



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

INSTITUTO DE BIOLOGÍA

BIOLOGÍA EVOLUTIVA

**Un enfoque integrativo para entender la diversidad foliar
en *Ipomoea* (Convolvulaceae)**

TESIS

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

PRESENTA:
BRENDA HERNÁNDEZ HERNÁNDEZ

TUTORA PRINCIPAL DE TESIS:
DRA. NATALIA IVALÚ CACHO GONZÁLEZ
INSTITUTO DE BIOLOGÍA, UNAM

COMITÉ TUTOR:
DRA. GUADALUPE JUDITH MÁRQUEZ GUZMÁN
FACULTAD DE CIENCIAS, UNAM

DRA. LAURA CALVILLO CANADELL
INSTITUTO DE BIOLOGÍA, UNAM

Ciudad Universitaria, CD. MX. 2022



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

INSTITUTO DE BIOLOGÍA

BIOLOGÍA EVOLUTIVA

**Un enfoque integrativo para entender la diversidad foliar
en *Ipomoea* (Convolvulaceae)**

TESIS

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

PRESENTA:
BRENDA HERNÁNDEZ HERNÁNDEZ

TUTORA PRINCIPAL DE TESIS:
DRA. NATALIA IVALÚ CACHO GONZÁLEZ
INSTITUTO DE BIOLOGÍA, UNAM

COMITÉ TUTOR:
DRA. GUADALUPE JUDITH MÁRQUEZ GUZMÁN
FACULTAD DE CIENCIAS, UNAM

DRA. LAURA CALVILLO CANADELL
INSTITUTO DE BIOLOGÍA, UNAM

Ciudad Universitaria, CD. MX. 2022

COORDINACIÓN DEL POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

INSTITUTO DE BIOLOGÍA

OFICIO CPCB/576/2022

ASUNTO: Oficio de Jurado

M. en C. Ivonne Ramírez Wence
Directora General de Administración Escolar, UNAM
Presente

Me permito informar a usted que el Comité Académico del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día **14 de marzo de 2022** se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de **MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS** en el campo de conocimiento de **BIOLOGÍA EVOLUTIVA** de la estudiante **HERNÁNDEZ HERNÁNDEZ BRENDA** con número de cuenta **310051455** con la tesis titulada “**Un enfoque integrativo para entender la diversidad foliar en *Ipomoea* (Convolvulaceae)**”, realizada bajo la dirección de la **DRA. NATALIA IVALÚ CACHO GONZÁLEZ**, quedando integrado de la siguiente manera:

Presidente: DR. RAFAEL LIRA SAADE
Vocal: DR. ALEJANDRO EMMANUEL GONZÁLEZ VOYER
Vocal: DR. SANTIAGO ALEJANDRO RAMÍREZ BARAHONA
Vocal: DR. RICARDO GARCÍA SANDOVAL
Secretario: DRA. LAURA CALVILLO CANADELL

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

ATENTAMENTE
“**POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU**”
Ciudad Universitaria, Cd. Mx., a 16 de junio de 2022

COORDINADOR DEL PROGRAMA



DR. ADOLFO GERARDO NAVARRO SIGÜENZA



Agradecimientos

Al Posgrado en Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) por brindarme la oportunidad de seguir aprendiendo.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por otorgarme la beca con la que fue posible concluir mis estudios de maestría (número de CVU **1034317**).

Investigación realizada gracias al Programa UNAM-PAPIIT por financiar el proyecto IN213220 "Diversidad, sistemática y evolución de camotes, campanillas y cacahuates (*Ipomoea*, Convolvulaceae), un enfoque integrativo".

Un especial agradecimiento a mi tutora la Dra. Natalia Ivalú Cacho González, por darme la oportunidad de colaborar en este proyecto. Ivalú ¡lo logramos! Gracias por siempre tener un momento para escucharme y escuchar mis ideas. Gracias por enseñarme el valor del tiempo, esfuerzo, constancia, organización y pensamiento crítico. Nos vemos en el futuro... tú confía.

A la Dra. Laura Calvillo Canadell. Gracias por todos los comentarios hacia mi trabajo y por resolver cada una de mis dudas, siempre con disposición y amabilidad. Gracias por apoyarme y darme confianza en mí misma, ese regalo es invaluable.

A la Dra. Guadalupe Judith Márquez Guzmán. Doctora, ha sido un honor para mí trabajar a su lado desde la licenciatura, he aprendido tanto con sus comentarios y me ha hecho sentir valiosa como científica, muchas gracias.

A la Dra. Rosalinda Tapia López, por el apoyo en técnicas moleculares y bioinformáticas.

Al personal del Posgrado en Ciencias Biológicas, en especial a Rocío González Acosta, por la ayuda que me brindó en cada trámite, siempre de una forma amable y eficaz.

Agradecimientos a título personal

A todas las personas que se esforzaron y se esfuerzan por mantener la educación pública y gratuita. Sin ustedes yo no tendría un lugar en la Universidad Nacional Autónoma de México.

Al Dr. Rafael Lira Saade, por las observaciones que realizó acerca del banco de imágenes y los estados de carácter. Sin duda sus comentarios me permitieron contextualizar mi proyecto y no perder de vista los aspectos biológicos de mi modelo de estudio. Ha sido un excelente profesor.

Al Dr. Ricardo García Sandoval, por toda la ayuda que me otorgó y por responder cada pregunta, por regalarle al mundo el canal de YouTube “SisteMatrix”, sin duda a mí y a cientos de alumnxs nos ha sacado de más de una. Ric, eres uno de los mejores profesores que la UNAM y yo hemos podido tener. Espero algún día ser tan entusiasta y paciente. Gracias por no olvidar que lxs estudiantes importamos.

Al Dr. Alejandro González Voyer, por el tiempo que dedico a revisar mi tesis y a resolver mis dudas. Los comentarios y aportaciones que realizó acerca del método, sin duda fueron esenciales para presentar un trabajo más sólido.

Al Dr. Santiago Ramírez Barahona, por los comentarios que hizo a mi tesis, sin duda me ayudaron a mejorarla. Gracias por tomarse el tiempo de reunirse conmigo para discutir puntos importantes de mi proyecto.

Al Dr. Marcelo R. Pace, por todas las enseñanzas que pude obtener de él en el trabajo de campo.

A la Dra. Rosalinda Tapia López. Gracias por siempre procurarme y hacerme sentir en familia. Te quiero Rous.

A la Dra. Alejandra Vasco, por confiar en mí y siempre darme su apoyo. Ale, gracias por estar en mi vida.

A mi amiga y profesora Marisa Ordaz, por todo el apoyo y guía en el largo camino de aprender inglés. Gracias por las palabras de aliento y cada corrección.

A Miguel Rosas, por toda la ayuda para construir la colección del banco de imágenes de *Ipomoea* y el apoyo en el procesamiento de imágenes, bases de datos y la toma de medidas de área foliar y perímetro. Amigo, eso fue un trabajo difícil, gracias.

A Itzel Piña, por ayudarme en las mediciones de área foliar y perímetro.

A mis compañeras y compañero del cubículo A-204: Itzel, Clara y Max. Gracias por crecer y crear conmigo.

A mi amiga Vero, por siempre tener un ratito para ayudarme, escucharme, reconfortarme y un montón más de verbos en infinitivo con un pronombre reflexivo al final.

A las Carnalinhãs: Angelica Quintanar, Lorena Luna y Rosa Nejapa, por ser un lugar seguro.

A mi amigo Andrés Argüelles Moyao, por las horas que dedicó a escucharme y guiarme. Por siempre ayudarme a entender lo que no entendía.

A mi amiga Paw Patrol, simplemente no encontraría palabras en ningún idioma para agradecer tu amistad y amor a lo largo de estos años. Gracias por ser mi amiga, enfermera, diseñadora, MI EQUIPO.

A los amigos que hice en el camino, Emman y Diego Emilio por siempre ser mi soporte técnico.

A mi amigo tapatío César Montes Figueroa, por su disposición para corregir mis textos. Gracias por venir a darle forma a mi caos. Te quiero para siempre.

A mi amigo Julián Olvera, por todas las tardes culturales y de intercambio de ideas (pasear y chismear). Gracias por no dejarme sola aquel día de la safranina.

A mi amigo Mark, por compartir conmigo el centro de salud, aunque no te gusta el post punk ruso. Gracias por ser mi amigo.

A Marjorie, definitivamente nunca habría llegado a este punto sin tu tiempo para escucharme.

Hola niña. Gracias por desvelarte conmigo echándole ganas, por toda la ayuda en programación, por prepararme caldito de pollo, por pasarme cosas (luego yo te paso algo), por todos los desayunos viendo el malcon y, sobre todo, gracias por dejarme ser cuando la vida era demasiado. Eres la mejor “errera” que he conocido, gracias por ser mi J.A.R.V.I.S. Sin ti esta aventura no habría sido igual. Más que mi amiga eres mi rumi. Te quiero Vale.

Finalmente, a mi Familia; Benigno, Naty y Amparo, gracias por enseñarme a luchar por mis sueños y apoyarme en cada uno de ellos, gracias por mantenerme en sus pensamientos y desear siempre lo mejor para mí. A mis personitas favoritas del mundo: Zoe, Luna, Amaya y Canek, gracias por iluminar mi vida y recargar mis energías con las sonrisas y abrazos más sinceros del mundo. A mis hermanas; Gurru, Eve, Gaby y Reina, por ser mis mejores amigas, por ser mis cómplices y mi lugar seguro. A mis hermanos; Benny eres un gran pilar en mi vida. Ángel, en donde quiera que estés, vuela alto.

ÍNDICE

RESUMEN.....	3
ABSTRACT	4
INTRODUCCIÓN	5
Diversidad foliar y adaptación.....	6
Factores genéticos, ecológicos y evolutivos como moldeadores de la diversidad foliar	8
<i>Ipomoea</i> como modelo para estudiar la diversidad foliar en un marco evolutivo.....	11
OBJETIVOS.....	15
Objetivo general	15
Objetivos particulares	15
ANTECEDENTES.....	16
Descriptores de la morfología foliar.....	16
La morfometría en el estudio de la diversidad foliar.....	18
La importancia de un enfoque macroevolutivo	18
Señal filogenética	19
Reconstrucción de estados ancestrales	20
Mapeo estocástico de caracteres.....	20
METODOLOGÍA	21
Filogenia de <i>Ipomoea</i>	21
Banco de imágenes de <i>Ipomoea</i>	23
Caracteres categóricos	24
Caracteres continuos.....	25
Evaluación del papel de la filogenia como moldeador de la diversidad foliar.....	26
Evaluación del origen de diferentes formas	27
RESULTADOS.....	29
Filogenia actualizada de <i>Ipomoea</i>	29
Caracterización de la diversidad foliar de <i>Ipomoea</i> en un contexto filogenético (con énfasis en el clado NW).....	31
Origen y evolución de distintas formas de la hoja en <i>Ipomoea</i> (con énfasis en el clado NW) ..	36
DISCUSIÓN.....	65
Patrones evolutivos en la forma de la hoja en <i>Ipomoea</i>	68
Cambios en la interacción genética como respuesta al ambiente.....	70
CONCLUSIONES	74

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS75
ANEXO 182
ANEXO 287
ANEXO 390
ANEXO 491
ANEXO 5101
ANEXO 6103

RESUMEN

Las hojas son esenciales para los ecosistemas, en ellas se realiza la fijación de carbono, captura de energía solar y producción de oxígeno. Durante su evolución, las plantas, han desarrollado una gran diversidad de morfología foliar. A pesar de su importancia, el conocimiento que se tiene sobre el origen de este órgano y los mecanismos que llevaron a la aparición de nuevas formas es limitado.

Algunos estudios han mostrado que la aparición de nuevas formas podría ser moldeada por cambios en la regulación genética influenciados por el ambiente. Sin embargo, se reconoce que a pesar de la gran plasticidad que pueda presentar la hoja, existen ciertos límites relacionados con la historia filogenética de un linaje que podrían limitar la transición entre formas y por lo tanto moldear su evolución (por ejemplo: el ligamiento genético, pleiotropía, epistasis y variación genética, entre otros). *Ipomoea* L. (Convolvulaceae) es un buen modelo para estudiar evolución foliar dada la gran diversidad en atributos foliares que exhibe.

En este trabajo actualizamos la filogenia de *Ipomoea* y realizamos análisis de señal filogenética, mapeo estocástico de caracteres y reconstrucción de estados ancestrales de los siguientes caracteres: forma de la lámina, base, ápice, margen, presencia de peciolo, tipo de hoja (simple o compuesta), área foliar, perímetro e índices de nivel de disección de la lámina (circularidad, área/perímetro).

Nuestros resultados revelan muy baja señal filogenética ($K=0.0024$ a 0.0377 para caracteres continuos y de 0.0026 a 0.0207 para caracteres categóricos), lo cual sugiere que la evolución foliar en *Ipomoea* no está limitada por la historia filogenética y que son otros los factores que moldean la evolución de la gran diversidad foliar en este grupo. La reconstrucción de estados ancestrales indica que la hoja ancestral de *Ipomoea* muy probablemente fue ovada con base cordada, ápice acuminado y margen entero. Además, observamos que las transiciones más comunes son de ovada → trilobada y ovada → oblonga, y la menos común de obovada → pinnada. En conjunto los resultados sugieren que la evolución de láminas divididas en *Ipomoea* podría incluir láminas lobuladas y disectadas como pasos intermedios.

Finalmente, proponemos hipótesis sobre factores ecológicos y genéticos que pueden estar moldeando la evolución foliar en *Ipomoea*.

ABSTRACT

Leaves are essential for ecosystems; carbon fixation, solar energy capture and oxygen production take place in them. Throughout their evolution, plants have developed a great diversity of foliar morphology. Despite their importance, our knowledge of the origin of this plant organ and the mechanisms that led to new forms is limited.

Some studies have shown that the appearance of new forms could be shaped by changes in genetic regulation influenced by climate. However, it is acknowledged that despite the large plasticity that leaves can present, there are limits related to a lineage's phylogeny that could limit transitions among shapes and thus shape leaf evolution (e.g., genetic linkage, pleiotropy, epistasis and genetic variation, among others). *Ipomoea* L. (Convolvulaceae) is a good model to study foliar evolution given the great diversity in foliar attributes it exhibits.

In this work, we update the phylogeny of *Ipomoea* and perform analyses on leaf evolution; in particular, we assess phylogenetic signal, stochastic character mapping and ancestral state reconstruction for the following characters: leaf blade shape, apex, margin, petiole presence, kind of leaf (simple or compound), foliar area, perimeter and two indices that inform the degree of blade dissection (circularity and area: perimeter).

Our results reveal very low phylogenetic signal (Blomberg's $K=0.0024$ to 0.0377 for continuous traits and 0.0026 to 0.0207 for categorical traits) suggesting that factors other than phylogeny might be shaping the great foliar diversity in *Ipomoea*. Ancestral states reconstruction indicates that the ancestral leaf of *Ipomoea* was likely ovate, with a cordate blade, acuminate apex, and entire margin. Also, we observe that the most common transitions are ovate to trilobed and ovate to oblong, and the less common obovated to pinnated. As a whole, the results suggest that the evolution of divided leaves in *Ipomoea* might include lobate and dissected blades as intermediate steps.

