) indicó que *Bessera* debía ubicarse en Liliaceae y reconoció dos especies *B. miniata* y *B. elegans*.

Desde el siglo pasado este género ha sido clasificado en diferentes familias, entre ellas, Alliaceae (Dahlgren *et al.*, 1985; Espejo-Serna y López-Ferrari, 1992), Themidaceae (Moore, 1953; Gándara-Zamorano *et al.* 2009; Pires *et al.*, 2001; Pires y Sytsma, 2002; Judd *et al.*, 2016) y Asparagaceae, Brodiaeoideae (APGIII, 2009; APG IV, 2016). Además, Delgadillo-Ramírez (1991) describió *Bessera tuitensis*, que junto con *B. elegans* se consideran como las dos especies válidas de este género.

Un género relacionado filogenéticamente con *Bessera* es *Behria*, el cual fue propuesto por Greene (1886), quien al examinar diversos especímenes correspondientes a *Brodiaea*, notó que algunos de ellos diferían de este género por la forma tubular y el color rojo del perianto. *Behria* es un género con una sola especie, *B. tenuiflora*, endémica de Baja California Sur. Por otra parte, Macbride

(1918) transfirió *B. tenuiflora* a *Bessera*, al considerar que ambas plantas tienen el perianto rojo y los estambres exertos, connados en la base de los filamentos, y que únicamente difieren en la longitud del tubo y el grado de connación de los filamentos.

Sin embargo, la polémica sobre la situación taxonómica de *Behria tenuiflora* aún persiste. Algunos autores consideran que es un género diferente de *Bessera* (Kraus, 1930; Shreve y Wiggins, 1964; Lenz, 1971; León de la Luz y Pérez-Navarro, 2004), mientras que otros, incluyen a *Behria* como parte de *Bessera* (Moore, 1953; Ramírez-Delgadillo, 1992; Espejo-Serna y López-Ferrari, 1992; y Pires *et al.*, 2001).

Behria se distingue de *Bessera* por tener el tubo del perianto más largo, los lóbulos triangulares más pequeños, con nervaduras en bandas amarillas longitudinales, los estambres exertos y filamentos connados en la base formando una copa membranacea de hasta 0.5 mm de longitud (Greene, 1886; Lenz, 1971b; León de la Luz y Pérez-Navarro, 2004). En cambio, *Bessera* tiene flores campanuladas con el tubo del perianto corto, rojizo a púrpura, con nervaduras de los mismos colores del perianto y los filamentos unidos en la base, formando un anillo estaminal membranaceo de 20-25 mm de largo (Schultes, 1829; Moore, 1953; Lenz, 1971b).

Asimismo, se sabe que la distribución de *Behria* se restringe a la parte sur de la península de Baja California, mientras que las dos especies de *Bessera* se localizan en la parte continental de México. *Bessera tuitensis* habita una pequeña área de la porción occidental de Jalisco y *B. elegans* se localiza a lo largo de la Sierra Madre Oriental, desde el sur de Sinaloa hasta Oaxaca, y en el Eje Volcánico Transversal (Moore, 1953; Ramírez-Delgadillo, 1992; León de la Luz y Pérez-Navarro, 2004).

Además de los atributos morfológicos utilizados para separar a las especies de *Bessera* y establecer sus diferencias con *Behria*, también se han empleado otras evidencias, como los marcadores moleculares. Existen distintos tipos de marcadores, entre éstos se encuentran los microsatélites o repeticiones de secuencias simples (SSRs), la secuenciación de ADN de las mitocondrias, el cloroplasto y núcleo, además de diferentes polimorfismos como la longitud de

fragmentos de restricción (RFLP), ADN amplificados al azar (RAPD) y longitud de fragmentos amplificados (AFLP's) (Vos *et al.*,1995).

Algunos de estos marcadores se han utilizado para establecer las relaciones filogenéticas entre *Bessera* y *Behria*. Pires *et al.* (2001) y Pires y Sytsma (2002), con base en los resultados de los marcadores del cloroplasto *trnL-F*, *rbcL*, *rpl16* y *ndhF*, consideraron que *Bessera elegans* y *Behria tenuiflora* forman un grupo monofilético y al estudiar por separado *B. elegans* y *B. tuitensis* también demostraron su monofilia. Sin embargo, en este estudio no incluyeron a las tres especies de ambos géneros, para establecer alguna hipótesis sobre sus relaciones filogenéticas.

Gándara-Zamorano *et al.* (2009) realizaron un análisis filogenético de cuatro poblaciones de *Bessera* y una de *Behria*, utilizando caracteres morfológicos y moleculares, empleando el marcador del cloroplasto *psbK-psb1*. Estos autores concluyeron que las cuatro poblaciones de *Bessera* forman un grupo monofilético con un apoyo moderado, igual que *Behria*, por tanto, deben ser considerados como géneros independientes. Las sinapomorfias morfológicas de *Behria* son las flores tubulares, rojas y la copa estaminal de 0.5 mm, mientras que, de *Bessera* son las flores campanuladas, rosadas o púrpuras y el anillo estaminal hasta de 20-25 mm de largo. Además, debe considerarse que los patrones de distribución geográfica de ambos géneros son diferentes. Por otro lado, Gutiérrez *et al.* (2017) en un análisis filogenético del complejo *Milla*, consideraron a *Behria tenuiflora* como una especie correspondiente al género *Bessera*, sin embargo, en el árbol de consenso de mayoría que obtuvieron a través de inferencia bayesiana, *Bessera tenuiflora* (*Behria tenuiflora*) se separa de otras poblaciones de *Bessera elegans* y *Bessera tuitensis*.

Los AFLP's, técnica que se usó en este estudio, combinan el corte de ADN genómico con enzimas de restricción y la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Estas técnicas permiten detectar polimorfismos por cambios en los sitios de reconocimiento de las enzimas de restricción, y detectan múltiples loci polimórficos en el genoma. Esta técnica se ha usado exitosamente para determinar

la diversidad genética en especies de Asparagaceae, del género *Agave* (Keb-Llanes *et al.*, 2002; Barraza-Morales *et al.*, 2006; Gil-Vega *et al.*, 2007; Rivera-Lugo *et al.*, 2018; Vázquez-Pérez, 2015). Con base en estos estudios, los AFLP's son útiles para detectar huellas genéticas y mapear genes. Entre las ventajas que ofrece este método están su confiabilidad y consistencia, en comparación con otras técnicas de detección de polimorfismos, debido a las condiciones de alta astringencia bajo las cuales se llevan a cabo las reacciones de PCR y la capacidad de detectar rápidamente gran cantidad de *loci* polimórficos. Además, estos marcadores no requieren del conocimiento previo del genoma en términos de análisis de secuenciación, síntesis de oligonucleótidos indicadores (*primers*) o caracterización de sondas de ADN (Vos *et al.* 1995; Simpson, 1997).

III HIPÓTESIS

1) *Behria* y *Bessera* difieren en sus características morfológicas y genéticas, por tanto, son géneros diferentes. 2) *Bessera* incluye más especies que las dos reconocidas actualmente, ya que algunas poblaciones de *Bessera elegans*, tienen diferencias morfológicas y genéticas, por tanto, deben considerarse como especies o variedades nuevas.

IV OBJETIVOS

General

Analizar la diversidad morfológica y genética de diferentes poblaciones de los géneros *Bessera* y *Behria* para delimitar los géneros y diferenciar las especies que los conforman.

Particulares

Estudiar las características morfológicas y genéticas de diferentes poblaciones de los géneros *Bessera* y *Behria*.

Contrastar las diferencias morfológicas y genéticas entre los géneros *Behria* y *Bessera*.

Reconocer los caracteres morfológicos que permitan delimitar los taxones que integran al complejo *Bessera elegans*.

Establecer la congruencia entre las variaciones morfológicas y las genéticas de los géneros *Bessera* y *Behria*.

V METODOLOGÍA

Para establecer la historia taxonómica de *Bessera* y *Behria*, se realizó una revisión bibliográfica exhaustiva, se consultaron los protólogos de cada taxón, las revisiones taxonómicas, monografías, floras y otras publicaciones en las cuales se mencionan las especies de estos géneros. Se solicitaron, en calidad de préstamo, ejemplares depositados en herbarios nacionales y extranjeros. Con base en la información de las localidades contenida en las etiquetas de los ejemplares de herbario, aquellos especímenes que carecían de coordenadas geográficas fueron georreferenciados en Google Earth Pro. A partir de los datos contenidos en las etiquetas de herbario, se estableció el itinerario para la recolecta y se elaboró el mapa de distribución geográfica de ambos géneros, en este mapa se incluyó información contenida en la Red Mundial sobre Biodiversidad de la Conabio. Durante la herborización se registraron caracteres que podían perderse durante el secado, tales como los colores de las flores o la presencia de máculas. Los ejemplares se encuentran depositados en FEZA y MEXU.

Para los análisis de ADN se cosecharon entre 10 y 15 individuos en poblaciones provenientes de los estados de Aguascalientes, Baja California Sur, Estado de México, Guerrero, Jalisco, Michoacán, Morelos, Nayarit y Oaxaca. Las plantas se mantuvieron vivas en macetas y fueron transportadas al Laboratorio de Genética del Desarrollo del Departamento de Ingeniería Genética del Centro de Investigación y Estudios Avanzados (CINVESTAV), unidad Irapuato donde fueron procesadas.

Se realizó un análisis morfométrico con especímenes de *Behria* y *Bessera*, recolectados en campo y procedentes de colecciones. Se evaluaron caracteres vegetativos y reproductivos, tanto cuantitativos como cualitativos (Cuadro 3). Los caracteres cuantitativos se midieron con una regla metálica y un vernier digital marca Truper, para los caracteres micromorfológicos se utilizó un estereoscopio Nikon modelo SMZ745. La evaluación de los caracteres cualitativos se realizó a simple vista o con ayuda del estereoscopio.

Para calcular las medias y desviaciones estándar, los caracteres cuantitativos fueron analizados estadísticamente con el programa STATA versión 12.0. Con el fin de identificar y eliminar los caracteres altamente correlacionados de cada población, se realizó un análisis de correlación con el mismo programa. En análisis de la variación morfológica, para ubicar los individuos en las diferentes poblaciones o especies reconocidas a priori de *Bessera* y *Behria*, con los datos cuantitativos se realizó un análisis discriminante canónico (ADC).

Con el objeto de identificar las diferencias morfológicas entre las poblaciones de *Bessera* y *Behria*, se realizó un análisis de agrupamiento. Para transformar los caracteres continuos a discretos, con STATA se construyeron Diagramas de dispersión de puntos de cada uno de los caracteres, en cada gráfica se observó la distribución de los puntos correspondientes a cada Unidad Taxonómica Operativa (OTU's por sus siglas en inglés) y se trazó una línea paralela al eje de las abscisas, para definir los intervalos. Enseguida se codificaron los caracteres y con base en ella se construyó una matriz básica de datos multi-estado. A partir de ésta, se generó una matriz de similitud por medio del coeficiente de distancia euclidiana. Como algoritmo de agrupamiento se utilizó la media aritmética no ponderada (UPGMA por sus siglas en inglés), por medio del software NTSYS versión 2.1.

Para la obtención de los AFLP's, las muestras de tejido provinieron de las hojas, las cuales fueron desinfectadas previamente con alcohol etílico al 70%. Con ayuda de un bisturí se prepararon muestras de 1 g para la extracción de ADN y 2 g para respaldo, las cuales fueron pesadas en una balanza analítica L6, Ohaus. Las muestras se colocaron en tubos eppendorf de 2 mL. Enseguida se congelaron por inmersión en nitrógeno líquido (-196°C) y se almacenaron en un ultra congelador (-80°C).

Las muestras se molieron con el equipo TissueLyser II de QIAGEN y la extracción de ADN se realizó con los kits DNeasy Plant Mini Kit y DNeasy 96 Plant de la marca referida. La concentración de ADN extraído se cuantificó con un Nano Drop 2000, Thermo Scientific™ y un espectrofotómetro para Microplacas Epoch 2, BioTek. Se realizaron las diluciones necesarias para que todas las muestras

tuvieran una concentración de 20 ng/μL. La integridad del ADN se confirmó por medio de electroforesis en geles de Agarosa+GelRed al 1%.

Los AFLP's se obtuvieron a partir de las muestras de ADN siguiendo el Protocolo de Vos *et al.* (1995) modificado por Simpson (1997). Los reactivos necesarios para la obtención de los mismos están incluidos en el kit de preparación de templado LI-COR. Todas las reacciones se realizaron a 0 °C en hielo y se incubaron en un termociclador Veriti™ 96-Well, Applied Biosystems™.

Con el fin de digerir el ADN genómico y generar fragmentos pequeños, la digestión de las muestras se realizó en tubos eppendorf de 0.5 mL con 90 ng de ADN y dos enzimas de restricción, una de corte frecuente (EcoR1) y la otra de corte raro (Mse1). Para corroborar que las reacciones se realizaron correctamente, al terminar la digestión, a ocho muestras seleccionadas al azar, se les realizó una electroforesis igual a la referida. Para el ligado de los fragmentos de ADN generados por la digestión, en los tubos eppendorf se añadieron adaptadores de doble cadena de ADN, los cuales están diseñados para ligarse a los extremos de los fragmentos y generar los templados para la amplificación. Para la pre-amplificación (primera amplificación), se usó la mezcla de iniciadores o "*primers*" de preamplificación incluidos en el kit templado LI-COR, que permitió amplificar las regiones flanqueantes que contienen los sitios de unión del *primer* y el de restricción.

Para asegurar que las reacciones se realizaron correctamente, al concluir la preamplificación, todas las muestras se sometieron a electroforesis en gel de agarosa+GelRed al 1%. Para la Amplificación selectiva se utilizaron *primers* marcados con fluorescencia LI-COR, con tres nucleótidos selectivos en el extremo 5' [VicEcoR1AGA (verde), FamEcoR1+AGC (azul), PET-EcoR1+ACA (rojo) y NED-EcoR1+ACT(amarillo)] y *primers* sin marcar (Mse1ACG y Mse+ACA). Se realizaron cuatro combinaciones diferentes, a 0 °C y sin exposición a la luz para que no decayera la fluorescencia de los *primers*. Las placas con las combinaciones finales fueron enviadas para su secuenciación al Laboratorio Nacional de Genómica para la Biodiversidad (LANGEBIO) del CINVESTAV, Irapuato. Para localizar los polimorfismos, las secuencias fueron alineadas con el programa *Geneious*, versión

6.01. Con los AFLP's obtenidos se elaboró una matriz básica de presencia-ausencia que fue analizada con el programa Freetree. Primero se obtuvo la matriz de correlación por medio del índice de distancia Nei and Li/Dice. A partir de esta matriz se obtuvo el árbol de similitud genética de las poblaciones analizadas, utilizando la media aritmética no ponderada (UPGMA, por sus siglas en inglés) como método de agrupamiento. Se realizaron 3000 repeticiones y se usó el método de *bootstrap* para calcular la robustez del árbol.

VI RESULTADOS

Se realizaron siete salidas al campo a las poblaciones de *Bessera* y *Behria*, correspondientes a los estados de Aguascalientes (Ags), Baja California Sur (BCS), Estado de México (Edo. de Mex.), Guerrero (Gro), Jalisco (Jal), Michoacán (Mich), Morelos (Mor), Nayarit (Nay) y Oaxaca (Oax), para recolectar y herborizar especímenes e individuos que se mantuvieron vivos para los análisis de ADN. Se muestrearon 19 poblaciones, una de *Behria* y 18 de *Bessera*, de cada una de ellas se extrajeron de diez a 14 individuos (Fig. 1). En el cuadro 1 se indican algunos datos de las localidades de recolecta.

Con base en la información contenida en 251 ejemplares de *Behria* y *Bessera* se elaboró el mapa de distribución geográfica, 95 de estos registros proceden de MEXU y 155 de otras colecciones nacionales y extranjeras (AH, CHAPA, CIECO, EBUM, ENCB, FCME, HCIB, HUMO, IA, IB, IBUG, IEB, JES, NY, RSA, SERO, SLPM, TUC, UAMIZ, UAS, UAZ, UC, US, XAL, ZEA), 30 fueron recolectados durante las salidas al campo. Además, se revisaron 484 ejemplares en colecciones virtuales, de todos ellos, a 231 se les ubicó geográficamente (Fig. 2).

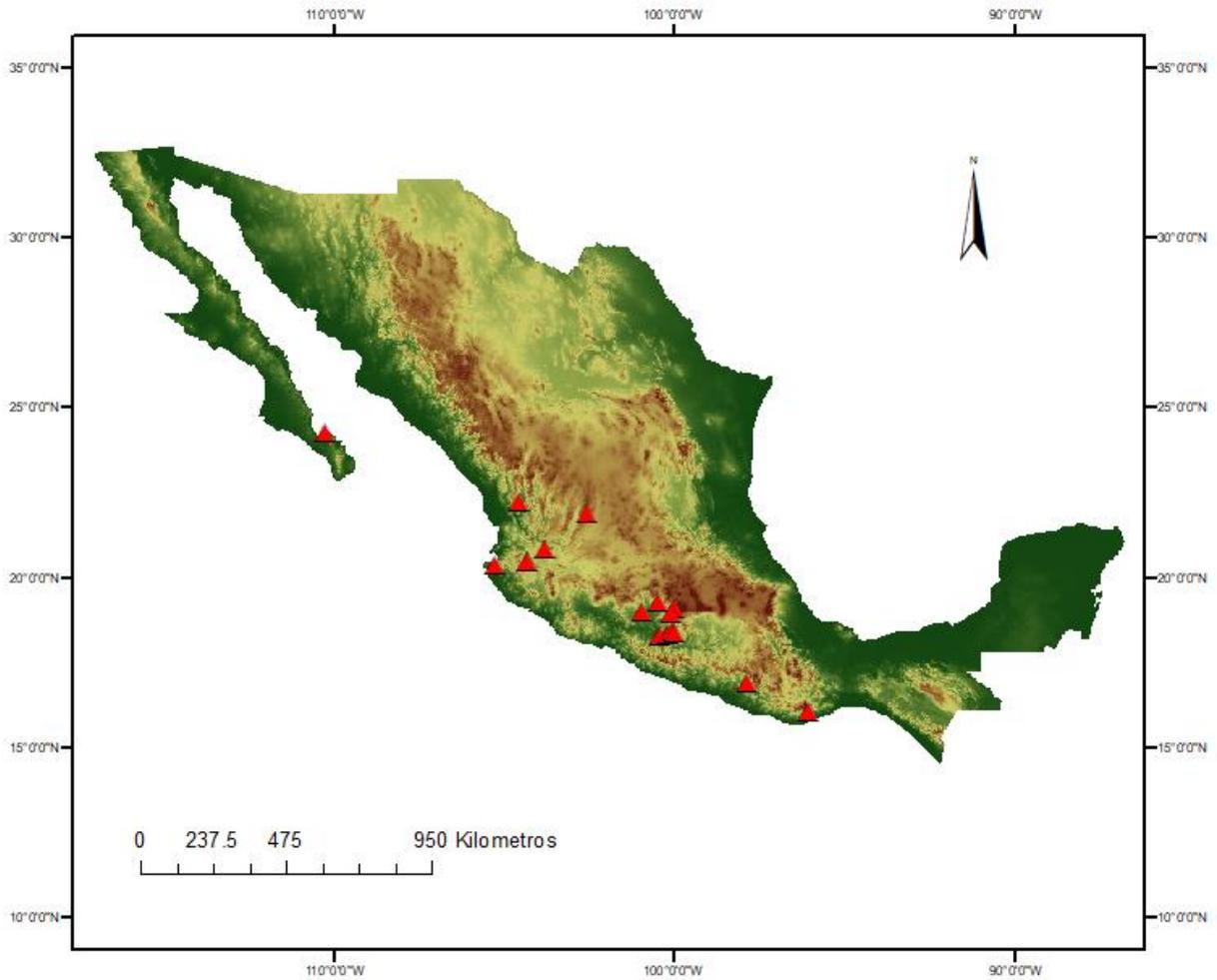


Fig. 1. Sitios de recolecta de especímenes e individuos vivos para análisis de ADN de *Behria y Bessera*.

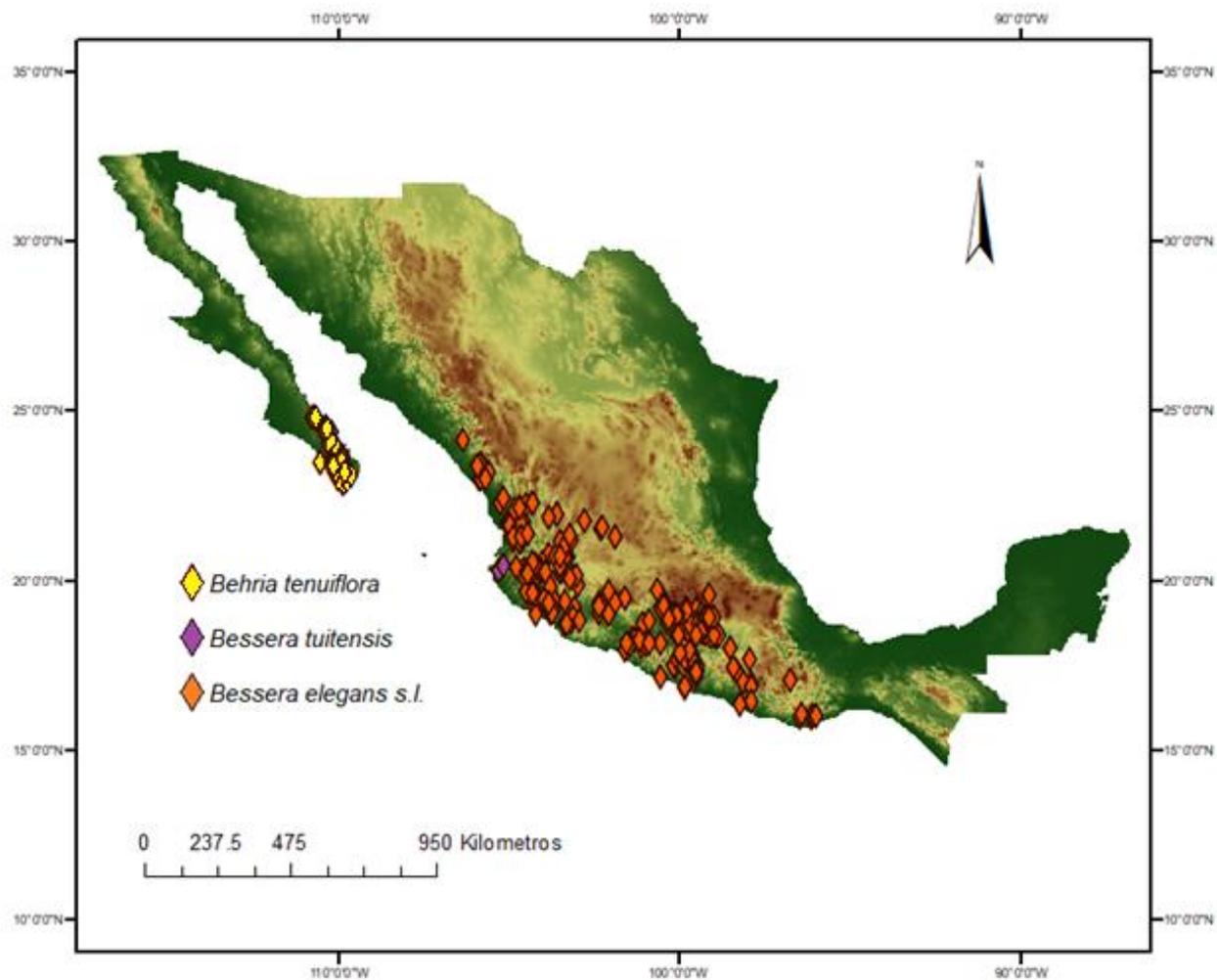


Fig.2. Distribución geográfica de *Bessera* y *Behria*.

Cuadro 1. Ubicación geográfica, tipos de vegetación y números de recolecta de las poblaciones muestreadas.