We end by formulating hypotheses about ecological and genetic factors that can be shaping foliar evolution in *Ipomoea*.

INTRODUCCIÓN

Las hojas juegan un papel fundamental en los ecosistemas terrestres debido a que en ellas se lleva a cabo la fijación de carbono, captura de energía solar que se transforma en energía utilizable para la vida, y además producen cerca del 20% del oxígeno del planeta (Langdale, 2008; Nicotra *et al.*, 2015). Las hojas son uno de los órganos en plantas vasculares con mayor diversidad morfológica; pueden variar en tamaño, área foliar, grosor, dureza, indumento y forma, además de exhibir gran diversidad en su estructura anatómica y fisiológica.

No obstante existen pocos estudios que evalúan su diversidad, origen y evolución y cómo algunos caracteres (p.ej., la forma de la lámina) pueden afectar directamente ciertas funciones fisiológicas de la hoja y con ello la adecuación de una planta (Tyree & Sperry, 1989; Beerling & Berner, 2005; Skelton *et al.*, 2018). Conocer los factores históricos y ecológicos involucrados en promover y mantener la diversidad foliar es fundamental para entender procesos como la adaptación de las plantas a cambios en el ambiente.

Las hojas también poseen valor taxonómico relevante. Algunos estudios han identificado caracteres foliares sinapomorficos. Por ejemplo, el curso de las venas principales y las características de las areolas (áreas más pequeñas del tejido foliar rodeadas por venas) son de gran utilidad para identificar dicotiledóneas en distintos niveles jerárquicos (Hickey, 1973). Este es el caso de la familia Rubiaceae, donde la distinción entre tribus está mediada por la presencia de una vena fimbrial en las tribus Hamelieae y Psychotrieae, mientras que en las tribus Cinchoneae y Gardenieae la venación marginal es incompleta (Martínez Cabrera, Terrazas & Ochoterena, 2007). Recientemente se han empezado a emplear métodos cuantitativos para describir la forma de la lámina, ya sea basados en la relación entre los ejes de una elipse ajustada a la lámina, calculando su circularidad (Chitwood *et al.*, 2014), o empleando técnicas de morfometría geométrica (Adams, Rohlf & Slice, 2004).

Paradójicamente, una de las principales problemáticas para estudiar la diversidad foliar es la gran diversidad morfológica existente, aunado a las diferentes formas que se emplean para categorizarla y describirla, las cuales comúnmente varían de acuerdo a los diferentes autores. Por ejemplo, existen al menos 30 términos morfológicos y anatómicos para describir tan solo la forma de la lámina, sin contar una variedad de términos existentes para caracterizar ápice, base y margen (Ellis *et al.*, 2009; Beentje, 2010).

Hickey en 1973 propone caracterizar la forma de la hoja mediante una serie de descriptores de la morfología foliar y que en conjunto los llamó arquitectura foliar, estos son: ápice, base, margen, lámina y disposición de las nervaduras en la lámina. Ellis *et al.*, retoman esta propuesta. A continuación menciono una breve descripción de cada descriptor de la arquitectura foliar.

Ápice: Es el 25% de la lámina localizada en la parte distal de la hoja

Base: Es el 25% de la lámina localizada en la parte proximal de la hoja

Margen: Región que limita el tejido de la lámina.

Forma de la lámina: Está dada por la relación largo (L)- ancho (W) de la lámina. El largo se obtiene midiendo paralelamente a la vena media, desde el punto más distal a la parte proximal de la lámina. Por otro lado, el ancho se determina trazando la línea con mayor longitud que sea perpendicular a la vena media.

Disposición de haces vasculares: Este es un descriptor jerárquico que agrupa venas de diferentes ordenes; dichos ordenes tienen un arreglo característico que permite su clasificación.

Diversidad foliar y adaptación

Algunas investigaciones han puesto particular atención en el estudio de la capa límite de las hojas (capa de aire en contacto directo con la hoja) y cómo ésta se modifica dependiendo de la forma de la lámina (Givnish, 1987; Barbosa *et al.*, 2019). Otros estudios han mostrado que la capa límite se relaciona con la tasa de intercambio de gases, agua y calor de las hojas con el ambiente, lo que a su vez permite maximizar la captura de luz favoreciendo la actividad fotosintética. Por ejemplo, las hojas lobuladas que están asociadas a ambientes más xéricos y con cambios drásticos de temperatura entre el día y la noche, tienen una capa límite más delgada lo cual permite que se enfríen o calienten de manera más eficiente (por convección) y se mantengan a temperaturas parecidas a las del aire circundante, evitando pérdidas excesivas de agua o congelamiento (Schuepp, 1993; Ellis *et al.*, 2009; Jones *et al.*, 2009; Vogel, 2009).

El área foliar es un carácter ampliamente variante en Angiospermas, éstas pueden variar de $<25 \text{ mm}^2$ (*Euphorbia thymifolia* L., *Rhynchospora* sp.; Acevedo-Rodríguez & González-

Torres, 2015) hasta $> 100 \text{ cm}^2$ (*Gunnera tinctoria*; Fennell *et al.*, 2012) y, al igual que el grado de división de la lámina, se ha observado que un área foliar pequeña se relaciona con una capa límite menor (Givnish, 1987; Sack & Frole, 2006).

La forma de la lámina es uno de los caracteres mejor estudiados debido, entre otras cosas, a su amplia variación, pero otros componentes de la arquitectura foliar también pueden ser de utilidad para explicar la relación de la diversidad foliar con una mayor adecuación. Por ejemplo, algunos estudios han mostrado que en climas fríos y con poca humedad, los márgenes dentados son favorecidos. Una explicación a este patrón está dada por la “Hipótesis del intercambio de gases”, que plantea que los dientes del margen son sitios de alta tasa de intercambio de gases donde la fotosíntesis es más eficiente y se maximiza el potencial de crecimiento cuando la temperatura es limitante, pero la humedad y los recursos de nutrientes no lo son (Royer & Wilf, 2006). En plantas de *Acer rubrum* L. (Sapindaceae) los individuos cultivados en climas fríos desarrollan hojas con un margen más dentado y láminas más disectadas que plantas genéticamente similares cultivadas en áreas con climas más cálidos (Royer *et al.*, 2009). También, Chitwood *et al.*, mostraron que en *Vitis* (Vitaceae), los senos distales de la hoja suelen ser más pronunciados en plantas que habitan climas más fríos y secos (Chitwood *et al.*, 2016).

Se ha documentado una relación general entre algunos rasgos del ápice y ciertas condiciones ambientales, por ejemplo, en el género *Cercis* (Fabaceae), las hojas de las plantas que se encuentran en climas xéricos suelen ser más gruesas, con forma de la lámina orbicular-reniforme y con un ápice redondeado a ligeramente emarginado, mientras que aquellas de plantas en climas mésicos, suelen ser más delgadas, ovadas a cordiformes y con ápices acuminados (Fritsch *et al.*, 2018). Se ha visto que la forma del ápice puede presentar ventajas en ciertos ambientes. De forma más general, algunos autores han propuesto que los ápices marcadamente acuminados (comúnmente conocidos como “punta de goteo”) pueden conferir una ventaja adaptativa en ambientes húmedos al facilitar la esorrentía de agua y así interferir con el crecimiento de organismos epífitos que limitan la fotosíntesis (Wang *et al.*, 2020). Se ha documentado que las puntas de goteo son comunes en bosque húmedos (Givnish, 1987).

Uno de los ámbitos en los que la relación entre atributos foliares y clima ha cobrado gran relevancia, es en la paleobotánica. En esta disciplina, se utilizan las características de las hojas fósiles como indicadores de ambientes particulares, y han sido utilizadas como base para hacer

reconstrucciones paleoclimáticas (Dilcher, 1974; Bailey & Elkan, 1994; Calvillo-Canadell & Cevallos-Ferriz, 2005; Ayala Robledo, 2015; Pérez Mausan, 2016).

Factores genéticos, ecológicos y evolutivos como moldeadores de la diversidad foliar

Los estudios de diversidad foliar desde una perspectiva de señalización genética se han enfocado principalmente en la forma de la lámina. Diferentes trabajos en Angiospermas muestran que los genes *HOMEBOX* (*KNOX* clase I) juegan un papel determinante en moldear la forma de la lámina (Bharathan *et al.*, 2002; Harrison *et al.*, 2005; Floyd & Bowman, 2006). Por otro lado, se ha demostrado que la sobreexpresión de *KNOX* de clase I produce hojas maduras muy divididas; además, se ha visto que al sobre expresar los genes *KNOX* clase I en Angiospermas de hojas simples, las hojas desarrollan lóbulos o márgenes crenulados (Hareven *et al.*, 1996; Chen *et al.*, 1997; Janssen *et al.*, 1998; Bharathan *et al.*, 2002).

Aunque la forma de la hoja puede estar regulada por una red genética compleja (Byrne, 2012), en algunos organismos este proceso es más sencillo. Tal es el caso de *Ipomoea hederacea* Jacq. (Convolvulaceae), la cual presenta hojas enteras y lobuladas, y a menudo ha sido dividida en dos variedades de acuerdo a la forma de la hoja: *I. hederacea* var. *integriuscula* A.Gray (hojas ovadas), e *I. hederacea* var. *hederacea* (hojas trilobadas) (Bright & Rausher, 2008). Sin embargo, dos estudios han mostrado que la diferencia entre las formas está dada por segregación mendeliana en un solo locus (Elmore, 1986; Bright & Rausher, 2008) (Figura 1).

La expresión de algunos de estos genes puede estar sujeta a cambios en el clima, la humedad atmosférica, la luz, o la temperatura (Langdale, 2008; Nicotra *et al.*, 2015; Chitwood & Otoni, 2017). Por ejemplo, un estudio realizado en *Mimulus laciniatus* A.Gray (Phrymaceae) a lo largo de un gradiente altitudinal y con diferencias en la humedad del suelo, mostró que las poblaciones que habitan a mayores elevaciones tienen una lámina más dividida (Ferris, 2019) (Figura 2).

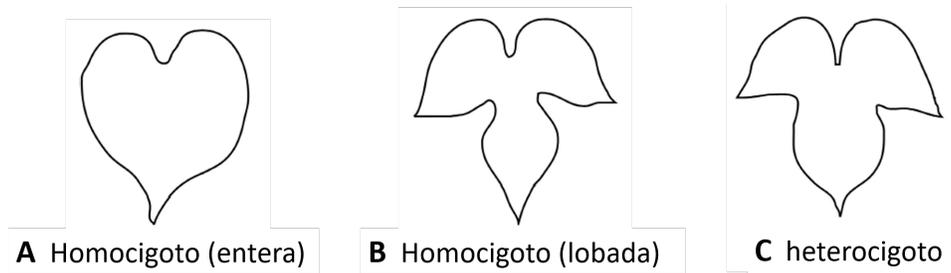


Figura 1. Genotipos de *Ipomoea hederacea*: (A) homocigotos con hojas enteras, (B) homocigotos con hojas lobuladas y (C) heterocigotos con hojas lobuladas. Modificado de Bright & Rausher 2008.

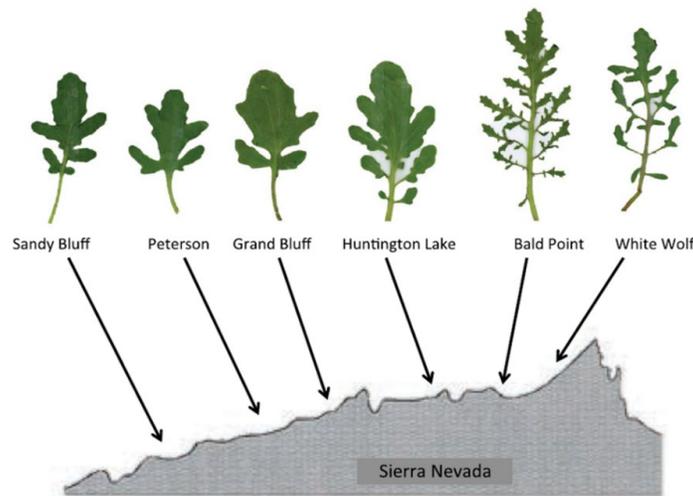


Figura 2. La morfología de la hoja puede variar a lo largo de un gradiente altitudinal. En *Mimulus laciniatus* las poblaciones que se encuentran en mayores altitudes (con climas más húmedos y fríos) tienden a presentar hojas más divididas que aquellas de zonas bajas, donde la temperatura es mayor y la humedad es menor (Tomado de Ferris 2019).

Algunos estudios plantean que la selección impuesta por herbívoros puede favorecer la evolución de hojas con formas diferentes. Por ejemplo, diferentes trabajos han revelado que algunas especies usan el mimetismo como protección contra herbivoría, imitando la morfología foliar de especies que resultan desagradables para algunos herbívoros (Barlow & Wiens, 1977; Givnish, 1984; Brown & Lawton, 1991). La asociación con otras plantas también puede resultar en modificaciones de la forma de la hoja: en comunidades con *Betula pendula* (Betulaceae), se ha mostrado una asociación entre la abundancia de abedul y el área foliar de las otras especies de la comunidad (Muiruri *et al.*, 2019).

No obstante todos los factores que pueden incidir en la morfología foliar y de la gran plasticidad que pueda presentar la hoja, existen ciertos límites que podrían moldear la evolución y por ende la diversidad morfológica resultante (Jones *et al.*, 2009). Givnish (1987) plantea que la evolución de la diversidad puede estar limitada por ligamiento, pleiotropía, epistasis y variación genética determinadas por la historia filogenética, lo cual impediría que algunos linajes adquirieran ciertas formas a pesar de que las condiciones ambientales favorezcan esos cambios.

La distribución de los estados de carácter en la filogenia puede ser un indicador de la importancia de la historia filogenética en la evolución y diversidad del mismo, y al igual que la evaluación de las condiciones ambientales y genéticas, un enfoque evolutivo permite tener un panorama más amplio para entender el origen de la diversidad foliar (Givnish, 1987). Una herramienta para evaluar la importancia de la historia en la evolución de un carácter es la reconstrucción de estados ancestrales, es decir, la visualización de los estados de carácter en una filogenia (Martins, 2000). Si un estado de carácter muestra una distribución aleatoria, o está fuertemente asociado a la estructura de relaciones de parentesco entre las especies, tiene implicaciones distintas sobre la evolución del carácter (Figura 3). Por ejemplo, un patrón en el que los estados de carácter están asociados a clados (Figura 3a) sugiere sinapomorfías, por lo que la historia filogenética compartida entre especies cercanamente relacionadas estaría limitando la evolución de ese carácter. Por otro lado, la distribución de un mismo estado de carácter en diferentes clados de la filogenia sugiere que este carácter es homoplásico, es decir una similitud no debida a ancestría común (Figura 3b). Además del mapeo de caracteres, existen métodos cuantitativos que permiten estimar parámetros como la contribución de la filogenia en la evolución de un carácter (como la señal filogenética), la probabilidad asociada a los distintos estados de un carácter en los nodos de la filogenia, y las tasas de evolución de caracteres.