Especie	Ubicación	Tipo de vegetación	Número de recolecta y recolector
<i>Behria tenuiflora</i>	Baja California Sur, La Paz, sobre la carretera La Paz a Pichilingue (24.25794444 N y 110.3129444 W). Altitud 12 m.	matorral xerófilo	1834 RRG
<i>Bessera elegans</i> s.l.	Aguascalientes, Calvillo y alrededores de la presa Malpaso (21.86416667 N, 102.6302778 W). Altitud 1798.	selva baja caducifolia en ecotono con matorral xerófilo	5641 ESC
	Estado de México, orilla de la carretera Temascaltepec-Tejupilco (19.04775 N, 100.0531083 W). Altitud 1750 m.	restos de bosque de pino	4945 ESC
	Estado de México, entrada a Temascaltepec (18.94661111 N, 100.133 W). Altitud 1750 m.	restos de bosque de pino-encino.	4947 ESC
	Estado de México, entrada a Temascaltepec (18.94661111 N, 100.133 W). Altitud 1750 m.	restos de bosque de pino-encino.	7 DCM
	Guerrero, Benito Juárez, carretera Arcelia-Teloloapan (18.40052778 N, 100.0734444 W). Altitud 1454 m.	selva baja caducifolia	4822 ESC
	Guerrero, Benito Juárez, 0.5 km NW de Tlapehuala (18.28238889 N, 100.4486111 W). Altitud 366 m.	selva baja caducifolia	4820 ESC

Continúa cuadro 1

Especie	Ubicación	Tipo de vegetación	No. De recolecta y recolector
<i>Bessera elegans</i> s.l.	Guerrero, terracería a Arcelia (18.28855556 N, 100.2232778 W). Altitud 762 m.	bosque de <i>Curatella</i>	4821 ESC
	Jalisco, carretera Ameca-Puerto Vallarta (20.45747222 N, 104.3920833 W). Altitud 1634 m.	bosque de encino	4954 ESC
	Jalisco, carretera Ameca-Puerto Vallarta (20.45747222 N, 104.3920833 W). Altitud 1634 m.	bosque de encino	4957 ESC
<i>Bessera tuitensis</i>	Jalisco, Puerto Vallarta km 177 (20.37277778 N, 105.3114167 W). Altitud 727 m.	bosque de pino	4959 ESC
<i>Bessera elegans</i> s.l.	Jalisco, Tequila, terracería al volcán de Tequila (20.83897222 N, 103.8491667 W). Altitud 1618 m.	bosque de pino	9 DCM
	Michoacán, carretera Zitácuaro-Tuzantla, Los Guajes, 1 km antes de Tuzantla (19.23838889 N, 100.4898889 W). Altitud 1104 m.	selva baja caducifolia	4819 ESC
	Michoacán, carretera Zitácuaro-Tuzantla, Los Guajes, 1 km antes de Tuzantla (19.23838889 N, 100.4898889 W). Altitud 1104 m.	selva baja caducifolia	4819b ESC
	Michoacán, Las Guacamayas, Carácuaro (18.96794444 N, 100.9908611 W). Altitud 794 m.	selva baja caducifolia	4953 ESC

Continúa cuadro 1

Especie	Ubicación	Tipo de vegetación	No. De recolecta y recolector
<i>Bessera elegans</i> s.l.	Morelos, carretera a Ixcatepec, Valle de Ayala (18.36544444 N, 100.0467778 W). Altitud 1657 m.	bosque de encino	9451 ESC
	Nayarit, El Nayar, 5 km después de la Mesa el Nayar hacia Santa Lucía (22.2291667 N, 104.6188888 W). Altitud 1220 m.	bosque de encino.	1386 JGG
	Oaxaca, Putla, 2 km al S de la Palma (16.88984722 N, 97.89011389 W). Altitud 963 m.	bosque de pino	4928 ESC
	Oaxaca, Pochutla, San Miguel del Puerto, 2 km al N de Santa María Xadani (16.00722222 N, 96.06083333 W). Altitud 430 m.	selva mediana perennifolia	8DCM

ESC=Eloy Solano Camacho, RRG=Ramirio Ríos Gómez, JGG=Jorge Gutiérrez Gallegos y DCM=Dafne Córdova Maqueda)

Behria Greene Bull. Calif. Acad. Sci. 2(6B): 143–144. 1886.

Behria tenuiflora Greene Bull. Calif. Acad. Sci. 2(6B): 143–144. 1886.

Bessera tenuiflora J.F. Macbr. Contr. Gray Herb. 56: 11. 1918.

TIPO: MÉXICO: *They are ticketed "San José del Cabo" which means that they are from Cape St. Lucas or thereabouts, but the name collector is unknown.* No localizado.

Hierbas perennes, geófitas, con un corno subgloboso 1.0-2.7 × 0.9-2.4 cm, cubierto por túnicas membranáceas pardo-marrón; hojas 2-5, lineares, 37-77 × 0.1-0.3 cm, plano-convexas o casi teretes, fistulosas fasciculadas, aciculares, decumbentes, con estrías longitudinales; inflorescencia una umbela, generalmente solitaria,

pedúnculo cilíndrico, erecto o algo curvado, hasta de 30-76 cm de largo, brácteas 3-5, pedicelos 1.3-3.3 cm de largo, flores 2-55 por umbela; flores escarlatas, semi-erectas, tubulares, zigomorfas, 1.6-3.3 cm de largo, sacciformes en su base, con nervaduras en una franja amarilla que recorren el tubo floral desde su base hasta el ápice de los lóbulos, perianto con 6 lóbulos desiguales 1.7-5.7 × 0.9-2.7 mm, estambres 6, insertos en la base del tubo formando una copa pequeña de 0.5-0.7 mm de largo, a partir de allí libres, exertos, filiformes, blanco-rosados, dilatados en la inserción, anteras hasta de 1-7-3.5 mm de largo, verde-oscuras, ovario ovoide, trilocular, 4-5 mm de largo, 2 mm de diámetro, óvulos 20 a 30, provisto de un ginóforo de 2-3 mm, estilo filiforme, verde cuando fresco, de hasta 1.6-2.9 cm de largo, estigma apical, en forma de disco papiloso, de 0.6-1.4 mm de diámetro; fruto una cápsula loculicida, 10-13 × 5-11 mm; semillas más de 20, oscuras, lustrosas, irregularmente lenticulares, de hasta 1 mm de diámetro.

Bessera Schult. f. *Linnaea* 4(1): 121. 1829.

Bessera elegans Schult. f. *Linnaea* 4(1): 121. 1829.

Bessera fistulosa Pritz. *Icon. Bot. Index* 147. 1854. TIPO: No localizado.

Bessera herbertii G. Don *Hort. Brit.* 3: 694. 1839. TIPO: No localizado.

Bessera miniata Lem. *Fl. Serres Jard. Eur.* 4: f. 1. 424. 1848. TIPO: MÉXICO: *montagnes du Mexique.*

Bessera multiflora M. Martens & Galeotti. *Bull. Acad. Roy. Sci. Bruxelles.* 9(2): 385. 1842. TIPO: MÉXICO: *cette charmante plante croît dans les ravins sombres et humides du Michoacan, Près d'Arumbaro, à 3,000 pieds, et sur les laves d'Uruapan, à 4,000 pieds.* No localizado.

Pharium elegans Steud. *Nomencl. Bot.* 2: 316. 1841. TIPO: MÉXICO: No localizado.

Pharium fistulosum Herb. *Edwards's Bot. Reg.* 18: t. 1546. 1833. TIPO: MÉXICO: *little bulb flowered in the Greenhouse at Spofforth in September, having been imported from Mexico by Mr. Tate, of the Sloane-street Nursery, Chelsea.*

Pharium herbertii Steud. *Nomencl. Bot.* 2: 316. 1841. TIPO: MÉXICO: No localizado.

Hierbas perennes, geófitas; cormo subgloboso, con túnicas internas delgadas, amarillas a pardas y túnicas exteriores membranáceas pardas; hojas 1-9, lineares,

18-142 × 0.5-6.0 cm, plano-convexas o casi teretes, fistulosas fasciculadas, aciculares, decumbentes, con estrías longitudinales; inflorescencia una umbela simple, escapo cilíndrico, erecto, 22-115 cm de largo, brácteas 3-4, pedicelos 1.3-8.6 cm, flores de 2-55 por umbela, generalmente péndulas, campanuladas, rojas, anaranjadas, magentas, rosadas, purpuras, 15-36 mm de largo, lóbulos con o sin máculas blancas, 9-23 × 2-9 mm, generalmente más largos que el tubo floral (2.5-20.0 mm), con tres nervaduras que se extienden desde la base del tubo hasta el ápice de los lóbulos, 6 estambres, exertos adnados en la base del perianto, con los filamentos connados formando un anillo estaminal 3-18 mm de largo, anteras dorsifijas, ovoides u oblongas, 1.1-3.0 mm de largo, ovario súpero, trilocular, 2 mm de diámetro, con 20 a 30 óvulos, biseriados en cada lóculo; estilo alargado 5.0-26.6 mm de largo, estigma en forma de copa o trilobado 0.5-2.1 mm de diámetro; fruto una cápsula loculicida erecta 7-14 × 5-12 mm; semillas numerosas, irregularmente anguladas, aplanadas, estriadas, negras, 1 mm de diámetro.

***Bessera tuitensis* R. Delgad.** *Bol. Inst. Bot. Univ. Guadalajara.* 1(3): 131. 1991.

TIPO: MÉXICO: Jalisco: Cabo Corrientes, km 2 de la brecha a Cuale, pino-encino y elementos de bosque mesófilo de montaña, 700 m, IX-1991, (fl.). *R. Ramírez-Delgadillo & A. Rodríguez C.* 2516 (Holotipo: IBUG!; Isotipos: IBUG!, IEB!).

Hierbas perennes, geófitas; cormo subgloboso 14-18 × 9-18 mm, con túnicas internas delgadas, amarillas a pardas y túnicas exteriores membranáceas pardas; hojas 1-9, lineares, de hasta 53 mm de largo y 2 mm de ancho, plano-convexas o casi teretes, fistulosas fasciculadas, aciculares, decumbentes, con estrías longitudinales; inflorescencia una umbela simple, escapo cilíndrico, erecto, 36 - 66 cm de largo, brácteas 3, pedicelos 1.5-4.2 cm, flores de 14-20 por umbela, generalmente péndulas, campanuladas, rosadas, 13-18 mm de largo, lóbulos sin máculas, 10-14 × 1.8-5.5 mm, generalmente más largos que el tubo floral (3.0-4.6 mm), con tres nervaduras que se extienden desde la base del tubo hasta el ápice

de los lóbulos, 6 estambres, exertos adnados en la base del perianto, con los filamentos connados formando un anillo estaminal 1.3-1.9 mm de largo, anteras dorsifijas, ovoides u oblongas, 1.1-1.6 mm de largo, ovario súpero, trilocular, 1.3-1.8 mm de diámetro; estilo alargado 5.0-9.5 mm de largo, estigma en forma de copa o trilobado; fruto una cápsula loculicida erecta 7-8 × 5-6 mm; semillas numerosas, irregularmente anguladas, aplanadas, estriadas, negras.

En el análisis morfométrico se evaluaron 262 especímenes pertenecientes a *Behria* y *Bessera*, recolectados en campo y procedentes de colecciones históricas. Se consideraron 105 estados de carácter vegetativos y reproductivos, de los cuales 36 fueron cuantitativos y 69 cualitativos. En el cuadro 2 se observan las tendencias estadísticas de los datos analizados, en las figuras 3 y 4 se ejemplifican las gráficas de dispersión de puntos con las que se codificaron los caracteres y en el cuadro 3 se muestra la codificación.

Cuadro 2. Estadística básica de los ejemplares de *Behria* y *Bessera* evaluados en el análisis morfométrico.

Variable	Número de Datos	Media	Desviación estandar	Minimo	Maximo
CormoL	142	17.28	6.22	1.15	30.46
CormoD	143	16.36	6.18	0.95	34.69
Hojas	97	2.03	1.15	1	9
HojasL	105	540.55	227.09	181	1128.5
HojasD	145	2.57	1.02	0.77	6.2
EscL	180	621.99	189.26	14.5	1098.5
EscD	190	2.64	0.85	1.15	5.46
Bract	166	3.27	0.52	3	6
BractL	188	7.22	2.09	3.18	18.85
BractA	187	2.04	0.66	0.65	4.05
BrolasL	142	2.77	1.05	0.9	6.08
BrolasA	144	0.75	0.49	0.1	4.05
Flores	190	10.75	7.73	2	55
PediL	188	35.64	16.07	5.45	88.51
TubperL	187	9.34	4.61	0.57	28.32
TubperD	187	2.32	1.09	0.45	6.48
LobeL	185	15.05	4.43	2.30	22.92
LobeA	178	3.41	1.05	0.95	6.9
LobiL	185	14.94	4.61	1.4	24
LobiA	177	4.76	1.85	0.75	9.39
AniA	156	10.88	2.80	0.85	15.84
FilaL	152	10.59	2.83	5.23	23.64
AnteL	169	2.37	0.47	1.16	3.7
GinoL	173	6.10	1.85	1.73	12.14
OvaL	176	4.28	1.18	0.87	8.28
OvaD	176	2.17	0.64	0.67	4.18

Continúa cuadro 2

Variable	Número de Datos	Media	Desviación estandar	Minimo	Maximo
EstiL	165	18.70	4.47	6.02	29.5
EstigD	171	1.09	0.33	0.45	2.2
CapL	46	10.63	1.79	6.61	14.61
CapD	46	7.48	1.48	5.26	12.32
SemL	7	3.35	0.60	2.85	4.23
SemD	7	1.90	0.40	1.45	2.1

CormoL= largo del cormo, CormoD= diámetro del cormo, HojasL= Largo de las hojas, HojasD= diámetro de las hojas, EscL= largo del escapo, EscD= diámetro del escapo, Bract= bracteas, BractL= largo de las bracteas, BractA= ancho de las bracteas, BrolasL= largo de las bracteolas, BrolasA= ancho de las bracteolas, PediL= largo de los pedicelos, TubperL= largo del tubo del perianto, TubperD= diámetro del tubo del perianto, LobeL= largo de los lóbulos externos, LobeA= ancho de los lóbulos externos, LobiL= largo de los lóbulos internos, LobiA= ancho de los lóbulos internos, AniA= alto del anillo estaminal, FilaL= largo de los filamentos, AnteL= largo de las anteras, GinoL= largo del ginóforo, OvaL= largo del ovario, OvaD= diámetro del ovario, EstiL= largo del estilo, EstigD= diámetro del estigma, CapL= largo de las cápsula, CapD= diámetro de la capsula, SemL= largo de la semilla, SemD= diámetro de la semilla.

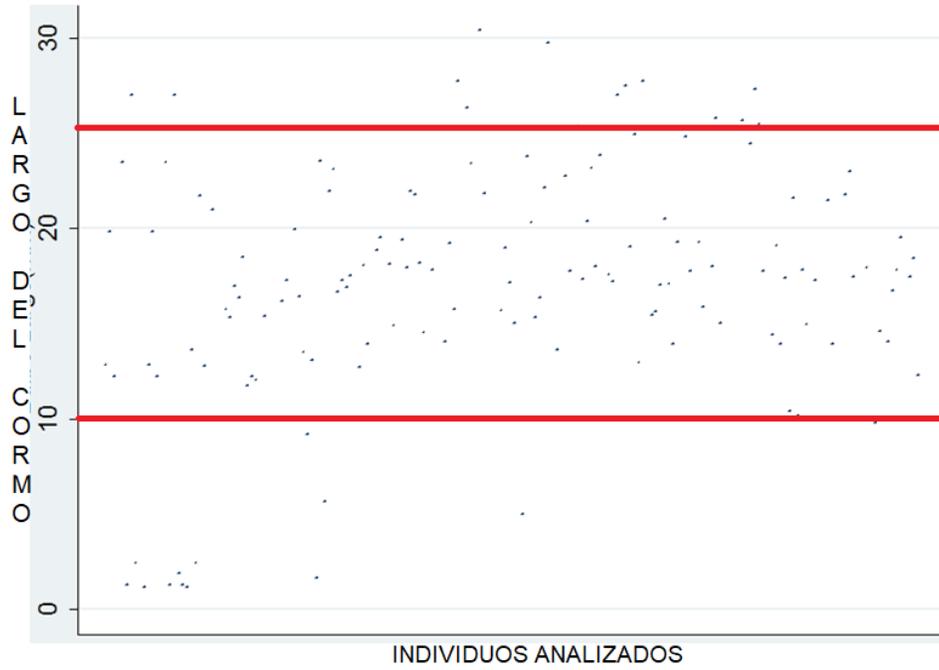


Fig. 3. Gráfica de dispersión de puntos para el largo del corno de los individuos de *Bessera y Behria*.

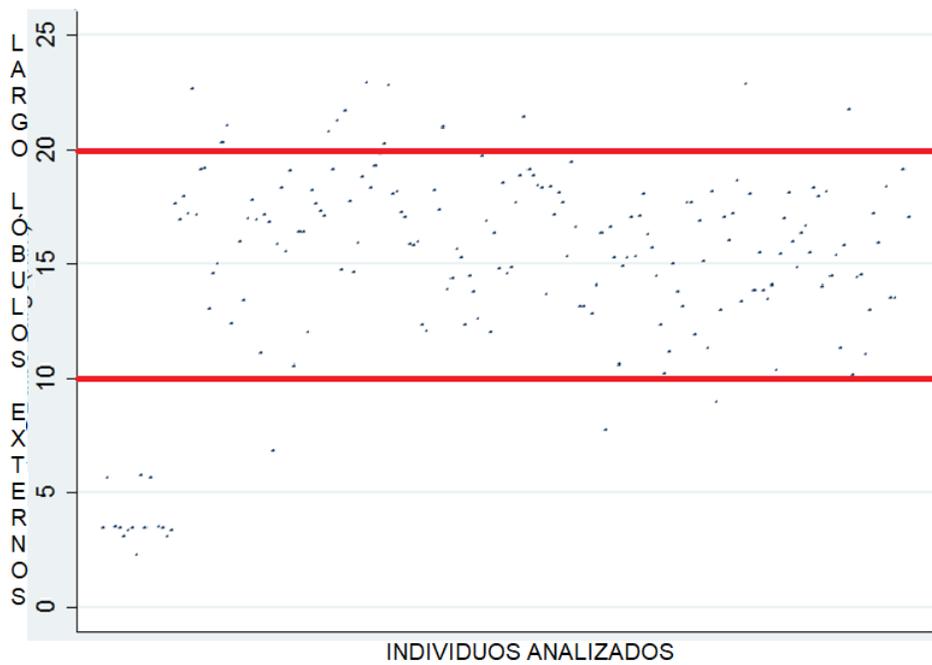


Fig. 4. Gráfica de dispersión de puntos para el largo del corno de los individuos de *Bessera y Behria*.

Cuadro 3. Caracteres y estados de carácter de *Bessera* y *Behria* utilizados en el análisis morfométrico.

Caracteres	Codificación
CORMO	
1. Largo (mm)	0) ≤ 10 , 1) $>10-25$, 2) >25
2. Diámetro (mm)	0) ≤ 5 , 1) $>5-25$, 3) >25
3. Color de las túnicas interiores	0) blanco-amarillentas, 1) blancas, 2) amarillas
HOJAS	
4. Número	0) 1, 1) 2, 2) >2
5. Largo (mm)	0) ≤ 400 , 1) $>400-600$, 2) $>600-800$, 3) >800
6. Ancho (mm)	0) ≤ 1.5 , 1) $>1.5-3.0$, 2) $>3.0-4.5$, 3) >4.5
ESCAPO	
7. Largo (mm)	0) ≤ 500 , 1) $>500-800$, 2) >800
8. Diámetro (mm)	0) ≤ 2.0 , 1) $>2.0-3.5$, 2) >3.5
9. Tricomas	0) presentes, 1) ausentes
BRÁCTEAS	
10. Número	0) 3, 1) 4, 2) >4
11. Largo (mm)	0) ≤ 5 , 1) $>5-10$, 2) >10
12. Ancho (mm)	0) ≤ 1.5 , 1) $>1.5-10.0$, 2) >10.0
13. Forma	0) triangular, 1) lanceolada
BRACTEOLAS	
14. Largo (mm)	0) ≤ 2 , 1) $>2-4$, 2) >4
15. Ancho (mm)	0) ≤ 1.5 , 1) >1.5
16. Forma	0) triangular, 1) lanceolada

Continúa cuadro 3

Caracteres y estados de carácter	Codificación
INFLORESCENCIA	
17. Número de flores	0) ≤10, 1) >10-20, 2) >20
18. Largo de los pedicelos (mm)	0) ≤20, 1) >20-40, 2) >40-60, 3) >60
FLORES	
19. Color	0) rojo, 1) magenta, 2) rosado, 3) naranja, 4) púrpura
20. Largo del tubo del perianto (mm)	0) ≤5, 1) >5-15, 2) 15
21. Diámetro del tubo del perianto (mm)	0) ≤2, 1) >2-4, 2) >4
22. Forma del tubo del perianto	0) campanulado, 1) tubular
23. Largo de los lóbulos externos (mm)	0) >10, 1) >10-20, 2) >20
24. Ancho de los lóbulos externos (mm)	0) ≤2, 1) >2-5, 2) >5
25. Forma de los lóbulos externos	0) lanceolados, 1) elípticos, 3) triangulares
26. Largo de los lóbulos internos (mm)	0) ≤10, 1) >10-20, 2) >20
27. Ancho de los lóbulos internos (mm)	0) ≤2, 1) >2-7, 3) >7
28. Forma de los lóbulos internos	0) lanceolados, 1) elípticos, 3) triangulares
29. Color de las nervaduras de los lóbulos	0) rojo, 1) morado
ANDROCEO	
30. Alto del anillo estaminal (mm)	0) ≤5, 1) >5-10, 2) >10
31. Forma del borde del anillo estaminal	0) U, 1) V invertida
32. Tamaño de los estambres en relación con los lóbulos	0) mayores que los lóbulos 1) igual que los lóbulos

Continúa cuadro 3

Caracteres y estados de carácter	Codificación
ANDROCEO	
33. Largo de los filamentos (mm)	0) ≤ 7 , 1) $> 7-14$, 2) > 14
34. Color de los filamentos	0) rojo, 1) morado
35. Largo de las anteras (mm)	0) ≤ 2 , 1) $> 2-3$, 2) > 3
36. Color de las anteras	0) pardo-verdoso, 1) negro
GINECEO	
37. Largo del ginóforo (mm)	0) ≤ 4 , 1) $> 4-8$, 2) > 8
38. Largo del ovario (mm)	0) ≤ 3 , 1) $> 3-6$, 2) > 6
39. Diámetro del ovario (mm)	0) ≤ 2 , 1) $> 2-3$, 2) > 3
40. Largo del estilo (mm)	0) ≤ 15 , 1) $> 15-25$, 2) > 25
CÁPSULA	
41. Largo (mm)	0) ≤ 10 , 1) > 10
42. Diámetro (mm)	0) ≤ 8 , 1) > 8
43. Forma	0) esférica, 1) elipsoide
44. Color	0) pardo, 1) verde-parduzco

De estos caracteres se identificaron 12 altamente correlacionados (> 0.5) y con bajo nivel de significancia (< 0.05), los cuales fueron eliminados: diámetro del cormo, largo de las hojas, largo de los lóbulos externos, largo y ancho de las bractéolas, largo de las anteras, largo y diámetro del ovario, color de las túnicas, forma de las bractéolas, color de las anteras y color del anillo estaminal (cuadro 4). Además, se eliminaron los caracteres del fruto y el número de hojas, debido a que los ejemplares examinados generalmente carecían de estas estructuras. Por tanto, en el análisis morfométrico únicamente fueron considerados 27 caracteres de 202 individuos.

Cuadro 4. Correlación y significancia de los caracteres de *Bessera* y *Behria* analizados en el análisis morfométrico.