Un estudio realizado en el género *Pelargonium* (Geraniaceae), el cual se destaca por una gran diversidad en la forma de la lámina, mostró que este género cuenta con diferentes niveles de labilidad evolutiva para cada carácter foliar, siendo los dos más variables la forma de la lámina (grado de disección o lobulación) y el tamaño funcional de la hoja. Además, en este estudio se evaluaron asociaciones entre caracteres, siendo significativas aquellas entre venación pinnada y láminas muy disectadas, así como entre tamaños foliares funcionales pequeños y márgenes completos; los autores sugieren, con base en sus análisis, que estos rasgos han coevolucionado en *Pelargonium* (Jones *et al.*, 2009).

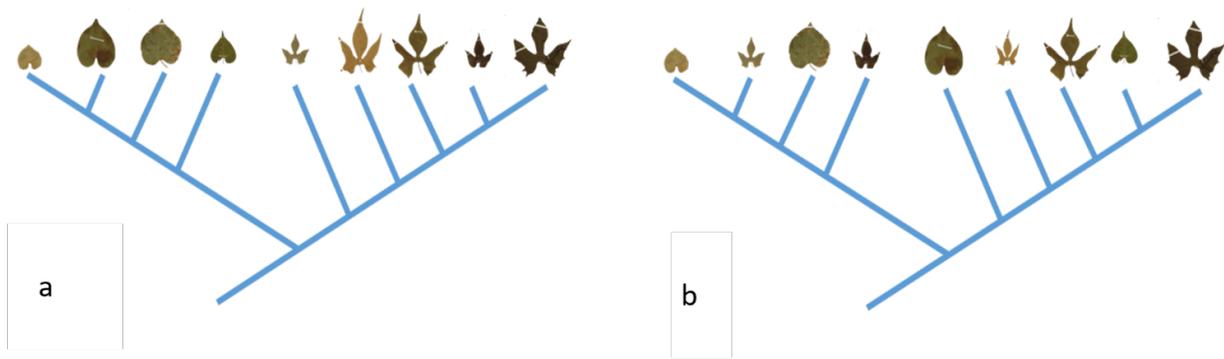


Figura 3. La distribución de los estados de carácter en una filogenia puede dar cuenta de la importancia de la historia filogenética en la evolución de dicho carácter. Este ejemplo hipotético muestra la evolución de la morfología foliar donde existen dos estados para dicho carácter (cordada y lobada). **a** Los estados del carácter se asocian a clados. **b** Los estados de carácter se encuentran distribuidos de forma aleatoria, sin una asociación clara con la filogenia. Figura e imágenes: BHH.

Ipomoea como modelo para estudiar la diversidad foliar en un marco evolutivo

El género *Ipomoea* L. (Convolvulaceae) comprende de 600 a 700 especies distribuidas alrededor del mundo, de las cuales cerca del 50% se encuentra en el continente americano. Se estima que en México existen alrededor de 150-170 especies (Austin & Huáman, 1996; Dorado-Ruiz *et al.*, 2016; Villaseñor, 2016), por lo que México es considerado uno de los centros de diversidad del género.

Ipomoea se caracteriza por una gran variación morfológica en el hábito, raíces, flores, frutos y hojas. Existen hierbas volubles, enredaderas, trepadoras (leñosas), arbustos, y árboles; los tallos pueden ser erectos, postrados o contortos. En cuanto a las raíces, estas pueden ser fibrosas o tuberosas cuyo tamaño también es muy variable (Austin & Huáman, 1996; Dorado-Ruiz *et al.*, 2016; Villaseñor, 2016). Sus frutos son cápsulas globosas con semillas que pueden ser lisas, pubescentes, puberulentas o pilosas (Wood *et al.*, 2020).

Dentro de toda esta variación morfológica, destaca la gran diversidad foliar (Figura 4). La mayoría de las especies posee hojas cordadas, pero existen especies con hojas ovadas, oblongo-lanceoladas, trilobadas, trilobado-hastadas, elípticas, simples o compuestas, persistentes o deciduas, glabras o pubescentes, con márgenes dentados o enteros, ápices agudos, mucronados, redondos, emarginados y las bases pueden ser sagitadas, hastadas, decurrentes o cordadas, por

mencionar parte de la diversidad (Dorado-Ruiz *et al.*, 2016). Además de la forma y el tamaño, la hoja también varía en la densidad de venación foliar, la densidad de tricomas, la disposición de la vasculatura, y el grosor y dureza de la lámina (Dorado-Ruiz *et al.*, 2016). Dicha diversidad hace de este grupo un excelente modelo para estudiar el papel de la historia evolutiva en el origen y evolución de la diversidad foliar. Sin embargo, hasta el momento existen pocos trabajos en donde se estudia la diversidad foliar dentro del género; esto puede deberse a la poca resolución filogenética que existía hasta hace un par de años.

Actualmente el género de *Ipomoea* cuenta con una filogenia actualizada realizada por Muñoz *et al.*, 2019 bajo una perspectiva genómica (421 genes) y un muestreo taxonómico relativamente amplio (211 especies; Figura 5), así como con una filogenia inferida mediante el marcador ITS (espaciador transcrito interno por sus siglas en inglés), con un muestreo taxonómico mayor (1,237 terminales correspondientes a 498 especies de las cuales 475 son de *Ipomoea* y 34 especies asignadas al grupo externo; Anexo 1). Los resultados de ambas filogenias muestran que con la clasificación que se manejaba hasta el 2019 *Ipomoea* no conformaba un grupo monofilético (Muñoz-Rodríguez *et al.*, 2019).

Trabajos anteriores sostenían que la tribu *Ipomoeae* estaba conformada por nueve géneros: *Argyreia*, *Astripomoea*, *Blinkworthia*, *Ipomoea*, *Lepistemon*, *Paralepistemon*, *Rivea*, *Strictocardia* y *Turbina* (Stefanović, Austin & Olmstead, 2003). Los resultados obtenidos por Muñoz *et al.*, 2019, permiten proponer una reclasificación taxonómica de algunos géneros y su integración al género de *Ipomoea*. Actualmente los géneros *Argyreia*, *Astripomoea*, *Lepistemon*, *Strictocardia* y *Turbina* forman parte del clado de *Ipomoea* por lo cual ahora puede ser considerado como un grupo monofilético.

Este trabajo busca contribuir al conocimiento sobre el origen y evolución de la diversidad foliar mediante el estudio de características que componen la arquitectura foliar en un contexto filogenético utilizando al género *Ipomoea* como modelo, y haciendo énfasis en clados del continente americano (definidos como el clado NW por Muñoz *et al.*, 2019). Este estudio se plantea como finalidad principal documentar la diversidad foliar en *Ipomoea* en un contexto filogenético.



Figura 4. Muestra de la diversidad foliar en *Ipomoea*. La diversidad foliar de este género está presente en los diferentes caracteres que componen la arquitectura foliar. Las imágenes no están a escala. Imágenes: BHH.

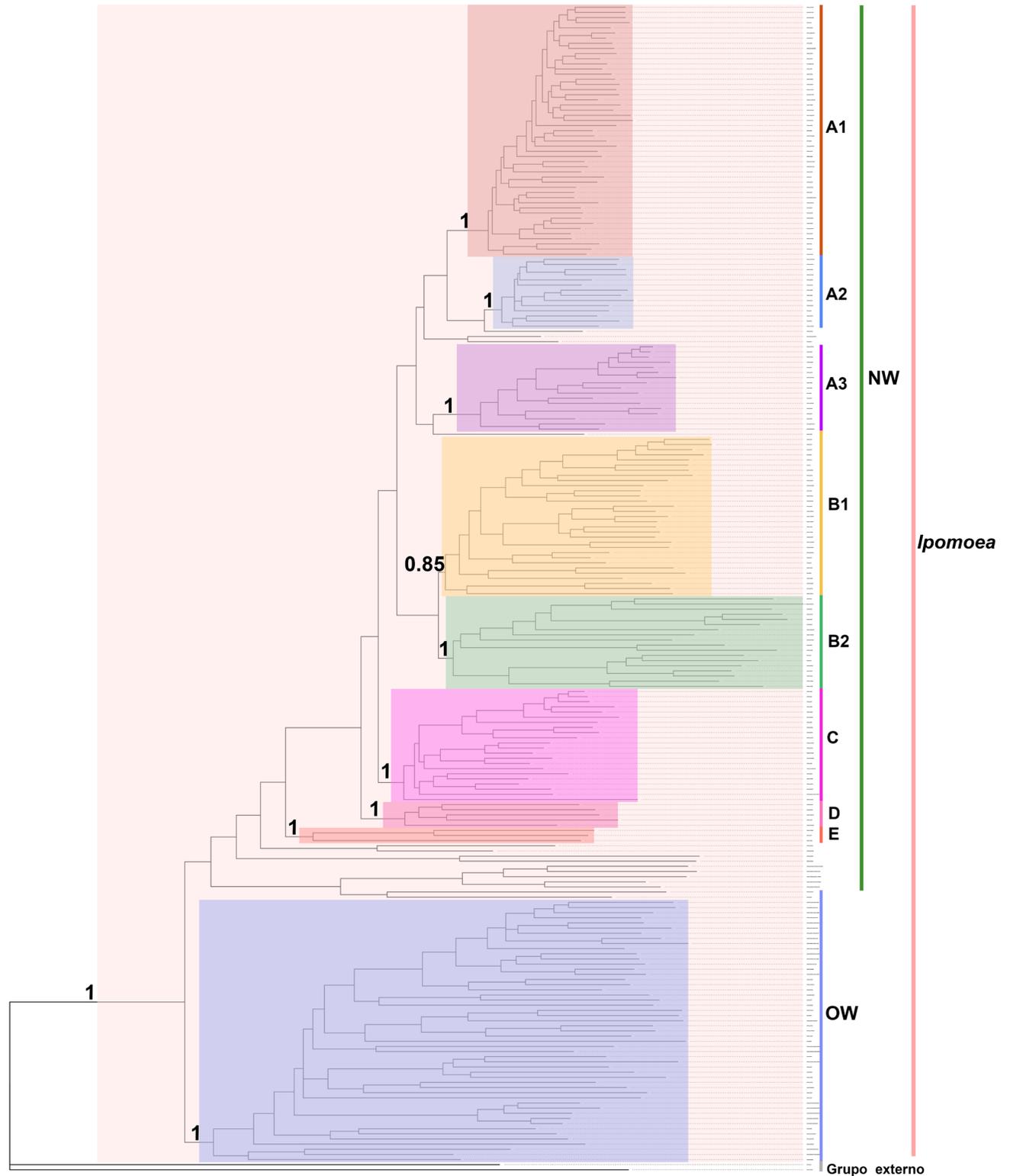


Figura 5. Filogenia publicada por Muñoz y colaboradores (Muñoz *et al.*, 2019), obtenida con Inferencia Bayesiana a partir de 421 genes nucleares de copia única. Se muestran los dos grandes clados de *Ipomoea*: Clado OW (Old World) y clado NW (New World). Únicamente se muestran los valores de probabilidad posterior de los clados propuestos por Muñoz y colaboradores.

OBJETIVOS

Objetivo general

Evaluar, desde una perspectiva filogenética, la diversidad de la morfología foliar en *Ipomoea* L. (Convolvulaceae) con énfasis en especies del continente americano (clado NW), para contribuir al conocimiento sobre diversidad y evolución foliar.

Objetivos particulares

1. Realizar una estimación filogenética actualizada de *Ipomoea* bajo el enfoque de Máxima Verosimilitud e Inferencia Bayesiana.
2. Caracterizar la diversidad foliar de *Ipomoea* (con énfasis en el clado NW) en un contexto filogenético, y estimar la contribución de la filogenia en la evolución de dicha diversidad.
3. Estimar el origen de distintas formas de la hoja de *Ipomoea* (con énfasis en el clado NW) mediante un enfoque de mapeo estocástico de caracteres y reconstrucción de estados ancestrales con base en una filogenia actualizada de *Ipomoea*.

ANTECEDENTES

Descriptores de la morfología foliar

Existe una gran diversidad de términos para describir los distintos atributos de la morfología foliar (por ejemplo, base cordada, margen dentado, lámina palmada o trilobada), los cuales tienen ventajas y desventajas (Ellis *et al.*, 2009). Entre las ventajas están que los descriptores de la morfología foliar facilitan la comunicación; por ejemplo, el término "cordado" para referirse a la forma de la base, o "dentado" para referirse al margen, dejan poca ambigüedad a la forma general que describen. Una limitación de estos descriptores es que no es fácil la delimitación de cada uno de los estados de carácter (por ejemplo, es difícil referir qué tan cordada es una hoja). Una aproximación para resolver esta limitación ha sido usar medidas de tamaño (p. ej., longitud y ancho máximo, ubicación relativa del ancho máximo respecto a la longitud máxima, etc.), así como utilizar atributos que varían de forma continua, como el área y perímetro foliares (Demmings *et al.*, 2019; Chitwood, 2020).

Área y perímetro foliares

El área y perímetro foliares son descriptores comúnmente utilizados, pero con limitaciones. Por ejemplo, una misma medida de área foliar puede estar representando una lámina completa o una muy dividida, y lo mismo se cumple para el perímetro. Sin embargo, las comparaciones entre área y perímetro foliares pueden ser de gran utilidad. Por ejemplo, para un área foliar dada, un perímetro mayor al esperado en un círculo (o determinada forma) implicaría que la hoja en cuestión presenta atributos 'caprichosos' que aumentan el perímetro, pero no el área, como indentaciones o divisiones. Así, la relación área/perímetro arroja un índice que da cuenta del nivel de disección que tiene una lámina (Chitwood *et al.*, 2014).

Circularidad y relación de aspecto

Otra forma de cuantificar la forma de la lámina foliar es mediante medidas morfométricas simples, como la circularidad y la relación de aspecto. Estos índices son ampliamente utilizados en estudios de morfología foliar (Chitwood *et al.*, 2014; Chitwood, 2020), y están definidos

como: $Circularidad = [4\pi \times (\text{área}/\text{perímetro}^2)]$ y $AR = \text{eje mayor} / \text{menor}$ de una elipse ajustada a la lámina foliar). Los resultados de un análisis de morfología foliar basado en circularidad y relación AR realizado con 9,485 hojas provenientes de 1,213 accesiones de uva (*Vitis vinifera*) mostraron que el índice de circularidad ayuda a identificar diferentes morfotipos, cada uno diferenciado por el nivel de disección de la lámina (Figura 6).