Caracteres	Correlación	Significancia
CormoD y CormoL	0.8135	0.0000
HojasA y HojasL	0.7375	0.0000
EscL y HojasL	0.6559	0.0000
EscL y HojasD	0.6163	0.0000
EscD y HojasL	0.5226	0.0000
EscD y HojasA	0.6021	0.0000
EscD y EscL	0.7012	0.0000
Flores y HojasA	0.5028	0.0000
Flores y EscL	0.5093	0.0000
Floresy EscD	0.5119	0.0000
CapL y CormD	0.5309	0.0000
BrolasL y BractL	0.5887	0.0000
LobeA y LobeL	0.5505	0.0000
LobiL y LobeL	0.9456	0.0000
LobiL y LobeA	0.5325	0.0000
LobiA y LobeL	0.5847	0.0000
LobiA y LobeA	0.6897	0.0000
LobiA y LobiL	0.6071	0.0000
AniA y LobeL	0.8454	0.0000
AniA y LobiL	0.8461	0.0000
AniA y LobiA	0.5206	0.0000
FilaL y TubpL	0.5529	0.0000
TubpFo y TubpL	0.7302	0.0000
LobeFo y TubpL	0.6038	0.0000
Macte y TubpL	0.7149	0.0000
NervTe y TubpL	0.5750	0.0000
OvaD y OvaL	0.6958	0.0000

Continúa cuadro 4

Caracteres	Correlación	Significancia
EstiL y Fila L	0.5619	0.0000
CapD y CapL	0.7595	0.0000
TubpFo y FilaL	0.8146	0.0000
LobeFo y FilaL	0.6259	0.0000
Macte y FilaL	0.7476	0.0000
LobiFo y FilaL	0.5663	0.0000
LobeFo y TubpFo	0.7496	0.0000
Macte y TubpFo	0.9235	0.0000
Nervte y Flocol	0.5306	0.0000
Nervte y TubpFo	0.6256	0.0000
LobiFo y TubpFo	0.6032	0.0000
Macte y LobeFo	0.7077	0.0000
Nervte y Macte	0.5717	0.0000
LobiFo y LobeFo	0.6335	0.0000
LobiFo y Macte	0.5347	0.0000
Anibor y Nervte	0.5117	0.0000

CormoL= largo del cormo, CormoD= diámetro del cormo, HojasL= Largo de las hojas, HojasD= diámetro de las hojas, EscL= largo del escapo, EscD= diámetro del escapo, Bract= bracteas, BractL= largo de las bracteas, BractA= ancho de las bracteas, BrolasL= largo de las bracteolas, BrolasA= ancho de las bracteolas, PediL= largo de los pedicelos, TubperL= largo del tubo del perianto, TubperD= diámetro del tubo del perianto, LobeL= largo de los lóbulos externos, LobeA= ancho de los lóbulos externos, LobiL= largo de los lóbulos internos, LobiA= ancho de los lóbulos internos, AniA= alto del anillo estaminal, FilaL= largo de los filamentos, AnteL= largo de las anteras, GinoL= largo del ginóforo, OvaL= largo del ovario, OvaD= diámetro del ovario, EstiL= largo del estilo, EstigD= diámetro del estigma, CapL= largo de las cápsula, CapD= diámetro de la capsula, SemL= largo de la semilla, SemD= diámetro de la semilla, BracFo= forma de las bracteas, FloCol= color de las flores TubpFo= forma del tubo del perianto, Anibor= Borde del anillo, Nervte= nervaduras de los tépalos.

En relación con el análisis discriminante canónico (ADC) se utilizaron 20 variables cuantitativas. En siete funciones discriminantes se explica el 100% de la varianza de los datos. La tercera función explica el 94.6% de la varianza total. La primera función acumula el 69.87%, y se relaciona positivamente con las longitudes de los filamentos y el estilo. La segunda agrega el 20.62% y está asociada positivamente con el ancho de las brácteas y el largo de los lóbulos internos, negativamente con el diámetro del escapo y el alto del anillo estaminal. La tercera función añade el 4.19% y se corresponde positivamente con el ancho de las hojas y el largo del tubo del perianto, y negativamente con el largo del ginóforo (Cuadros 5, 6). Al graficar las funciones 1 y 2 (Fig. 5), se observa que los OTU's de *Behria tenuiflora* se agrupan separándose de los otros conjuntos. También, forman grupos separados los pertenecientes a *Bessera elegans s.l.*, *Bessera tuitensis*, los individuos de Guerrero con flores rosadas y los de Guerrero y Oaxaca con flores púrpura.

Cuadro 5. Funciones discriminantes y porcentaje de la varianza de los datos analizados.

Función	Correlación Canónica	Valor Eigen	Varianza Proporcional	Varianza Acumulada
1	0.9900	49.1009	0.6987	0.6987
2	0.9672	14.4927	0.2062	0.9049
3	0.8640	2.9449	0.0419	0.9469
4	0.8263	2.1522	0.0306	0.9775
5	0.6697	0.8130	0.0116	0.9890
6	0.6378	0.6855	0.0098	0.9988
7	0.2784	0.0840	0.0012	1.0000

Cuadro 6. Proporción de cada una de las variables en las primeras tres funciones discriminantes, con las variables que explican la agrupación señaladas.

Variables	Función 1	Función 2	Función 3
Cormol	0.3466	0.1849	-0.1056
Hojasa	-0.2650	0.4744	0.9261
Escl	-0.4136	0.2466	0.5537
Escd	0.3823	-0.8449	-0.8016
Bract	0.2873	-0.1662	-0.0321
Bractl	-0.2560	-0.2989	-0.1071
Bracta	0.0042	0.7497	0.5117
Flores	0.2102	0.4353	0.1352
Pedl	-0.3104	0.4924	-0.1943
Tubpl	0.4699	0.1690	0.7724
Tubpa	0.4904	-0.6483	-0.1401
Lobea	-0.0509	0.2857	-0.2206
Lobil	-1.0853	0.9776	0.1716
Lobia	-0.0561	-0.6503	-0.3806
Ania	-0.3821	-1.1839	0.2323
Filal	0.8223	-0.2343	-0.2173
Ginol	-0.0802	0.0673	-0.8874
Estil	0.8076	-1.0384	-0.6022

cormol= largo del corno, hojasa= ancho de las hojas, escl= largo del escapo, escd= diámetro del escapo, bract= número de brácteas, bractl= largo de las brácteas, bracta= ancho de las brácteas, flores= número de flores, pedl= largo de los pedicelos, tubpl= largo del tubo del perianto, tubpa= ancho del tubo del perianto, lobea= ancho de los lóbulos externos, lobil= largo de los lóbulos internos, lobia= ancho de los lóbulos internos, ania= alto del anillo estaminal, filal= largo de los filamentos, ginol= largo del ginóforo, estil= largo del estilo.

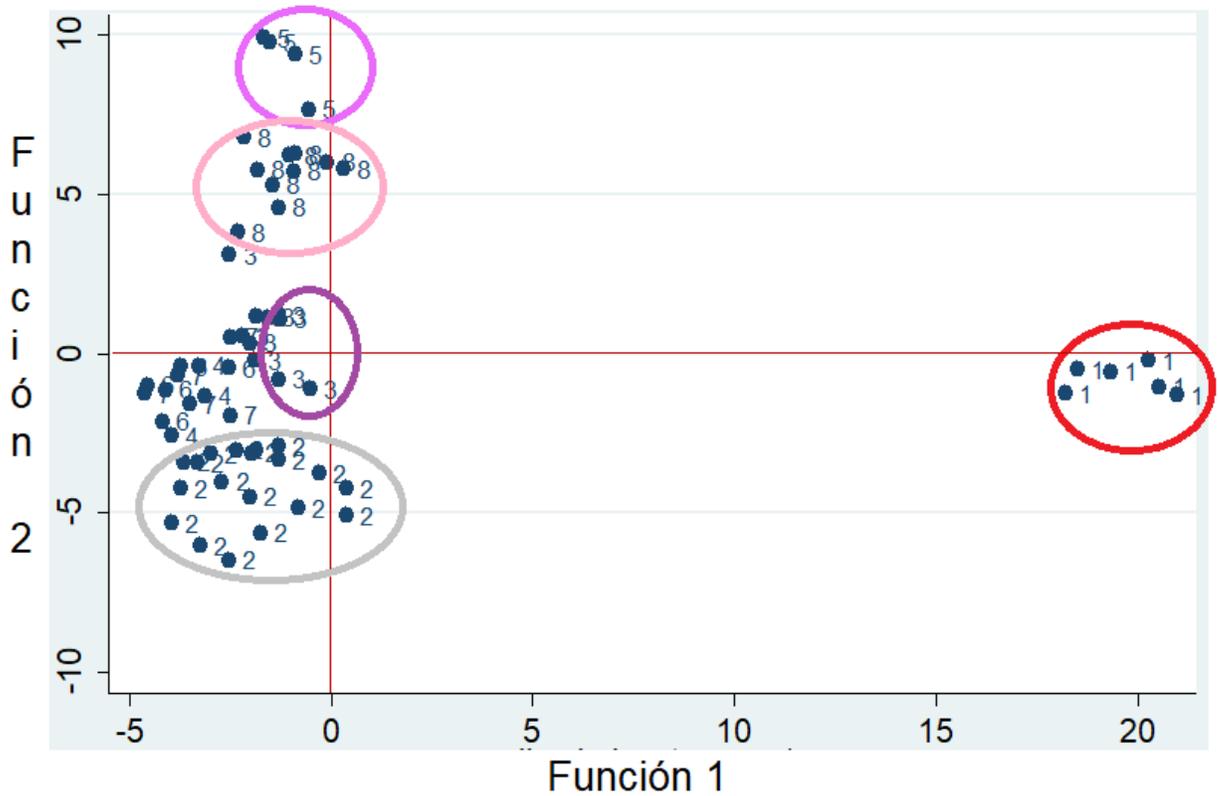


Fig.5. Dispersión y tendencias fenotípicas de los individuos analizados con ACD.

1= *Behria tenuiflora*. 2= *Bessera elegans s.l.* 3= Poblaciones con flores púrpuras de Jalisco, Oaxaca y Guerrero. 4= Poblaciones con flores magenta del Estado de México y Oaxaca. 5= *Bessera tuitensis*. 6= Poblaciones de Colima flores púrpura. 7= Poblaciones con flores anaranjadas de Michoacán. 8= Poblaciones de Guerrero con flores rosadas.

En el cuadro 7 se indica la probabilidad con la que cada uno de los individuos se asocia con los grupos previamente establecidos de *Behria* y *Bessera*, con base en una distribución uniforme de las probabilidades previas de 12.5%.

Cuadro 7. Probabilidad de que los individuos hayan sido asignados a los grupos establecidos *a priori*

Grupo	1	2	3	4	5	6	7	8	Total
1	6	0	0	0	0	0	0	0	6
	100	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	100
2	0	19	0	0	0	0	0	0	19
	0.00	100	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	100
3	0	0	10	0	0	0	0	0	10
	0.00	0.00	100	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	100
4	0	0	0	3	0	0	0	0	3
	0.00	0.00	0.00	100	0.00	0.00	0.00	0.00	100
5	0	0	0	0	4	0	0	0	4
	0.00	0.00	0.00	0.00	100	0.00	0.00	0.00	100
6	0	0	0	0	0	5	0	0	5
	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	100	0.00	0.00	100
7	0	0	0	0	0	0	5	0	5
	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	100	0.00	100
8	0	0	0	0	0	0	0	10	10
	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	100	100
Total	6	19	10	3	4	5	5	10	62
	9.68	30.65	16.13	4.84	6.45	8.06	8.06	16.13	100.00
PP	0.1250	0.1250	0.1250	0.1250	0.1250	0.1250	0.1250	0.1250	

PP=probabilidad previa. Grupo 1= *Behria tenuiflora*, grupo 2= *Bessera elegans s.l.*, grupo 3= poblaciones con flores púrpura, grupo 4= poblaciones con flores magenta, grupo 5= *Bessera tuitensis*, grupo 6= poblaciones de Colima, grupo 7= poblaciones de flores naranja, grupo 8= poblaciones de flores rosadas.

En el árbol de distancias morfológicas (Fig.6) se forman dos grupos, el primero está conformado por todos los individuos de *Behria tenuiflora* (A). El segundo por los pertenecientes a *Bessera* (B), que, a su vez, se divide en dos subgrupos (B1, B2). El B1 se reparte en B1.1 y B1.2, el primero, contiene individuos de Colima con flores púrpura indicados en azul, y de Michoacán y Jalisco con flores anaranjadas, señalados con el mismo color. El B1.2 contiene tres grupos, el primero circunscribe individuos de Guerrero con flores rosadas en color rosado, el segundo incluye individuos pertenecientes a *Bessera tuitensis*, resaltado en color lila, y el tercero comprende individuos de Sinaloa, Oaxaca, Guerrero y Michoacán con flores púrpura indicados con el mismo color de las flores. En B2 se agrupan individuos con flores anaranjadas o rojas señalados con verde, correspondientes a individuos de *Bessera elegans s.l.*, donde se incluyen poblaciones del Estado de México y Oaxaca con flores magenta resaltados en líneas del mismo color.