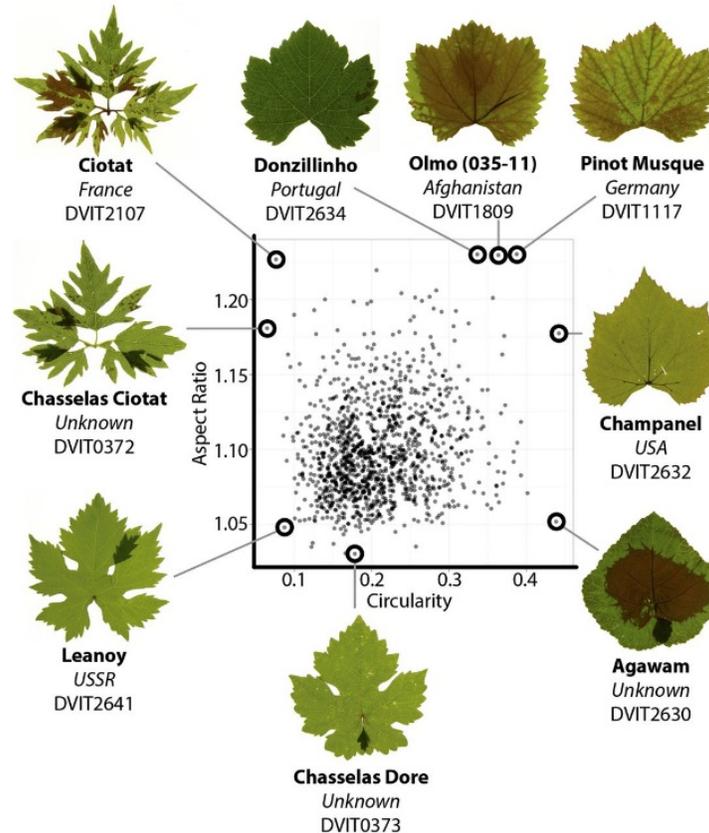


Figura 6. Circularidad y AR entre accesiones de uva (*Vitis vinifera*). Se muestran los valores promediados de AR y circularidad de 1,213 accesiones. Los valores altos de AR indican hojas con proporciones bajas de largo a ancho, y las hojas con baja circularidad tienen un aumento de lóbulos y dentados. (Tomado de Chitwood, 2014).

La morfometría en el estudio de la diversidad foliar

La biología comparada se encarga de estudiar las causas que podrían explicar las similitudes y diferencias entre los organismos, a través del reconocimiento de patrones en sus formas y otras características (Espinosa and Llorente, 1996; Vitek, 2018; Dehon *et al.*, 2019). Una de las herramientas que ha sido empleada en esta área para poder estudiar la diversidad de las características es la morfometría (Adams, Rohlf & Slice, 2004).

La morfometría es uno de los principales métodos para el estudio de la diversidad morfológica; fue adoptada primero en zoología y más recientemente en botánica. Este método usa aproximaciones multidimensionales que pueden ser visualizadas en lo que se conoce como morfoespacio y permite describir patrones de variación de forma dentro y entre grupos, así como la relación que tiene con otras variables (Adams, Rohlf & Slice, 2004).

Los análisis morfométricos pueden ser de dos tipos: los tradicionales o de morfometría lineal (en los que se emplean medidas de distancia lineal, proporciones y ángulos, así como medidas como circularidad y relación AR), y los de morfometría geométrica, que se basan en el establecimiento de puntos de referencia biológicamente definibles (landmarks) o puntos arbitrarios pero constantes (semi-landmarks) (Adams, Rohlf & Slice, 2004). Con base en las medidas tomadas, se realiza un mapa de coordenadas del que posteriormente se elimina la variación asociada al tamaño para concentrarse en la forma (Adams, Rohlf & Slice, 2004). Más recientemente, el uso de técnicas morfométricas en plantas se ha empleado para estudiar la forma en hojas (Chitwood & Otoni, 2017; Chuanromanee, Cohen & Ryan, 2019) y también en estructuras florales (Savriama, 2018; Smith & Kriebel, 2018).

La importancia de un enfoque macroevolutivo

Para abordar preguntas relacionadas a la evolución de caracteres es necesario contar con una filogenia (por ejemplo, para estimar el número o tasa de transiciones entre estados, o el estado ancestral de un carácter) (Cadotte and Davies, 2016). También, incorporar una perspectiva filogenética al abordar preguntas de corte ecológico o funcional es muy importante; por ejemplo, al preguntar si la forma de la hoja está correlacionada con otros atributos de la planta o del ambiente, es importante tomar en cuenta la filogenia porque las especies no son estadísticamente

independientes, sino que comparten una historia común, por lo que la similitud podría estar dada por homología y no por presiones selectivas similares (Felsenstein, 1985). Una perspectiva que incorpora la filogenia de forma explícita nos permite discernir si la presencia de un carácter se debe a su cercanía filogenética o a otros factores, por ejemplo, ambientales.

Señal filogenética

La señal filogenética es una métrica que nos indica la dependencia estadística de los caracteres debida a la filogenia (Revell, Harmon & Collar, 2008). Se ha planteado que la señal filogenética está relacionada con el proceso y tasa de evolución de los caracteres, ya que una tasa evolutiva alta necesariamente da como resultado una baja señal filogenética debido al gran cambio de un carácter incluso entre especies cercanamente relacionadas; por otro lado, una tasa evolutiva baja tiende a estar relacionada con una alta señal filogenética.

Actualmente, los métodos para estimar señal filogenética están mejor implementados para caracteres continuos (por ejemplo, la longitud del tallo, el diámetro de los conductos vasculares o el peso seco de una hoja) que para caracteres discretos. Entre las métricas más utilizadas para cuantificar la señal filogenética, destacan la K de Blomberg y la λ de Pagel (λ). Ambos índices asumen el modelo evolutivo de movimiento browniano (BM) en el cual se plantea que la evolución del carácter sigue un movimiento aleatorio a lo largo de las ramas de la filogenia (Blomberg, Garland & Ives, 2003; Revell, Harmon & Collar, 2008; Molina-Venegas & Rodríguez, 2017). En ambos casos, valores cercanos a 0 indican ausencia de señal filogenética, de tal forma que el carácter ha evolucionado independientemente de la filogenia, es decir, las relaciones filogenéticas no limitan la evolución del carácter, mientras que valores cercanos a 1 indican evolución del carácter bajo un modelo de BM, y por lo tanto, asociado al patrón establecido por la filogenia, en este caso podríamos observar que un mismo estado de carácter se encuentra agrupado en un clado.

Reconstrucción de estados ancestrales

La reconstrucción de estados ancestrales se usa para estimar el estado de un carácter en un nodo de la filogenia, el cual corresponde al ancestro común más reciente de un grupo. Este análisis se basa en la topología de la filogenia, el estado de carácter que presenta cada una de las terminales, y supuestos sobre el proceso evolutivo de los caracteres. Existen diferentes métodos para reconstruir estados ancestrales, que se agrupan en dos grandes categorías: por un lado, los análisis basados en parsimonia, los cuales minimizan el número de cambios entre estados de un carácter y dan como resultado el estado del carácter para cada nodo de la filogenia (Holland *et al.*, 2020). Por otro, los métodos de Máxima Verosimilitud utilizan modelos de evolución de caracteres, la distribución de los estados de carácter en las terminales, la tasa de evolución del carácter y la longitud de las ramas internodales para estimar las probabilidades de cada estado de carácter para cada nodo (lo cual implica evaluar todas las posibles reconstrucciones de estados de caracteres en cada nodo), por lo que suelen ser más demandantes computacionalmente pero arrojan probabilidades para cada estado en cada nodo (Cunningham, Omland & Oakley, 1998).

Mapeo estocástico de caracteres

El mapeo estocástico de caracteres es un método para caracteres discretos en el cual se infieren la evolución de un carácter a lo largo de las ramas de una filogenia (Freyman & Höhna, 2019). Con este método pueden estimarse el número de transiciones entre estados de un carácter, así como el tiempo que un carácter permanece en determinado estado, ya sea por unidad de tiempo o por rama, o en total a lo largo de la historia de un linaje. Este análisis permite muestrear las posibles historias de los caracteres en proporción a su probabilidad y con base en ello se pueden plantear hipótesis sobre la evolución de los caracteres (Nielsen, 2002; Revell, 2013).

METODOLOGÍA

Filogenia de *Ipomoea*

En la primera parte de este trabajo se infiere una filogenia con base en datos actualizados de ITS (ITS 1, 5.8s e ITS 2), a partir de secuencias proporcionadas por el Dr. Pablo Muñoz (U. de Oxford, Reino Unido). Además de incorporar secuencias de otras especies que no se encontraban en el trabajo de Muñoz y colaboradores (2019), la motivación para realizar nuevos análisis filogenéticos fue obtener un muestreo de árboles, ya que en los datos publicados sobre la filogenia de *Ipomoea* (Muñoz-Rodríguez *et al.*, 2019) únicamente se encontraba disponible un solo árbol, lo cual limita nuestra capacidad de incorporar la incertidumbre con respecto al proceso de inferencia en nuestros análisis evolutivos. Al inferir una filogenia utilizando un enfoque bayesiano es posible obtener una muestra de árboles, lo cual permite incorporar la incertidumbre en cuanto a la topología y longitudes de las ramas inferidas para *Ipomoea*.

El Dr. Pablo Muñoz (U. de Oxford, Reino Unido) nos proporcionó 507 secuencias consenso conformadas por las regiones ITS 1, 5.8s e ITS 2 para 507 especies, de las cuales 473 corresponden al género *Ipomoea* y 34 al grupo externo (Anexo 1). Las secuencias fueron alineadas dando lugar a una matriz de 1,017 pares de bases. El alineamiento se realizó usando directamente la matriz de nucleótidos, en la plataforma de MAFFT (Kato, Rozewicki & Yamada, 2017), con una penalización de 3 para la apertura de Gap, y fue visualizado y refinado a mano con el programa Mesquite v3.5 (Maddison & Maddison, 2011). Se presenta un diagnóstico del alineamiento utilizado en la Tabla 1.

Tabla 1. Diagnósticos de la matriz de datos utilizada para el análisis filogenético. PIC = Carácter Parsimoniosamente Informativo.

Matriz	n taxa	Número de caracteres	Caracteres constantes	Variable no PIC	PIC	Frecuencia No PICs	Frecuencia PICs
ITS <i>Ipomoea</i>	507	1017	453	113	428	0.446	0.111

Se realizó una estimación de la filogenia de *Ipomoea* con el enfoque de Máxima Verosimilitud implementado en el software IQtree (Hoang *et al.*, 2007) y usando el modelo

GTR+G para la matriz completa, este modelo fue obtenido mediante el criterio de Información de Akaike (AIC) en Mr. Modeltest 2.4 (Nylander, 2004). Los soportes de las ramas se calcularon a través de un análisis de Bootstrap ultra rápido (Ultrafast Bootstrap) (Hoang *et al.*, 2007), también en IQtree.

Para obtener un muestreo de árboles y poder incorporar incertidumbre filogenética en nuestros análisis, se realizaron dos análisis independientes bajo un enfoque bayesiano en Mr. Bayes v.3.2 (Ronquist *et al.*, 2012). En ambos análisis se emplearon los mismos parámetros (ver más adelante) y se usó como árbol de arranque la filogenia obtenida del análisis con Máxima Verosimilitud. El modelo de evolución molecular para la matriz completa se obtuvo con Mr. Model test 2.4 (GTR+G) y se estableció una temperatura de 0.05. El primer análisis corrió durante 143,235,000 generaciones y el segundo lo hizo durante 138,705,000 generaciones. Ambos análisis consistieron de cuatro cadenas de Markov (tres calientes y una fría) muestreando cada 5,000 generaciones. Del muestreo de ambos análisis se eliminaron los primeros 40 millones de generaciones como burnin (28 %, 29% respectivamente); este valor de burnin se determinó mediante la inspección visual de los valores de verosimilitud y tamaño efectivo de muestra (ESS) usando el software Tracer 1.5 (Drummond & Rambaut, 2015) (Anexo 2).

En total se obtuvieron 4 corridas independientes (dos corridas por cada análisis); los árboles muestreados de cada corrida se conjuntaron en un único archivo (80,780 árboles). En este muestreo *Ipomoea* no constituía un grupo monofilético, sin embargo, la monofilia de *Ipomoea* está ampliamente documentada por los análisis de Muñoz *et al.*, 2019 basados en 605 regiones nucleares de copia única que representan el genoma de *Ipomoea*; así como la filogenia construida con ITS 1, 2 y la región 5.8s. Con base en estos resultados y junto con los obtenidos de nuestra filogenia de ITS con Máxima Verosimilitud, en la que *Ipomoea* es un grupo monofilético (98% de soporte), decidimos condicionar nuestro muestreo del espacio de árboles a la monofilia de *Ipomoea*. Para ello, filtramos los árboles en los que *Ipomoea* constituye un clado (equivalente a condicionar el análisis a dicha condición), resultando un muestreo final de 58,636 árboles. A partir de este archivo se encontró un árbol de Mayor Credibilidad de Clados (MCCT) y se muestrearon 100 árboles al azar. A partir de estos 100 árboles muestreados al azar, el árbol de Mayor Credibilidad de Clados y el árbol de Máxima Verosimilitud se construyó un archivo final con 102 árboles.

Debido a que las filogenias obtenidas a partir de nuestro muestreo bayesiano contaban con longitud de rama basada en número de sustituciones, fue necesario transformarlas a filogenias ultramétricas, para esto usamos la función *chronos* de la biblioteca *phytools*. Para seleccionar el valor óptimo de *lambda* para suavizar las longitudes de rama, graficamos un gradiente en donde *lambda* tomó los valores de 0 a 1. (Anexo 3), esta grafica nos permitió seleccionar una *lambda* = 0, ya que fue el valor que obtuvo la mayor verosimilitud. Todas las filogenias se visualizaron utilizando FigTree v1.4.0 (Rambaut, 2010) y R (R core Development, 2021), y se anotaron usando una combinación de R e Inksape v. 1.1.2(Inksape Project 2020).

Banco de imágenes de *Ipomoea*

Con el objetivo de tener material para caracterizar y medir los caracteres de interés, se realizó una búsqueda de imágenes de ejemplares de herbario para cada especie de *Ipomoea* del clado NW, OW y para las 34 especies que conforman el grupo externo. El listado de especies para dicho clado se basó en la filogenia de ITS previamente publicada (Muñoz-Rodríguez *et al.*, 2019) y en la monografía "A foundation monograph of *Ipomoea* (Convolvulaceae) in the New World" (Wood *et al.*, 2020).

Se buscaron al menos tres imágenes para las 453 especies contenidas en la monografía y para 34 especies utilizadas como grupo externo. La búsqueda se realizó en las siguientes colecciones digitales de herbarios nacionales y extranjeros: Field Museum (F), Harvard University Herbaria (GH), Herbario Nacional. Instituto de Biología UNAM (MEXU), L'Herbier de Nouvelle-Calédonie (NOU), Muséum national d'Histoire naturelle (P), Naturalis Biodiversity Center: Nationaal Herbarium Nederland (L), New York Botanic Garden (NY), Royal Botanic Gardens Kew (UK), Swedish Museum of Natural History: Naturhistoriska riksmuseet (S), The Australasian Virtual Herbarium (AVH), United States National Herbarium: Smithsonian Institution (US), University & Jepson Herbaria, University of California. Berkeley (UC/JEPS), University of Michigan Herbarium (MICH).

Para considerar una imagen como adecuada, debía cumplir las siguientes características: contar con escala, presentar flor, el espécimen debía tener más de una hoja, y contar con al menos una hoja completa. En el caso de las especies que contaban con una gran cantidad de ejemplares, se seleccionaron ejemplares de distintas localidades. El banco de imágenes resultante cuenta con

1,450 imágenes para 376 especies presentes en la monografía en cuestión (Wood *et al.*, 2020) y 34 especies correspondientes al grupo externo.