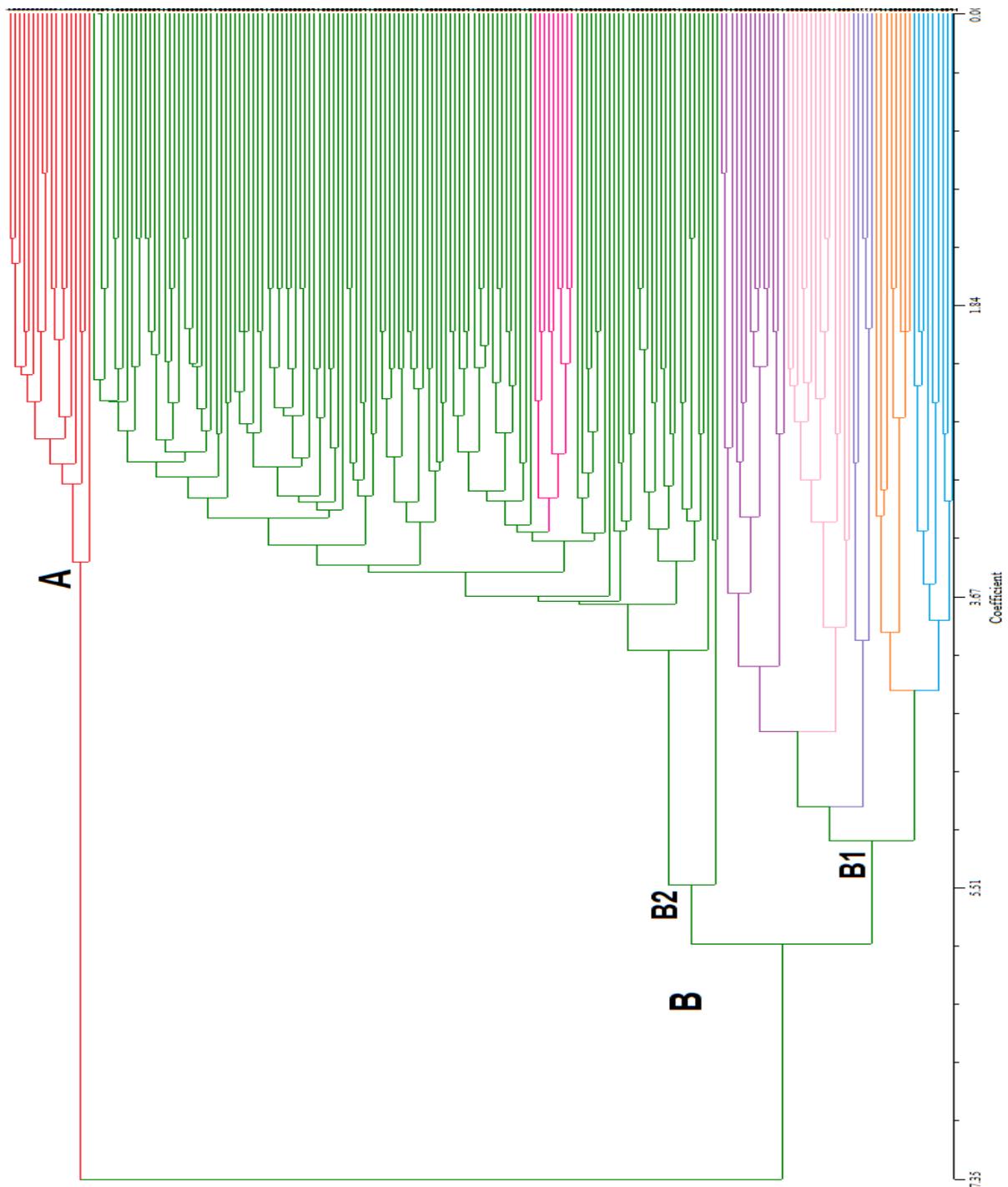


Fig. 6. Distancias morfológicas de individuos pertenecientes a *Behria* y *Bessera*.

**Behria tenuiflora*, **Bessera elegans* s.l., **Bessera* del Estado de México y Oaxaca con flores magenta, **Bessera* de Sinaloa, Oaxaca, Guerrero y Michoacán con flores púrpura, **Bessera tuitensis*, **Bessera* de Guerrero y Oaxaca con flores rosadas, **Bessera* de Michoacán y Jalisco con flores anaranjadas, **Bessera* de Colima con flores púrpura.

Se recolectaron 222 muestras foliares de 19 poblaciones, una población de *Behria* y 18 de *Bessera*, cada una de ellas correspondió a un individuo. De éstas se eligieron al azar nueve muestras de cada población (Cuadro 8, Fig. 7). En total se acumularon 162, a las cuales se les extrajo el ADN, cuya presencia e integridad se corroboró por medio de electroforesis (Fig. 8). Con el Protocolo de Vos *et al.* (1995) modificado por Simpson (1997), se obtuvieron los AFLP's, cuya preamplificación se muestra en la figura 9. Las secuencias se analizaron con el programa Geneious (Fig. 10) descartándose diez que no se leían claramente. Con base en las 152 muestras restantes se elaboró el árbol de distancias genéticas.

Cuadro 8. Número de recolecta y población correspondientes a las muestras analizadas genéticamente.

Muestras	Recolecta	Población
1 – 12	4819 ESC	Michoacán (1)
13 – 23	4819b ESC	Michoacán (2)
24 – 33	4820 ESC	Guerrero (1)
34 – 44	4821 ESC	Guerrero (2)
45 – 54	4822 ESC	Guerrero (3)
55 – 71	4928 ESC	Oaxaca (1)
72 – 83	4945 ESC	Estado de México (1)
84 – 95	4947 ESC	Estado de México (2)
96 – 106	4951 ESC	Morelos
107 – 115	4953 ESC	Michoacán (3)
116 – 129	4954 ESC	Jalisco (1)
130 – 141	4957 ESC	Jalisco (2)
142 – 152	4959 ESC	Jalisco (<i>B. tuitensis</i>)
153 – 165	7 DCM	Estado de México (3)
166 – 175	138 JGG	Nayarit
176 – 189	1834 RRG	Baja California Sur (<i>Behria tenuiflora</i>)
190 – 203	8 DCM	Oaxaca (2)
203 – 211	5641 ESC	Aguascalientes
213 – 222	9 DCM	Jalisco (3)

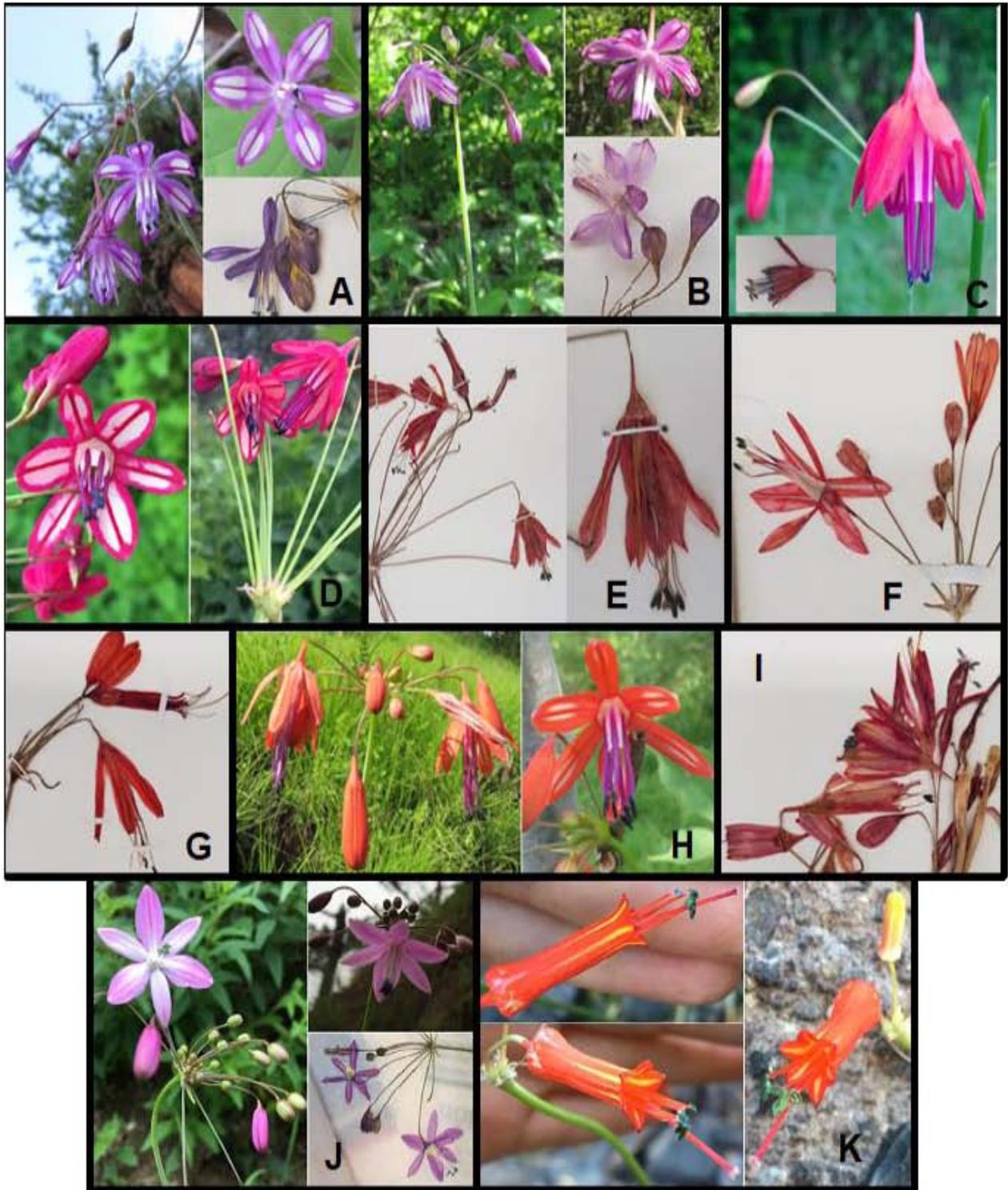


Fig. 7. Algunas de las poblaciones recolectadas que muestran la variación en el color de las flores. A= 4821ESC, B= 4822ESC, C= 4928ESC, D= 4947ESC, E= 7DCM, F= 9451ESC, G= 4957ESC, H= 4953ESC, I= 1386JGG, J=4959ESC y K= 1834RRG.