Caracteres categóricos

Para cada una de las especies de *Ipomoea* que se encuentran en la monografía más reciente del género (Wood *et al.*, 2020) se evaluaron los siguientes seis caracteres categóricos: forma de la lámina, forma del ápice, forma de la base, tipo de margen, tipo de hoja (simple o compuesta) y si la hoja es peciolada o sésil. Los estados de carácter para cada rasgo evaluado se muestran en la Tabla 2, para una descripción detallada de cada estado de carácter ver Anexo 4. La codificación de los estados de carácter se hizo con base en la monografía de *Ipomoea* (Wood *et al.*, 2020), el Manual de Arquitectura Foliar (Ellis *et al.*, 2009) y la visualización del banco de imágenes. Debido a la amplia diversidad en la forma de la hoja en *Ipomoea* se realizó una segunda codificación (con menos estados de carácter) con la finalidad de disminuir sesgos en la asignación de estados de carácter y eficientar algunos de los análisis comparativos (Tabla 3).

Las especies que se encontraban representadas en el banco de imágenes, más las descripciones y dibujos con escala presentes en la monografía nos permitieron asignar estados de carácter a 435 especies de *Ipomoea* del clado NW y 27 del clado OW, que en total equivalen a 96% de las especies incluidas en la monografía de Wood *et al.* (2020); también se evaluaron estos mismos caracteres para las 34 especies del grupo externo.

Tabla 2. Caracteres y estados de carácter.

Forma de la lámina	Ápice	Base	Margen	Tipo de hoja	Pecíolo
Bilobada	Acuminado	Cordada	Dentado	Simple	Peciolada
Dividida	Agudo	Cuneada	Entero	Compuesta	Sésil
Lanceolada	Emarginado	Decurrente	Ondulado		Subsésil
Linear	Mucronado	Hastada			
Oblonga	Obtuso	Redondeada			
Obovada		Sagitada			
Ovada		Truncada			
Palmada		Unifoliolos			
Palmaticompuesta					
Pentalobada					
Pinnada					
Trilobada					

Tabla 3. Reagrupamiento de estados de carácter para la forma de la lámina.

Nueva codificación	Estado de carácter que incluye
Entera	Lanceolada Linear Oblonga Obovada Ovada
Lobada	Bilobada Pentalobada Trilobada
Dividida	Dividida Pinnada
Palmada	Palmada
Compuesta	Palmaticompuesta

Caracteres continuos

La gran diversidad de forma de la lámina en *Ipomoea* plantea retos para identificar puntos homólogos en las hojas, por lo que en este trabajo se optó por un análisis morfométrico lineal (y no un enfoque de morfometría geométrica), basado en medidas de área y perímetro foliares, tanto de forma directa como para calcular índices de forma. Se calcularon el índice de la relación área/perímetro (desde ahora índice AP) y la circularidad; ambas medidas son complementarias en cuanto a su utilidad para evaluar el nivel de disección de las láminas.

Para medir el área y el perímetro foliares, se realizó lo siguiente (el protocolo detallado se encuentra en el Anexo 5):

1. Utilizando el software ImageJ v.1.52 (Rasban, 2019), se seleccionó y recortó digitalmente una hoja para cada uno de los especímenes muestreados que conforman el banco de imágenes de *Ipomoea* (tres ejemplares por especie), conservando la escala para emplearla en mediciones posteriores. Dicha hoja tenía que ser la más grande y completa (sin daño en el contorno de la lámina) del espécimen analizado. Con todas las hojas recortadas digitalmente se realizó un segundo banco de imágenes (Figura 7).
2. Se tomó como referencia la escala de cada espécimen para medir el área y perímetro de todas las hojas del segundo banco de imágenes, ImageJ v.1.52 (Rasban, 2019).

Este trabajo incluye mediciones de área y perímetro foliares para 376 especies, que equivalen a 83% de las especies incluidas en la monografía de Wood *et al.* (2020), así como para 23 especies de las 34 correspondientes al grupo externo. Los datos correspondientes a área foliar y perímetro fueron transformados logarítmicamente y con estos nuevos valores se realizaron los análisis posteriores.

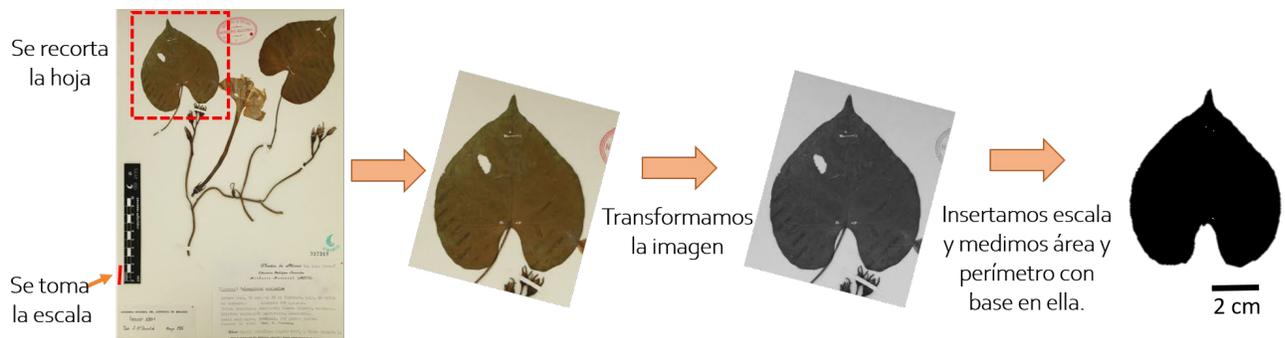


Figura 7. Procesamiento de imágenes para medir área y perímetro. De cada espécimen muestreado para cada especie se seleccionó y recortó una hoja, posteriormente se editó a un formato en el que se pudieran contabilizar el área determinada por píxeles negros. Imagen: BHH

El índice AP es el cociente de la medida del área entre el perímetro, por otro lado, la circularidad se calculó, usando la siguiente fórmula (Chitwood *et al.*, 2014).

$$circularidad = (4\pi) \left(\frac{area}{perimetro^2} \right)$$

Para cada espécimen se calculó el valor del índice AP y de circularidad, posteriormente se sacaron promedios por especie.

Evaluación del papel de la filogenia como moldeador de la diversidad foliar

Para evaluar si la diversidad foliar está restringida por la historia evolutiva se realizó un análisis de la señal filogenética para cada caracter, tanto para caracteres categóricos como caracteres continuos; en el caso de los datos de área foliar y perímetro se usaron los datos transformados logarítmicamente. Para este análisis se empleó un muestreo de 102 árboles en los cuales se incluían el árbol de Mayor Credibilidad de Clados y el árbol de Máxima Verosimilitud y 100

árboles provenientes de un muestreo post-brunin de dos análisis de Inferencia Bayesiana, todos ellos basados en los marcadores ITS1, ITS2 y región 5.8s. El conjunto de especies que se utilizó para los análisis de método comparativo cambió dependiendo de las especies para las que se tenían datos (Tabla 4) y que se encontraban en la matriz con la que se obtuvo el muestreo de árboles, por lo tanto, los árboles fueron podados de acuerdo a estos datos.

La señal filogenética de los caracteres categóricos y continuos se evaluó con el estadístico K de Bloomberg (Blomberg, Garland & Ives, 2003), usando la función *phylosig* de la biblioteca *phytools* v.0.7-70, con 10 simulaciones por cada árbol para un total de 102 árboles y se determinó el valor promedio de estas simulaciones, estos análisis fueron realizados en R v.4.0.0 (R Core Development, 2021).

Tabla 4. Número de especies con datos para cada carácter y que se encuentran en la filogenia.

Caracter	Número de especies con datos
Forma de la lámina	315
Ápice	312
Base	307
Margen	304
Hoja simple o compuesta	317
Pecíolo	317

Evaluación del origen de diferentes formas

Para evaluar el origen y evolución de distintas formas de la hoja de *Ipomoea* se realizó una reconstrucción de estados ancestrales y un mapeo estocástico de caracteres. Todos los análisis se realizaron en R v.4.0.0 (R Core Development, 2021).

Caracteres categóricos – La reconstrucción de estados ancestrales y la estimación de las transiciones entre estados de carácter se realizaron para cada carácter (Tabla 2) y la reagrupación de formas de la lámina (Tabla 3) con la función *make.simmap* de la biblioteca de R *phytools* (Paradis, Claude & Strimmer, 2004). Se implementaron análisis usando el modelo ER (equal

rates), ya que no se cuenta con información biológicamente relevante que sustente que las transiciones entre caracteres pueden ser diferentes. Se implementaron 10 simulaciones por cada árbol, para un muestreo de 102 árboles. Se muestra únicamente el mapeo estocástico y la reconstrucción de estados ancestrales correspondientes al árbol de Máxima Verosimilitud.

Caracteres continuos El mapeo estocástico de caracteres se realizó con los datos obtenidos de área foliar, perímetro, circularidad e índice AP, para lo cual se utilizó la función *contMap*, también de la biblioteca *phytools* (Paradis, Claude & Strimmer, 2004), y usando el método *fastAnc*, con 100 simulaciones por cada árbol, para un muestreo de 102 árboles. Únicamente se muestra el mapeo de caracteres continuos para el árbol de Máxima Verosimilitud.

RESULTADOS

Filogenia actualizada de *Ipomoea*.

Se presentan dos estimados de la filogenia de *Ipomoea* inferidos con base en las secuencias de ITS proporcionadas por Muñoz (Figura 8). La primera fue resultado de un análisis de Máxima Verosimilitud y constituye el mejor estimado puntual de las relaciones filogenéticas de *Ipomoea*, las cuales se presentan con mayor detalle en el Anexo 6. La segunda es el árbol con Mayor Credibilidad de Clados (MCCT), derivado de los análisis de Inferencia Bayesiana. Tanto en el árbol de Máxima Verosimilitud como el MCCT se recuperan los clados principales propuestos por Muñoz *et al.* 2019 (Figura 5). Sin embargo, existen algunas diferencias topológicas entre nuestros resultados y los de Muñoz *et al.* (2019).

Una de las diferencias más notorias es la monofila del clado OW (especies correspondientes al Viejo Mundo). En la filogenia publicada por Muñoz y colaboradores (2019) el clado OW es monofilético, mientras que en la filogenia de Máxima Verosimilitud y MCCT de este trabajo las especies correspondientes al clado OW se encuentran en los clados 13 y 14 (Figuras 8, Anexo 6). En nuestras filogenias, el clado 12 es el grupo hermano al clado de las especies del Nuevo Mundo (NW), mientras que, en la filogenia de Muñoz *et al.*, (2019) este clado es el grupo hermano únicamente del clado OW (Figuras 8, Anexo 6). Otra diferencia importante concierne al clado B2 de la filogenia de Muñoz *et al.*, 2019; en las filogenias obtenidas en este trabajo, las especies del clado B2 están distribuidas en el clado 7 y 8, por lo que no forman un grupo monofilético (Figura 8, Anexo 6).

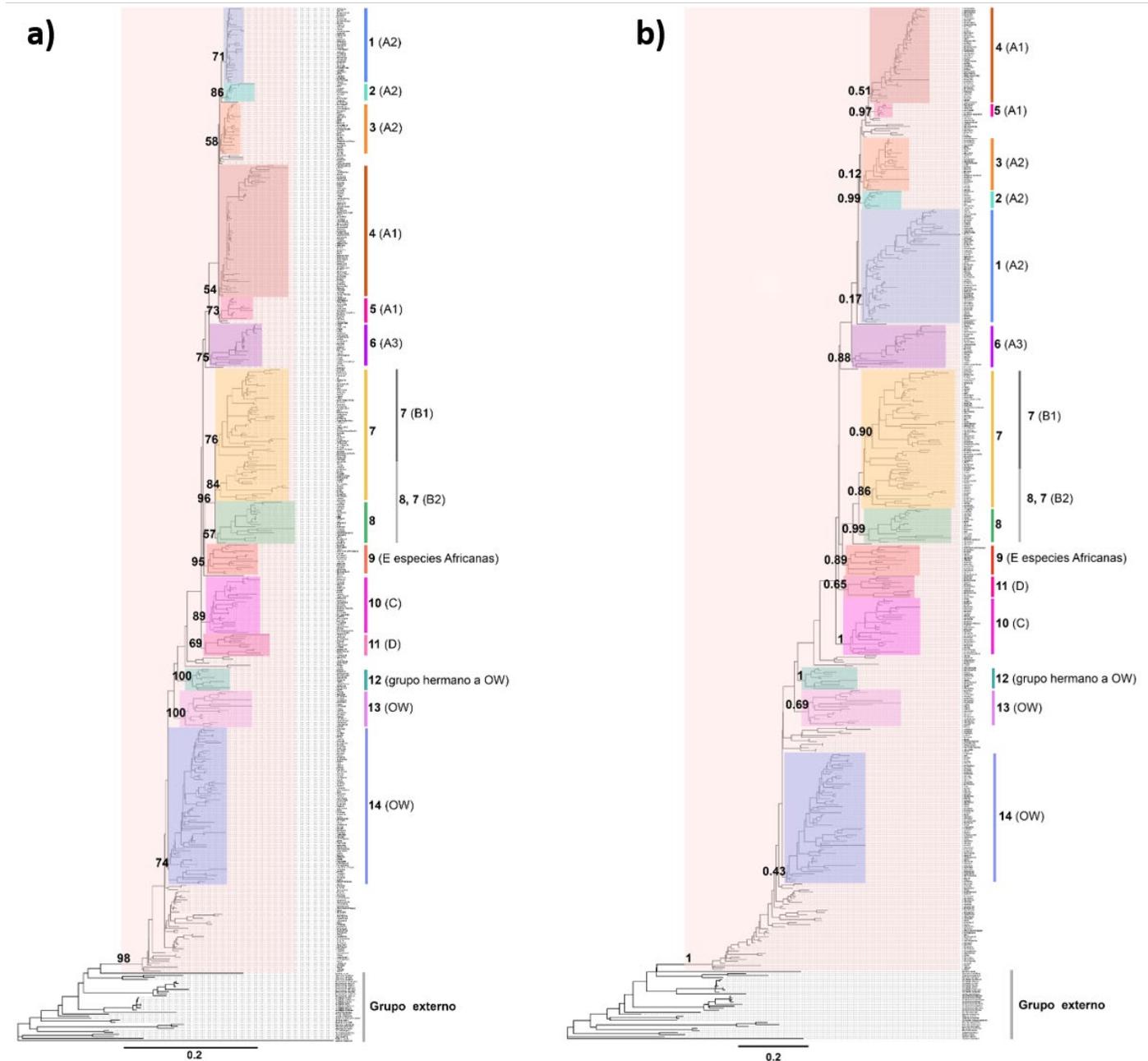


Figura 8. Filogenias inferidas en este trabajo (Brenda Hernández Hernández). A la izquierda se muestra la filogenia obtenida con Máxima Verosimilitud mediante el programa de IQtree (Nguyen & Von Haeseler, 2013), con el modelo GTR+G. A la derecha, la filogenia de Mayor Credibilidad de Clados (MCCT) obtenida de una muestra de 58,636 árboles (filtrados bajo la condición de monofilia en *Ipomoea*) obtenidos con Inferencia Bayesiana con el programa Mr. Bayes bajo el modelo de GTR+G. Únicamente se muestran los valores de Bootstrap y probabilidad posterior de los clados principales que son consistentes con los propuestos por Muñoz y colaboradores.

Caracterización de la diversidad foliar de *Ipomoea* en un contexto filogenético (con énfasis en el clado NW).

Evaluación de señal filogenética para caracteres continuos

En *Ipomoea*, tanto el perímetro como el área foliar y las relaciones área/perímetro y circularidad, son altamente variables entre especies (Tabla 5; Figura 9).

Al analizar estos caracteres en un contexto filogenético, los análisis de señal filogenética resultan en valores de K de Blomberg bastante bajos, indicando que estos caracteres son bastante lábiles. Esto sugiere que la filogenia no juega un papel preponderante como moldeador de la diversidad del área, perímetro, índice AP y circularidad foliares en *Ipomoea* (Tabla 6, Figura 10 a, b, c, d).

Tabla 5. Medidas de tendencia central y dispersión para área, perímetro, índice AP y circularidad.

	área	perímetro	índice AP	circularidad
mediana	18.468	21.84	0.86	0.552
media	28.053	26.4	0.92	0.487
min	0.363	4.19	0.036	0.006
max	175.266	146.42	3.126	0.834
sd	13.311	7.35	0.252	0.073

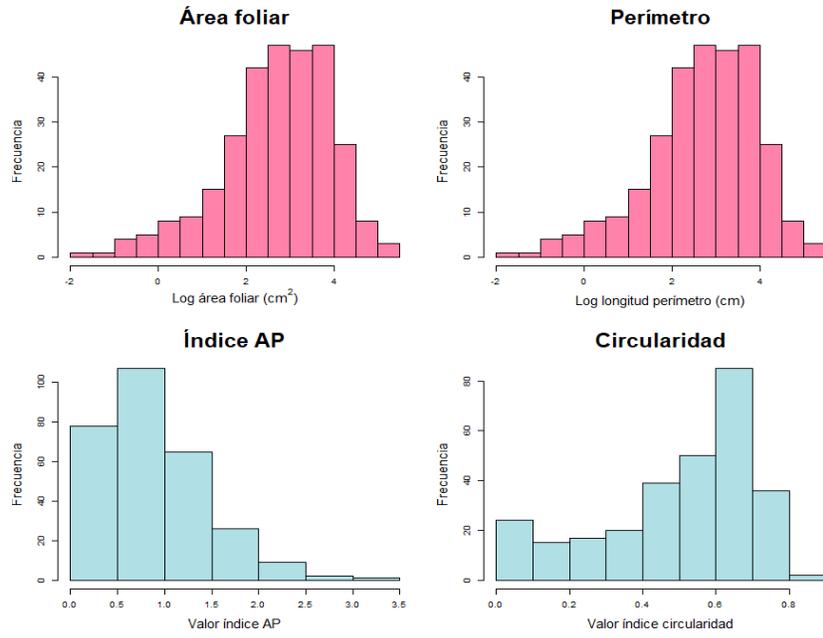


Figura 9. Distribución de frecuencias de las medidas en los caracteres continuos.

Tabla 6. Señal filogenética en caracteres foliares continuos. El análisis se realizó en 102 árboles con 10 iteraciones en cada uno. Se muestran los valores promedio de señal filogenética.

Caracter	Valor promedio de K	Evidencia de señal filogenética
Área	0.0377	no
Perímetro	0.0024	no
Índice AP	0.0127	no
Circularidad	0.0024	no

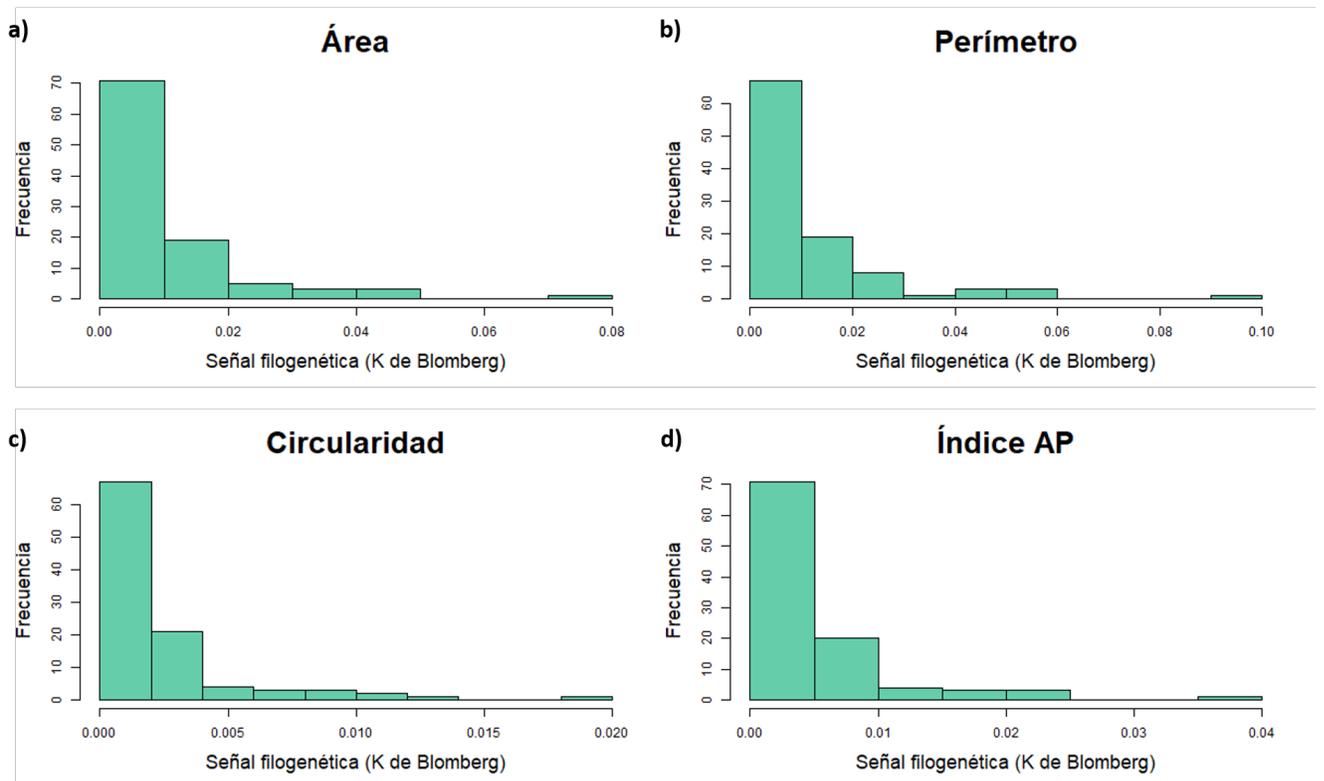


Figura 10. Distribución de los valores de señal filogenética (K de Blomberg) en caracteres continuos $n=102$ árboles.

Evaluación de señal filogenética para caracteres categóricos

Los análisis de señal filogenética para los caracteres categóricos nos sugieren que, al igual que los caracteres continuos, su evolución no está moldeada por la historia evolutiva de las especies en el clado de *Ipomoea* (Tabla 7, Figura 11).

Tabla 7. Señal filogenética en caracteres foliares categóricos. El análisis consistió de 10 iteraciones en cada uno de los 102 árboles. Se muestran los valores promedio de señal filogenética.

Caracter	Valor promedio de <i>K</i>	Evidencia de señal filogenética
Forma hoja	0.0048	no
Forma hoja (nueva categorización)	0.0056	no
Ápice	0.0031	no
Base	0.0048	no
Margen	0.0030	no
Hoja (simple/compuesta)	0.0207	no
Pecíolo	0.0026	no

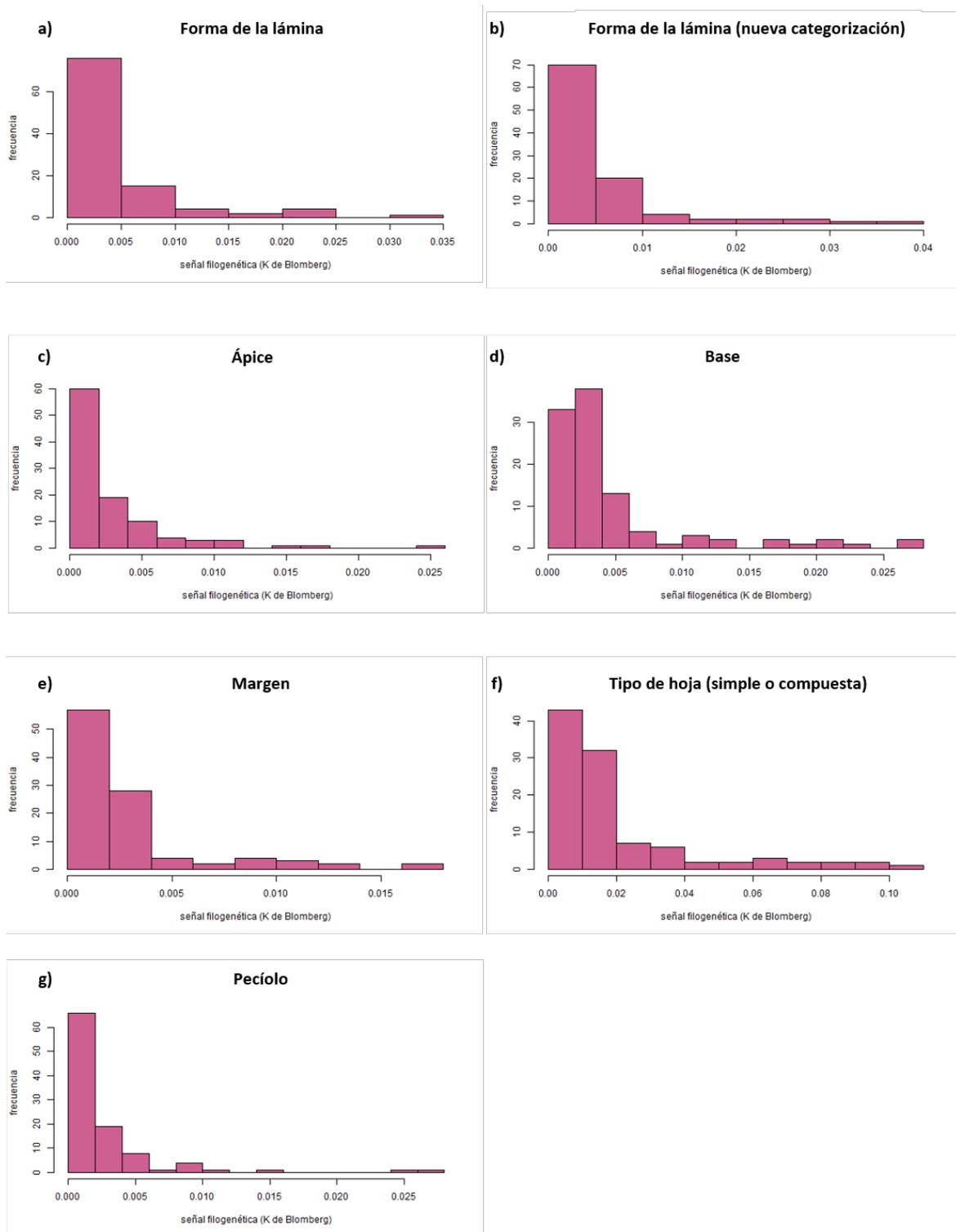


Figura 11. Distribución de los valores de señal filogenética (K de Blomberg) en caracteres categóricos, n=102 (100 árboles post-burnin de dos análisis Bayesianos muestreados al azar, el MCCT de dicho análisis, y el árbol de Máxima Verosimilitud).

Origen y evolución de distintas formas de la hoja en *Ipomoea* (con énfasis en el clado NW)

Reconstrucción de estados ancestrales y transiciones para caracteres continuos (área, perímetro, índice AP y circularidad)

La reconstrucción de estados ancestrales mostró que especies con una medida similar de área foliar no se encuentran agrupadas por clados, lo cual es consistente con valores bajos de señal filogenética. Por ejemplo, las especies con hojas de un área foliar grande aparecen en clados diferentes (Figura 12). Además, es posible observar un patrón que muestra que las áreas foliares pequeñas se encuentran principalmente en los nodos y que las áreas foliares mayores están distribuidas hacia las puntas de la filogenia (Figura 12).

El perímetro de las hojas del clado NW de *Ipomoea* varía entre 4 cm y 146 cm (Tabla 5). De forma similar al área foliar, no se observa que clados de *Ipomoea* estén caracterizados por perímetros particulares, lo cual concuerda con la baja señal filogenética observada para este carácter (Tabla 6). Se puede observar un patrón que muestra que hojas con perímetros pequeños dan lugar a hojas con perímetros de 50 cm aproximadamente y una vez que se supera esa longitud no hay cambios hacia perímetros menores (Figura 13).

Tanto el índice AP (propuesto en este proyecto) como la circularidad son buenos indicadores del nivel de disección de la lámina. Cuanto menor es el valor que estos índices adoptan, mayor es el grado de división, por ejemplo, la lámina de *Ipomoea quamoclit* es altamente dividida y tiene un índice AP y de circularidad con valores bajos (AP = 0.04, circularidad = 0.006; Figura 16 y 17, clado 8). Los resultados revelan que cuando una lámina tiene un valor bajo de circularidad o de índice AP es poco común que cambie a hojas con un índice más alto, es decir, hojas muy divididas cambian con poca frecuencia hacia hojas poco divididas o enteras (Figura 14 y 15).