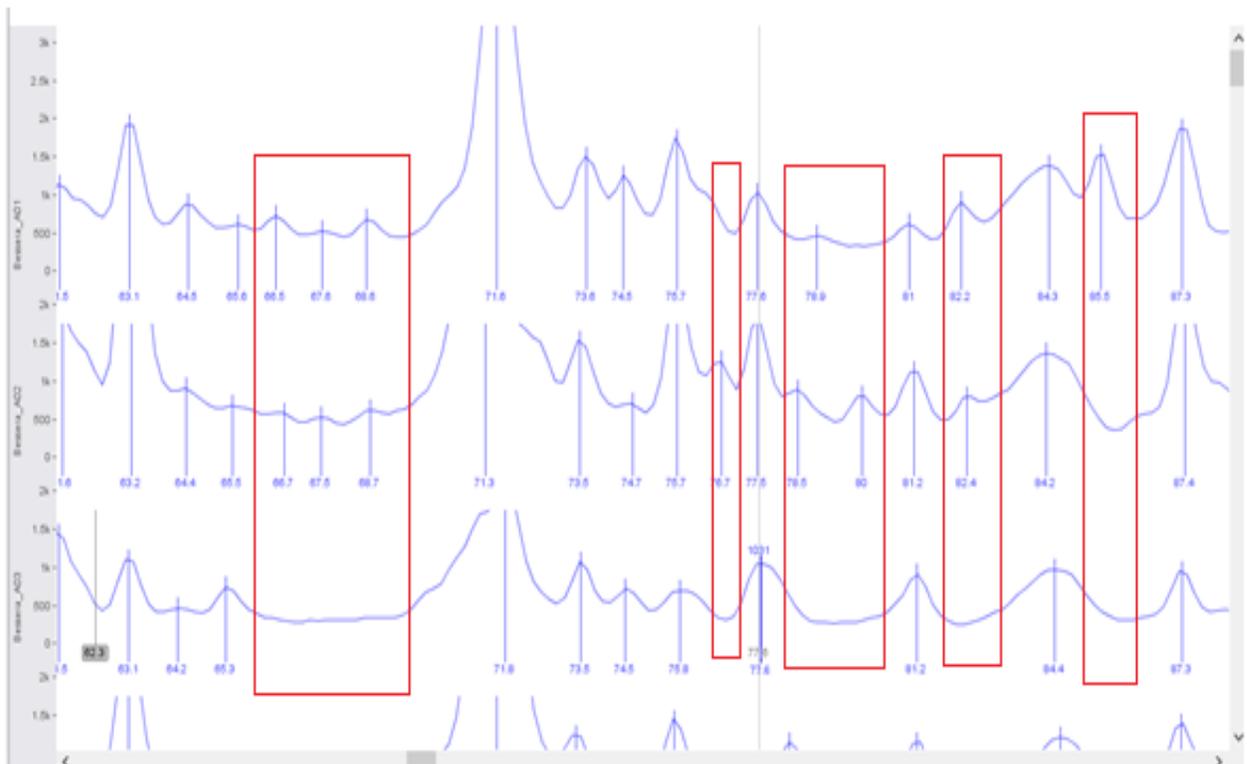


Fig.10. Algunos polimorfismos en la longitud de fragmentos de ADN amplificados de diferentes muestras de *Bessera*, reconocidos con el programa Geneious, versión 6.01.

En el cuadro 9 se muestran las poblaciones que registraron las mayores y menores cantidades de polimorfismos. La más alta correspondió a Michoacán 1 y la más baja a Jalisco *Bessera tuitensis*.

Cuadro 9. Diversidad genética de los AFLP's en diferentes poblaciones de *Behria* y *Bessera*.

Población	N	NLE	NLP	PLP	He	DEHe
Michoacán 1	8	160	160	100.0	0.20	0.01
Michoacán 2	10	160	32	20.0	0.13	0.01
Guerrero 1	8	160	37	23.1	0.17	0.01
Guerrero 2	8	160	27	16.9	0.13	0.01
Guerrero 3	7	160	156	97.5	0.20	0.01
Oaxaca 1	7	160	38	23.8	0.18	0.01
Estado de México 1	7	160	29	18.1	0.14	0.01
Estado de México 2	8	160	151	94.4	0.21	0.01
Morelos	7	160	39	24.4	0.18	0.01
Michoacán 3	8	160	143	89.4	0.22	0.01
Jalisco 1	9	160	150	93.8	0.25	0.01
Jalisco 2	8	160	149	93.1	0.25	0.01
<i>Bessera tuitensis</i> Jalisco	9	160	25	15.6	0.11	0.01
Estado de México 3	7	160	152	95.0	0.22	0.01
Nayarit	8	160	151	94.4	0.22	0.01
<i>Behria tenuiflora</i> Baja California Sur	8	160	150	93.8	0.23	0.01
Oaxaca 2	9	160	151	94.4	0.22	0.01
A.G.S.	8	160	147	91.9	0.20	0.01
Jalisco 3	7	160	41	25.6	0.19	0.01

N=número de individuos. NLE= número de loci registrados. NLP= número de loci polimórficos. PLP= porcentaje de loci polimórficos. He= diversidad genética de Nei (Nei, 1978). DEHe= desviación estándar de He.

El árbol de distancias genéticas se divide en dos grupos principales, el de mayor distancia corresponde a los individuos de *Behria tenuiflora* y a la población de *Bessera* de Nayarit (A). El segundo grupo está conformado por 17 poblaciones, cada una de ellas formando subgrupos, entre ellos *Bessera elegans* s. l., *B. tuitensis* y poblaciones de otros estados que también están definidas morfológicamente (B) (Fig. 11).

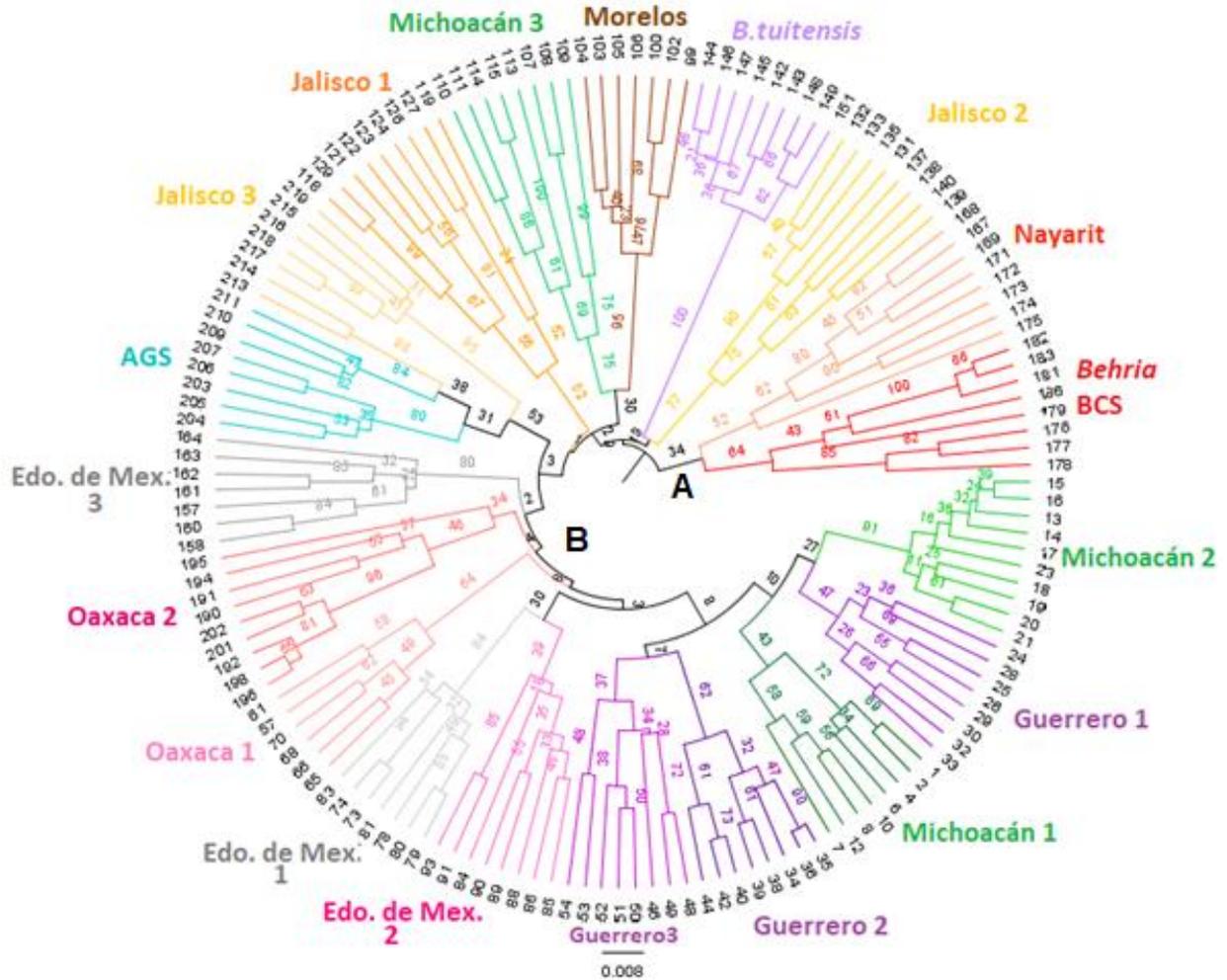


Fig. 11. Agrupación de los individuos de *Behria* y *Bessera*, con base en sus distancias genéticas determinadas con AFLP's.

VII DISCUSIÓN

De acuerdo con la revisión sobre la historia taxonómica de *Behria* y *Bessera*, algunos autores han considerado que conforman un solo género reconocido como *Bessera* (Moore, 1953; Ramírez-Delgadillo, 1992; Espejo-Serna y López-Ferrari, 1992; Pires *et al.*, 2001; Gutiérrez, *et al.*, 2017). Sin embargo, otras autoridades reconocen dos géneros *Behria* y *Bessera* (Kraus, 1930; Shreve y Wiggins, 1964; Lenz, 1971; León de la Luz y Pérez-Navarro, 2004; Gándara-Zamorano *et al.*, 2009). Los resultados obtenidos en este estudio correspondientes al ADC, el de conglomerados y AFLP's, coinciden con la segunda propuesta, *Behria* es un género independiente de *Bessera*. El primer género es monotípico, solamente incluye a *Behria tenuiflora*, endémica de Baja California Sur (Green, 1886) y difiere de *Bessera* por tener el tubo del perianto más largo, éste con nervaduras y bandas amarillas longitudinales, lóbulos triangulares pequeños, estambres exertos y filamentos connados en la base formando una copa membranacea de hasta 0.5 mm de longitud (Greene, 1886; Lenz, 1971b; León de la Luz y Pérez-Navarro, 2004). Asimismo, los resultados de los tres análisis permiten separar a *Bessera tuitensis*, endémica de Jalisco, propuesta por Ramírez-Delgadillo (1992), de *Bessera elegans* s.l. En este último caso, también se distinguen poblaciones con diferente distribución geográfica y características morfológicas o genéticas particulares.

El análisis de correlación permitió eliminar 12 caracteres morfológicos que presentaron alta correspondencia. De acuerdo con Stuessy (1990), este tipo de atributos son invariantes y no informativos. El análisis discriminante canónico (ADC) indicó que principalmente los atributos reproductivos tienen mayor peso en explicar el agrupamiento de los individuos en poblaciones, especies o grupos previamente reconocidos. En otros estudios sobre morfometría de monocotiledóneas, como *Milla* y *Prochnyanthes*, también fueron los caracteres reproductivos quienes en este análisis tienen mayor importancia para explicar el agrupamiento de los individuos (Castro-Castro *et al.*, 2010; Gutiérrez *et al.*, 2017).

En el análisis de agrupamiento se observa una separación similar a la que se obtuvo en el discriminante canónico. Se forman dos grupos (A y B). El grupo A está

conformado por OTU's correspondientes a *Behria tenuiflora*. El B se divide en dos subgrupos (B1 y B2). El B1 forma dos conjuntos, el de la base del fenograma que incluye individuos con flores anaranjadas procedentes de Jalisco y Michoacán, el cual se separa de los de Colima con flores púrpura, que también tiene pedicelos, tubos del perianto y ginóforo, considerablemente más largos (23-68 mm, 11-20 mm, 8.5-12.0 mm respectivamente), mientras que, los lóbulos, filamentos y estilos son más cortos (13-18 mm, 5.5-10.5 mm, 15-22mm respectivamente). El siguiente conjunto agrupa individuos con flores púrpura provenientes de Sinaloa, Oaxaca, Guerrero y Michoacán, del cual se separa *Bessera tuitensis* y los de flores rosadas recolectados en Guerrero, que se separan de las poblaciones anteriores. El grupo B2 contiene individuos que tradicionalmente han sido considerados como *Bessera elegans s. l.*, los cuales tienen flores rojas o anaranjadas, donde se incluye un conjunto de individuos del Estado de México y Oaxaca, con flores color magenta.

El análisis molecular (AFLP's) muestra una separación más evidente de todas las poblaciones, además, apoya algunas de las agrupaciones obtenidas con el análisis morfológico. En este análisis se forman dos grupos (A y B). El grupo A corresponde a individuos de *Behria tenuiflora*, por tanto, *Behria* debe ser considerado como un género distinto de *Bessera*, como lo proponen diversos autores (Kraus, 1930; Shreve y Wiggins, 1964; Lenz, 1971; León de la Luz y Pérez-Navarro, 2004; Gándara-Zamorano *et al.*, 2009). En este grupo A, se separa una población de Nayarit, que en el análisis morfológico se incluye en *Bessera elegans s. l.* Esta última población marca el límite de distribución norte de *Bessera*, y con base en el análisis genético realizado, podría ser considerada como una entidad taxonómica diferente.