Área foliar

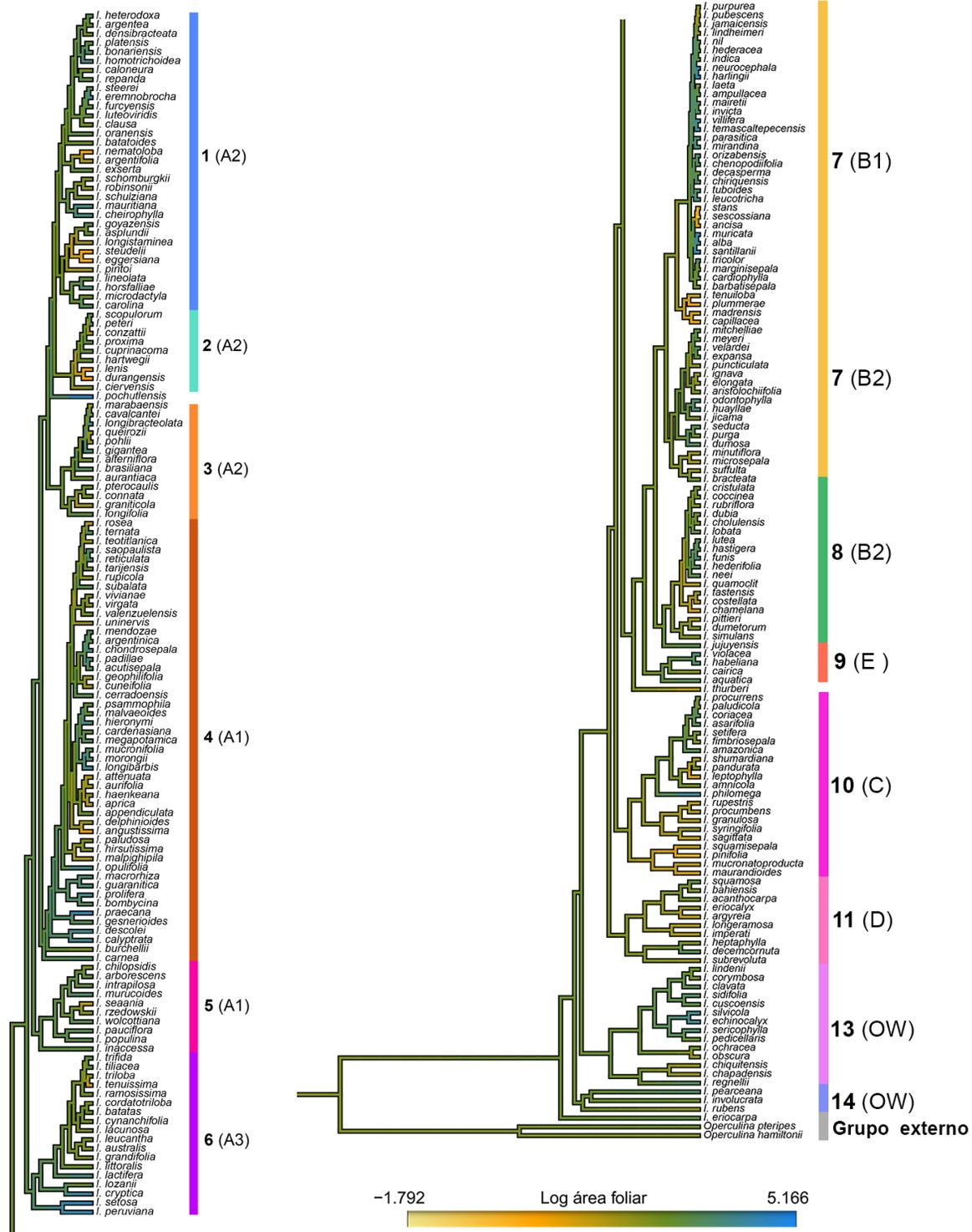


Figura 12 (p.1, 2). Mapeo del área foliar en la filogenia de ITS obtenida de análisis de Máxima Verosimilitud en este trabajo. El gradiente de color representa los valores del carácter a lo largo de las ramas. Este análisis se realizó con la función *contMap* de la biblioteca de *phytools* v. 0.7-70 en R v.4.0.0.

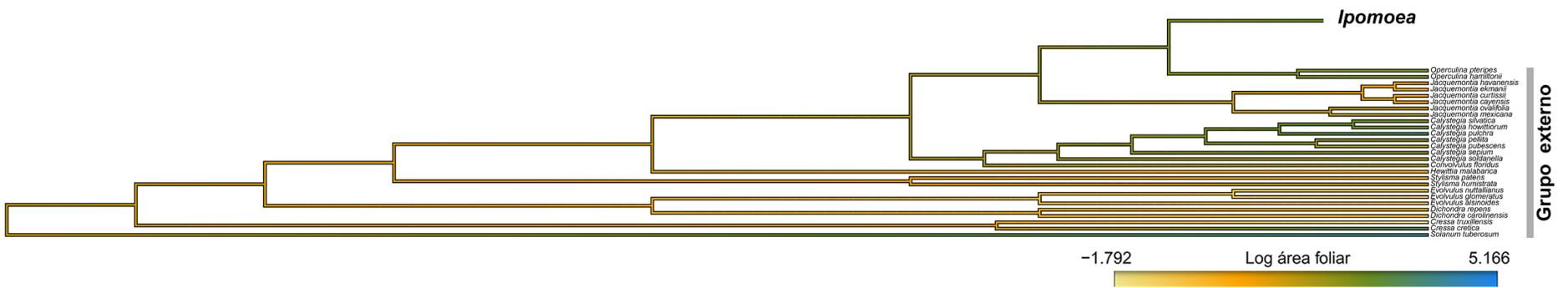


Figura 12 (p.3). Mapeo del área foliar en la filogenia de ITS obtenida de análisis de Máxima Verosimilitud en este trabajo. El gradiente de color representa los valores del carácter a lo largo de las ramas. Este análisis se realizó con la función *contMap* de la biblioteca de *phytools* v. 0.7-70 en R v.4.0.0.

Perímetro

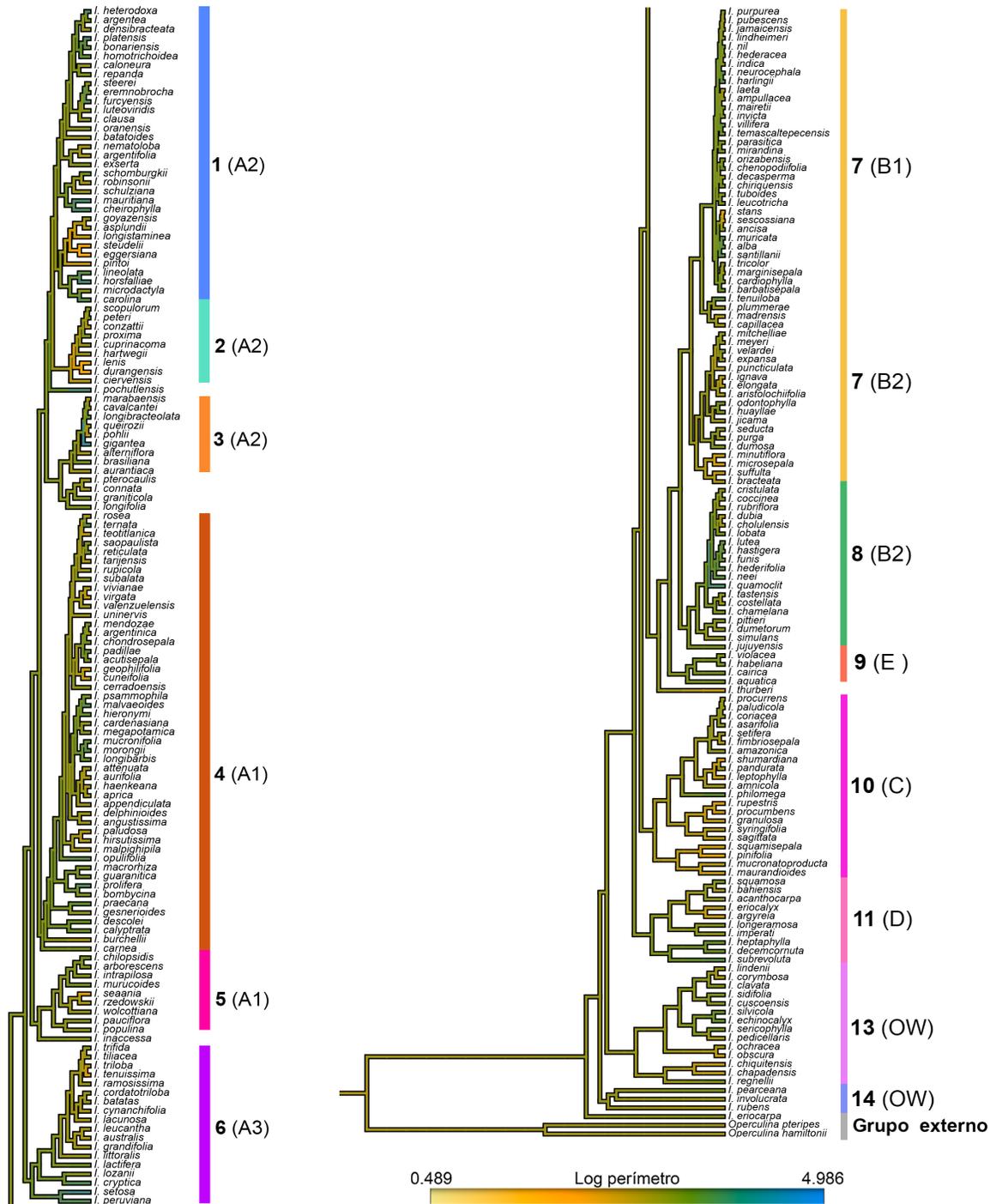


Figura 13 (p.1, 2). Mapeo del perímetro foliar en la filogenia de ITS obtenida de análisis de Máxima Verosimilitud en este trabajo. El gradiente de color representa los valores del carácter a lo largo de las ramas. Este análisis se realizó con la función *contMap* de la biblioteca de *phytools* v. 0.7-70 en R v.4.0.0.

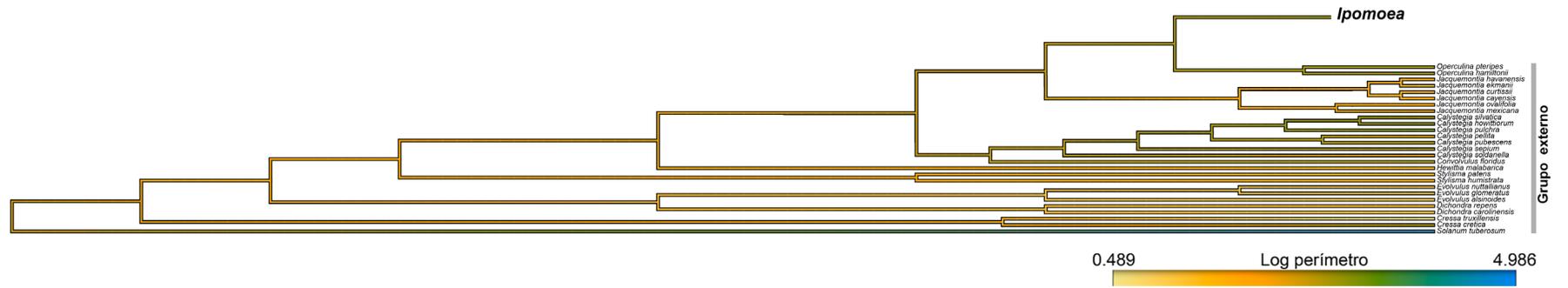


Figura 13 (p.3). Mapeo del perímetro foliar en la filogenia de ITS obtenida de análisis de Máxima Verosimilitud en este trabajo. El gradiente de color representa los valores del carácter a lo largo de las ramas. Este análisis se realizó con la función *contMap* de la biblioteca de *phytools* v. 0.7-70 en R v.4.0.0.

Circularidad.

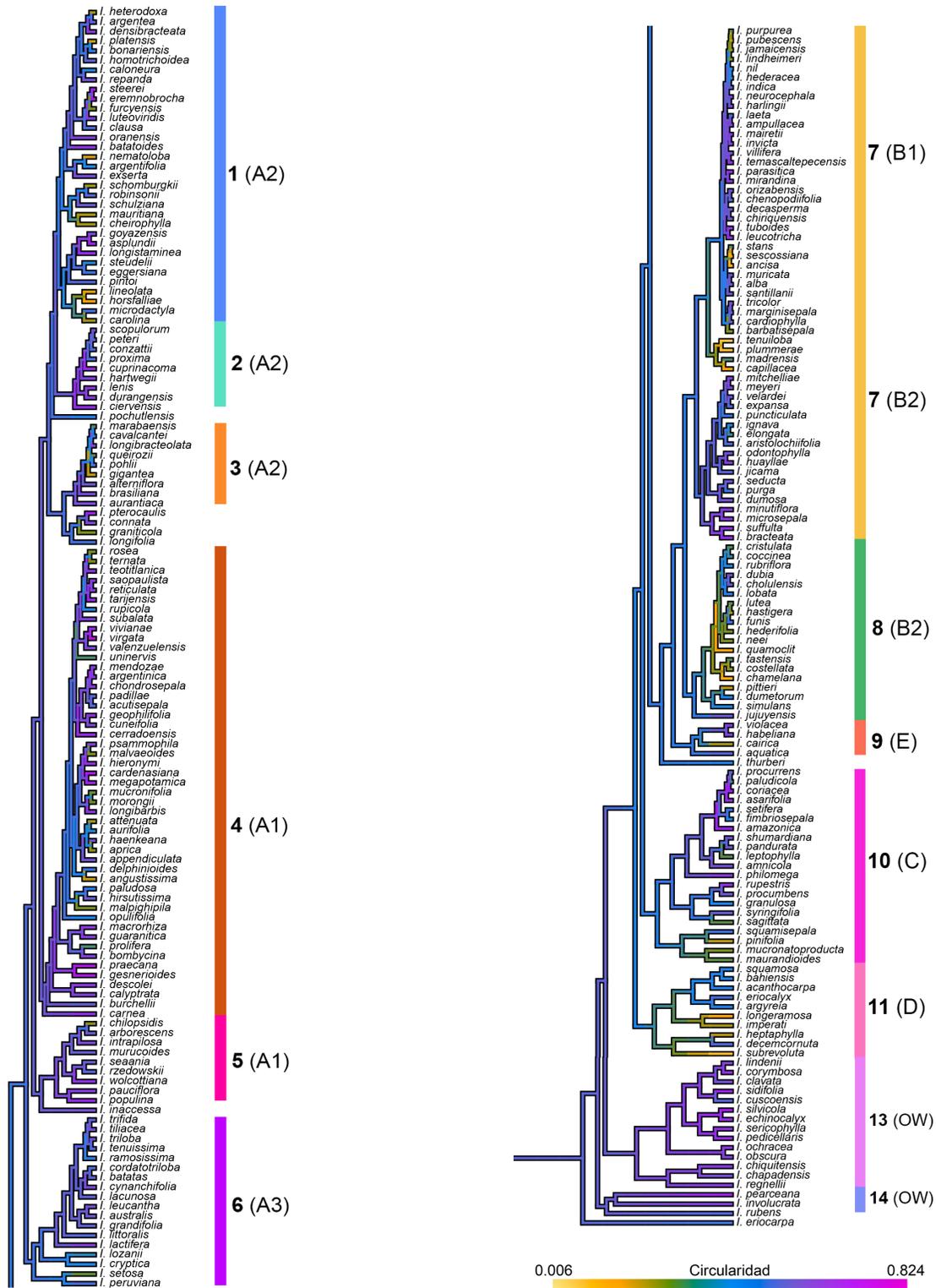


Figura 14 (p.1, 2). Mapeo de circularidad en la filogenia de ITS obtenida de análisis de Máxima Verosimilitud en este trabajo. El gradiente de color representa los valores del carácter a lo largo de las ramas. Este análisis se realizó con la función *contMap* de la biblioteca de *phytools* v. 0.7-70 en R v.4.0.0.