El grupo B contiene poblaciones de diferentes estados de la República Mexicana, que tradicionalmente se han considerado como *Bessera elegans s. l.*, excepto *B. tuitensis*, endémica del occidente de Jalisco, que morfológicamente se separa de *Bessera elegans s. l.*, por sus flores rosadas, así como por la ausencia de máculas, el anillo estaminal de 1.3 a 1.9 mm de alto y ginóforo de 2.4 a 4.0 mm de largo (Delgadillo, 1992). De acuerdo con el análisis genético realizado, *Bessera*

elegans s. l., está conformado por las poblaciones de Jalisco (1, 3), Morelos, Michoacán (3) y Aguascalientes. Las poblaciones restantes tienen diferentes polimorfismos por lo que podrían ser consideradas como especies diferentes, entre ellas se encuentran las dos poblaciones de Guerrero (2) con flores púrpura y (3) rosadas, que además registraron caracteres florales de menor tamaño, por ejemplo, flores de 17.0-22.5 mm las púrpuras y 16.5-22.5 las rosadas, anillo estaminal de 3.5-7.5 y 3.0-4.6 en el mismo orden, así como tubos del perianto de 6.4-11.5 y 5.4 a 11.4 mm; las del Estado de México (2) con flores magenta, caracteres vegetativos y flores de tamaño mayor (19-29 mm); y las de Oaxaca (1, 2), localizadas en Putla y Pochutla, con flores magenta y tamaño menor en la mayoría de sus caracteres. La población de Putla es diferente a la de Pochutla ya que esta última tiene pedicelos de mayor tamaño (63-74 mm), y el borde de los lóbulos de color púrpura. Aunque los individuos de Colima no se incluyeron en el análisis genético, se observa que presentan diferencias morfológicas evidentes, como el tubo del perianto igual o más largo que los lóbulos, anillo estaminal de hasta 15 mm y ginóforo de mayor longitud (6-12 mm). Además, presenta flores de mayor tamaño (24.5-36.0 mm), comparados con los de Guerrero. Con base en los caracteres señalados, cada uno de estos grupos podrían considerarse como entidades separadas de *Bessera elegans s. l.*

VIII CONCLUSIONES

El análisis discriminante canónico (ADC) delimitó la mayoría de las poblaciones y separó *Behria* de *Bessera*, con base en los siguientes caracteres: largo de los lóbulos internos, largo de los filamentos, diámetro del escapo, ancho de las brácteas, alto del anillo estaminal, largo del estilo, ancho de las hojas, largo del tubo del perianto, largo del ginóforo, forma del tubo del perianto y color de las flores. Además, disgregó *B. tuitensis* de la población de Guerrero, ambas con flores rosadas, esta última, tradicionalmente considerada como *Bessera elegans s. l.*, que podría ser propuesta como una entidad diferente. También de *B. elegans s.l.*, se distinguieron poblaciones de Jalisco, Oaxaca y Guerrero con flores púrpura y separó individuos con flores magenta del Estado de México y Oaxaca, los de flores púrpura de Colima y anaranjadas de Michoacán.

Del mismo modo, el análisis de agrupamiento con base en caracteres morfológicos separó *Behria* de *Bessera*. En general mantuvo las agrupaciones obtenidas en el ADC. Sin embargo, agrupó de manera independiente los individuos de Colima con flores púrpura, de Michoacán anaranjadas y del Estado de México y Oaxaca magentas, que no diferenció el ADC.

En relación con los polimorfismos en la longitud de fragmentos amplificados, éstos también distinguen a *Behria* de *Bessera*, *Bessera tuitensis* y dentro de *Bessera elegans s. l.*, separan poblaciones que podrían ser consideradas como entidades taxonómicas diferentes.

En síntesis y de acuerdo con los análisis morfológicos y genéticos *Behria* es un género diferente de *Bessera*, aunque están cercanamente relacionados. *B. tuitensis* es una especie bien delimitada que se separa de *B. elegans s. l.*, y este complejo contiene poblaciones bien delimitadas que pueden proponerse como especies o variedades nuevas.

IX LITERATURA CITADA

- APG III. 2009. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. *Botanical Journal of the Linnean Society* **161**: 105-121.
- APG IV. 2016. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. *Botanical Journal of the Linnean Society* **181**: 1-20.
- Barraza-Morales, A., M. Esqueda, A. Gardea, M. Robert y F. L. Sánchez-Teyer. 2006. Variabilidad genética en *Agave angustifolia* Haw., de la Sierra Sonorense, México, determinada con marcadores AFLP. *Revista Fitotecnia Mexicana* **29**: 1-8.
- Castro-Castro A., A. Rodríguez, G. Vargas-Amado y R. Ramírez-Delgadillo. 2010. Variación morfológica del género *Prochnyanthes* (Agavaceae). *Acta Botanica Mexicana* **92**: 29-49.
- Colunga-GarcíaMarín, P., y F. May-Pat. 1997. Morphological variation of henequen (*Agave fourcroydes*, Agavaceae) germplasm and its wild ancestor (*A. angustifolia*) under uniform growth conditions: diversity and domestication. *American Journal of Botany* **84**: 1449-1449.
- Dahlgren, R. M. T., H. T. Clifford y P. F. Yeo. 1985. The families of monocotyledons: structure, evolution and taxonomy. Springer Verlag. Berlin, Heidelberg, New York, Tokyo.
- Judd, W. S., C. S. Campbell, E. A. Kellog, P. F. Stevens, M. J. Donoghue. 2016. *Plant systematics: a phylogenetic approach*. Sinauer Associates, Inc., Sunderland Massachusetts:
- Lemaire, A. C. 1848. Gand: L. Van Houtte. *Flore des Serres et des Jardins de l'Europe*. **4**: 424.
- León de la Luz, J. L., y J. J. Pérez-Navarro. 2004. Neotipificación de *Behria tenuiflora* Greene (Alliaceae). *Acta Botanica Mexicana* **67**: 59-66.

- Espejo-Serna, A. y A. R. López-Ferrari. 1992. Las monocotiledóneas mexicanas. Una sinopsis florística. 1 lista de referencia parte I: Agavaceae, Alismataceae, Aliaceae, Alstroemeriaceae y Amaryllidaceae. Consejo Nacional de la Flora de México A.C., Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa, D. F.
- Fleming, C. J., S. Holden, T. O. Jewitt, J. Paxton, F. W. Smith. 1849. Register of flowering plants. *Paxton's magazine of botany and register of flowering plants* **15**: 276. London.
- Gándara-Zamorano, E., V. Sosa y J. L. León de la Luz. 2009. Morphological and molecular evidence in the delimitation of *Behria* and *Bessera*, two genera of the *Milla* complex (Themidaceae). *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, **85**: 113-124.
- Gil-Vega, K., C. E. Díaz-Quezada, A. Nava-Calvillo, A. García-Mendoza y J. Simpson. 2007. Análisis AFLP del género *Agave* refleja la clasificación taxonómica basada en caracteres morfológicos y otros métodos moleculares. *In*: En lo ancestral hay futuro: del tequila, los mezcales y otros *Agaves*. Págs. 23-39. P. Colunga-GarcíaMarín, A. Saavedra, L. Eguiarte y D. Zizumbo-Villareal. (eds.). Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C., Mérida.
- Greene, E. L. 1886. Studies in the botany of California and parts adjacent. I. Some genera which have been confused with the name *Brodiaea*. *Bulletin of the California Academy of Sciences* **2**: 125-144.
- Gutiérrez, J., T. Terrazas e I. Luna-Vega. 2017. Morphometric analysis of *Milla biflora* (Asparagaceae: Brodiaeoideae), with an identification key for *Milla*. *Plant Ecology and Evolution* **150** (1): 76-86.
- Gutiérrez, J., T. Terrazas, I. Luna-Vega & G. A. Salazar. 2017. Phylogenetic analyses of the *Milla* complex (Brodiaeoideae: Asparagaceae), with an emphasis on *Milla*. *Botanical Journal of the Linnean Society*, **185**(4): 445-462.
- Hässler, F. 1949. *Blumen-Zeitung*, hrsg. Von Friedrich Hässler **22**: 173-174.

- Herbert, W. 1832. *Edwards's Botanical Register or: Ornamental flower-garden and shrubbery* **18**: 1546. London.
- Keb-Llanes, M., G. González, B. Chi-Manzanero y D. Infante. 2002. A rapid and simple method for small-scale DNA extraction in Agavaceae and other tropical plants. *Plant Molecular Biology Reporter* **20**: 299-300.
- Kraus E. K. 1930. Liliaceae. *In*: Engler A. and K. Plant. Die Natürlichen Pflanzenfamilien. **15a**: 227-286.
- Lenz, L. W. 1971b. Two new species of *Dandyia* (Liliaceae) from Mexico and reexamination of *Bessera* and *Behria*. *Aliso* **7**: 313 – 320.
- León de la Luz, J. L. y J. J. Pérez Navarro. 2004. Neotipificación de *Behria tenuiflora* Greene (Alliaceae). *Acta Botanica Mexicana* **67**: 59-66.
- Linnaeus, C. 1753. *Species plantarum. Impensis Laurentii Salvii*, Estocolmo.
- Macbride, J. F. 1918. Further new or otherwise interesting Liliaceae. Contributions of the Gray Herbarium **56**: 1-20.
- Martens, M. & H. G. Galeotti. 1842. *Bulletin de l'Academie Royale des Sciences et Belles-lettres de Bruxelles* **9(2)**: 385.
- McVaugh, R. 1989b. *Bessera* Schult. f. *In*: W. R. Anderson, W. R. (ed.). Flora Novogaliciana. Págs. **15**: 158-161.
- Moore, H. E. 1953. The genus *Milla* (Amaryllidaceae-Allieae) and its allies. *Gentes Herbarium* **8**: 262-294.
- Nei, M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics* **98**: 583-590.
- Pieres, J. C., M. F. Fay, W. S. Davis, I. Hufford, J. Rova, M. W. Chase y K. J. Sytsma. 2001. Molecular and morphological analyses of Themidaceae (Asparagales). *Kew Bulletin* **56**: 601-626.

- Pires, J. C. y K. J. Sytsma. 2002. A phylogenetic evaluation of a biosystematic framework: *Brodiaea* and related petaloid monocots (Themidaceae). *American Journal of Botany* **89**: 1342-1359.
- Ramírez-Delgadillo, R. 1992. Una nueva especie de *Bessera* (Liliaceae) del occidente de Jalisco, México. *Boletín del Instituto de Botánica de la Universidad de Guadalajara* **1**: 131-136.
- Rivera-Lugo, M., A. García-Mendoza, J. Simpson, E. Solano & K. Gil-Vega. 2018. Taxonomic implications of the morphological and genetic variation of cultivated and domesticated populations of the *Agave angustifolia* complex (Agavoideae, Asparagaceae) in Oaxaca. *Plant systematics and evolution*. **304(8)**: 969-979.
- Schultes, J. H. 1829. *Bessera elegans* Genus novum Hexandriae Monogyniae. *Linnaea* **4**: 121.
- Shreve, F., y I. L. Wiggins. 1964. Vegetation and flora of the Sonoran Desert. *Stanford University Press* **1**: 840. Stanford, California.
- Simpson, J. 1997. Amplified fragment length polymorphisms (AFLP). *Boletín de la Sociedad Botánica de México* **60**: 119-122.
- Sprengel, K. P. J. 1815. *Plantarum Minus Cognitarum Pugillus* CA Kümmerl. **2**: 90.
- Stuessy, T. F. 1990. Plant Taxonomy, the systematic evaluation of comparative data. Columbia University Press, New York.
- Vázquez-Pérez, N. 2015. Variación morfológica y genética de *Agave karwinskii* (Agavaceae) en los estados de Oaxaca y Puebla. Tesis de maestría. Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México.
- Vos, P., R. Hogers, M. Bleeker, M. Reijans, T. Van de Lee, M. Hornes, A. Frijters, J. Pot, J. Peleman, M. Kuiper, M. Zabeau, 1995. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Research* **23**:4407-4414.

Wiggins, I. L. 1980. Flora of Baja California. *Stanford University Press*. **580**: 1025.
Stanford, California.