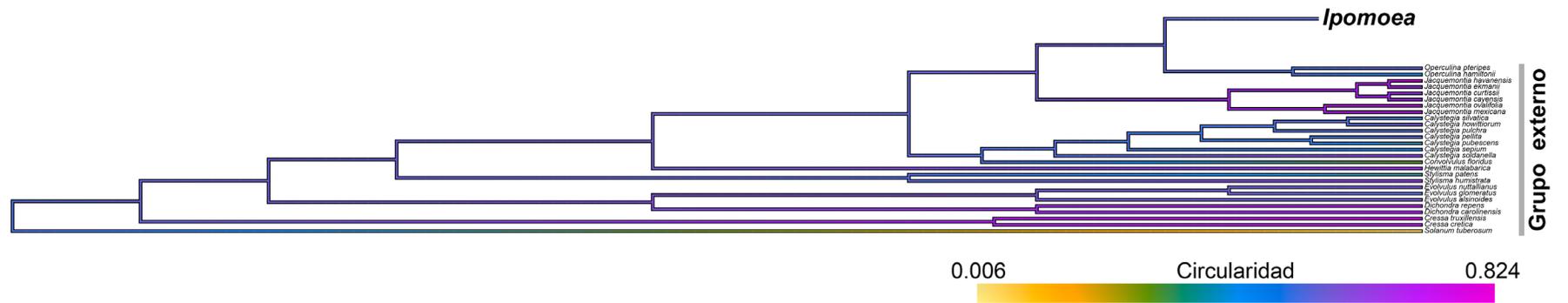


Figura 14 (p.3). Mapeo de circularidad en la filogenia de ITS obtenida de análisis de Máxima Verosimilitud en este trabajo. El gradiente de color representa los valores del carácter a lo largo de las ramas. Este análisis se realizó con la función *contMap* de la biblioteca de *phytools* v. 0.7-70 en R v.4.0.0

Índice AP

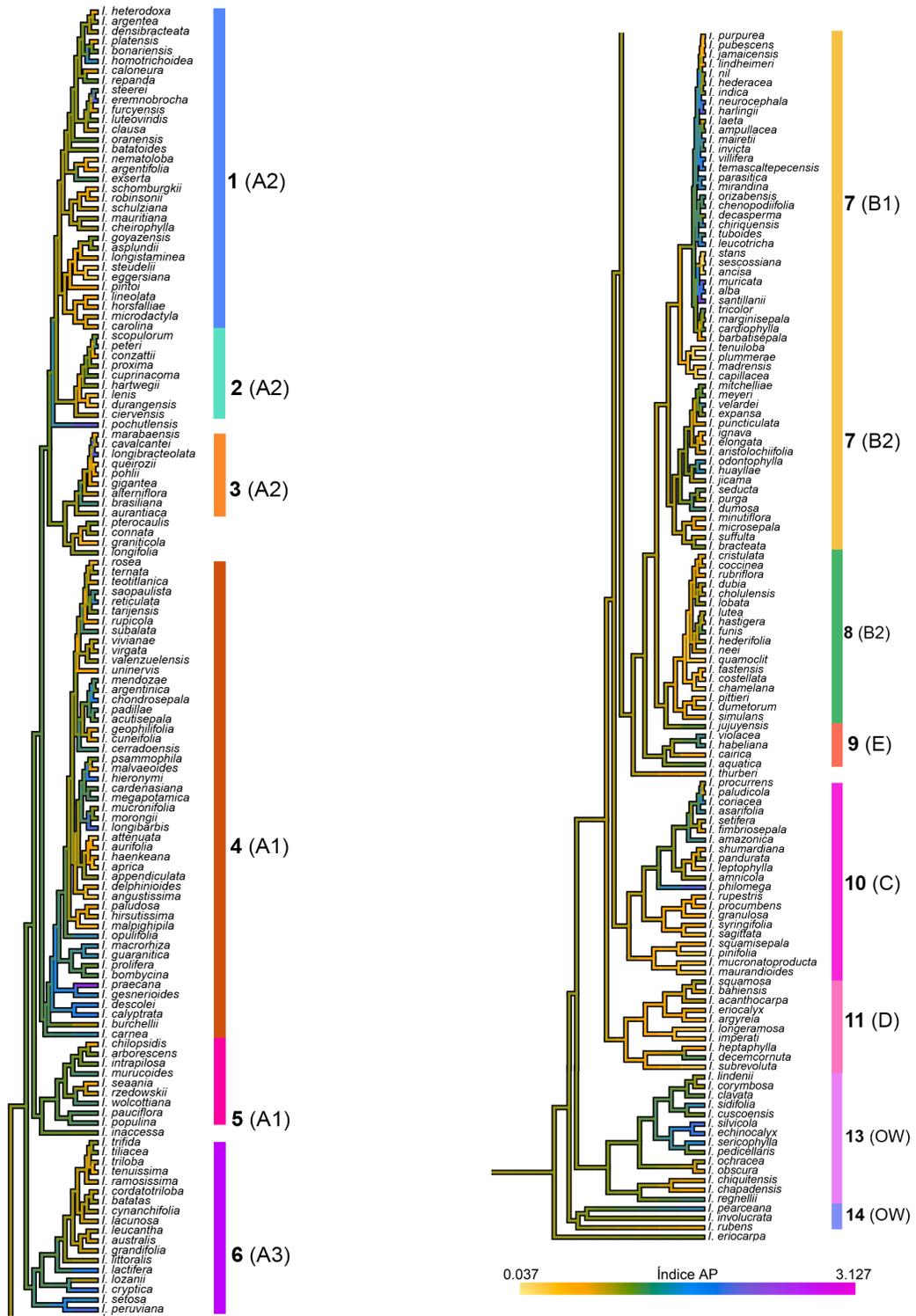


Figura 15 (p.1, 2). Mapeo del índice AP en la filogenia de ITS obtenida de análisis de Máxima Verosimilitud en este trabajo. El gradiente de color representa los valores del carácter a lo largo de las ramas. Este análisis se realizó con la función *contMap* de la biblioteca de *phytools* v. 0.7-70 en R v.4.0.0.

Reconstrucción de estados ancestrales y transiciones para caracteres categóricos (ápice, base, margen, forma de la lámina, tipo de hoja y pecíolo)

Debido a que en algunos casos no fue posible obtener información para cierto carácter, ni de las descripciones ni de las imágenes disponibles, el número de especies que tienen datos es distinto para cada carácter (Tabla 8). En general la mayoría de las hojas en el clado NW de *Ipomoea* poseen hojas cordadas, con márgenes enteros, ápices agudos, pecioladas, y las formas dividida y pinnada son las menos comunes.

Los análisis de reconstrucción de estados ancestrales y de mapeo estocástico de caracteres muestran que la forma de la lámina, ápice, base, margen, pecíolo y si es hoja simple o compuesta, no son caracteres que se agrupen por clados según su estado de carácter; es decir, un mismo estado de carácter puede presentarse a lo largo de la filogenia (Figuras 16-22), lo cual concuerda con una señal filogenética baja (Tabla 7).

La forma ovada es el estado de carácter de mayor frecuencia (53% de las especies de *Ipomoea* la presentan). El análisis de tasa de transiciones de forma de la lámina muestra que la transición con la frecuencia más alta se da de la forma ovada a la trilobada (Tabla 9, Figura 23). Adicionalmente, la forma ovada es el estado de carácter del cual hay más transiciones directas (en un solo paso) hacia estados de carácter distintos, las transiciones que implican el paso de ovado a cualquier otro estado de carácter, tienen una frecuencia promedio de más del doble que las transiciones que implican una ganancia de ese estado (Tabla 9, Figuras 18 y 19).

La nueva categorización de la forma de la lámina en la cual se agrupan las formas en cinco nuevas categorías, permitió identificar pequeños clados de especies con un nivel de división similar, sin embargo, no todas las especies con esa categoría se encuentran en el mismo clado o en clados cercanamente relacionados. Este resultado es consistente con el análisis de señal filogenética (Tabla 7). El mapeo estocástico de caracteres para esta nueva categorización, tampoco un patrón en la secuencia de transiciones de la forma de la lámina. Aunque si podemos observar que las hojas enteras pueden dar lugar a las otras formas (Figura 17).

En el caso del carácter ápice los cambios entre estados de carácter tienen tasas de transición similares y los cambios de estado de carácter pueden presentarse en todas direcciones, es

decir, de un estado de carácter puede transicionar a otro sin necesidad de pasar por estados intermedios (Tabla 11, Figura 19). Algo similar ocurre con el carácter forma de la base, se observa que en la mayoría de los nodos la probabilidad más alta es para el estado de carácter cordado y existen muchas transiciones hacia las puntas (Tabla 12; Figura 20).

La presencia de las mismas formas de la base en diferentes clados corresponde a homoplasias, lo cual es consistente con el bajo valor de K en el análisis de señal filogenética de ambos caracteres (Tabla 7). La matriz de transiciones promedio de la base nos muestra que las transiciones que ocurren con mayor frecuencia son de la forma cordada al resto de los estados de carácter, siendo las transiciones: cordada → cuneada y cordada → truncada las que cuentan con los promedios más altos (29.8 y 24.7, respectivamente;). La transición con menor frecuencia es unionfoliolos → redondeada y decurrente → unionfoliolos (8.3 transiciones promedio en ambos casos) (Tabla 12).

Con respecto al margen, la transición más frecuente es de entero → ondulado (43.7 transiciones promedio), por otro lado, la transición con menor frecuencia es dentado → ondulado (18.4 transiciones promedio). Tanto el valor de señal filogenética ($K=0.0030$) como el mapeo estocástico de caracteres muestran que el margen no está limitado por las relaciones filogenéticas (Tabla 13, Figura 21) y en general el margen entero es el predominante en el género *Ipomoea*.

La reconstrucción de estados ancestrales y el mapeo estocástico de caracteres del pecíolo mostraron que todas las especies con hojas compuestas son pecioladas, y existen casos en donde el ancestro no presenta pecíolo, pero la especie que diverge de ese nodo sí cuenta con él (Figura 22, clado 10). En el caso de tipo de hoja, los análisis mostraron que existe una única transición en el clado de *Ipomoea* del estado de carácter “hoja compuesta” al estado de carácter “hoja simple” (Figura 22, clado 11). En su mayoría los cambios son de hoja simple a hoja compuesta.

La reconstrucción de estados ancestrales para los diferentes caracteres sugiere que la hoja ancestral del género *Ipomoea* tenía forma ovada, con ápice acuminado, margen entero, base cordada y era peciolada (Figuras 16-22, 24).

Tabla 8. Frecuencia de los estados de carácter en el clado NW de *Ipomoea*.

Forma de la lámina n=449	%	Ápice n=375	%	Base n=463	%	Margen n=417	%	Peciolada n=447	%	Simple o compuesta n=448	%
bilobada	0.66	acuminado	45.86	cordada	50.32	dentado	3.83	peciolada	93.73	compuesta	3.34
dividida	1.33	agudo	39.20	cuneada	19.65	entero	85.13	sésil	1.56	simple	96.65
lanceolada	7.57	emarginado	2.93	decurrente	2.59	ondulado	11.03	subsésil	4.69		
linear	2.89	mucronado	2.66	hastada	3.02						
oblonga	9.79	obtuso	9.33	redondeada	3.23						
obovada	1.33			sagitada	4.10						
ovada	53			truncada	14.25						
palmada	4.23			unionfoliolos	2.80						
palmaticompuesta	3.56										
pentalobada	2										
pinnada	0.66										
trilobada	12.91										

Tabla 9. Matriz de transiciones de la forma de la lámina. Promedios obtenidos a partir de 10 simulaciones por árbol (n=102 árboles).

	bilobada	dividida	lanceolada	linear	oblonga	obovada	ovada	palmada	palmaticompuesta	pentalobada	pinnada	trilobada
bilobada		4.6	4	4.5	4.6	3.9	5.5	4.1	3.5	4.2	3.3	3.9
dividida	3.6		4.5	4.7	3.7	3.3	6.1	4.8	4.5	3.3	4.7	4.6
lanceolada	3.1	3.3		4.3	6.3	4.3	5.8	4	4.9	3.9	4.4	3.9
linear	4.6	2.8	4.2		4.4	4.4	5.3	4.2	4.1	3.8	3.9	3.1
oblonga	4.1	5.3	6.4	5.3		4.2	6.4	3.8	4.3	3.6	4.7	2.8
obovada	4	4.1	4.3	4.6	5.1		5.4	4.2	3.6	2.8	2.2	6.4
ovada	6.4	7.8	19.2	8.9	14.2	9.5		9	11	7.5	6.3	27.3
palmada	3.2	4.2	5.5	4.3	4.8	3.6	7.6		3.8	2.4	3.5	5
palmaticompuesta	4.4	3.9	6.3	3	6.1	4	6.2	3.5		4.2	3.3	4
pentalobada	3.9	3.3	4.8	4.1	5.4	3.2	4.5	3.6	3.6		4.2	5.6
pinada	3.5	3.8	3.9	3.1	6	4.1	5.9	4.4	4.2	4.2		4.9
trilobada	3.2	5	7.6	3.8	6.5	3.4	11.1	3.4	5.3	5.6	4.6	

Tabla 10. Matriz de transiciones de la forma de la lámina (nueva categorización). Promedios obtenidos a partir de 10 simulaciones por árbol (n=102 árboles).

	dividida	entera	lobada	palmada	palmaticompuesta
dividida		14.3	10.1	10.3	10.3
entera	14.5		38.9	17.3	19.7
lobada	9.7	19.7		9.6	11.1
palmada	9.5	16.6	8.8		10.7
palmaticompuesta	10.9	16.4	13.8	9.3	

Tabla 11. Matriz de transiciones promedio del ápice. Promedios obtenidos a partir de 10 simulaciones por árbol (n=102 árboles).

	acuminado	agudo	emarginado	mucronado	obtusos
acuminado		97.5	75.6	71.7	83.3
agudo	88.9		66.8	75	86.3
emarginado	76.4	77.1		65.7	73.2
mucronado	72.6	77.4	67.2		76.8
obtusos	84.9	92.1	71.6	68.8	

Tabla 12. Matriz de transiciones promedio de la base. Promedios obtenidos a partir de 10 simulaciones por árbol (n=102 árboles).

	cordada	cuneada	decurrente	hastada	redondeada	sagitada	truncada	unionfoliolos
cordada		29.8	13.6	18.5	12.6	18.5	24.7	13.7
cuneada	18.5		12	11.3	9.9	11	15.3	9.6
decurrente	9.5	11.6		11.1	10.8	9.5	10	8.3
hastada	12.6	12.1	10.5		12	9.5	11.1	10.5
redondeada	10.9	9.8	9.8	10.6		10.5	9.7	11.1
sagitada	11.1	11.9	9.2	10.6	11		8.6	9.6
truncada	15.8	12.9	9.2	10.2	10.5	9.4		8.9
unionfoliolos	12.9	13.1	7.7	9.7	8.3	9.7	8.8	

Tabla 13. Matriz de transiciones de la forma del margen. Promedios obtenidos a partir de 10 simulaciones por árbol en una muestra de 102 árboles, usando la función *make.simmap* de la biblioteca *Phytools* v0.24 en R

	dentado	entero	ondulado
dentado		26.9	18.4
entero	29.3		43.7
ondulado	19.1	28	

Tabla 14. Matriz de transiciones de la presencia de peciolo. Promedios obtenidos a partir de 10 simulaciones por árbol (n=102 árboles).

	peciolada	sésil	subsésil
peciolada		7.4	11.1
sésil	2.7		0.9
subsésil	1.5	1.2	

Tabla 15. Matriz de transiciones de tipo de hoja. Promedios obtenidos a partir de 10 simulaciones por árbol (n=102 árboles).

	compuesta	simple
compuesta		6
simple	12.3	

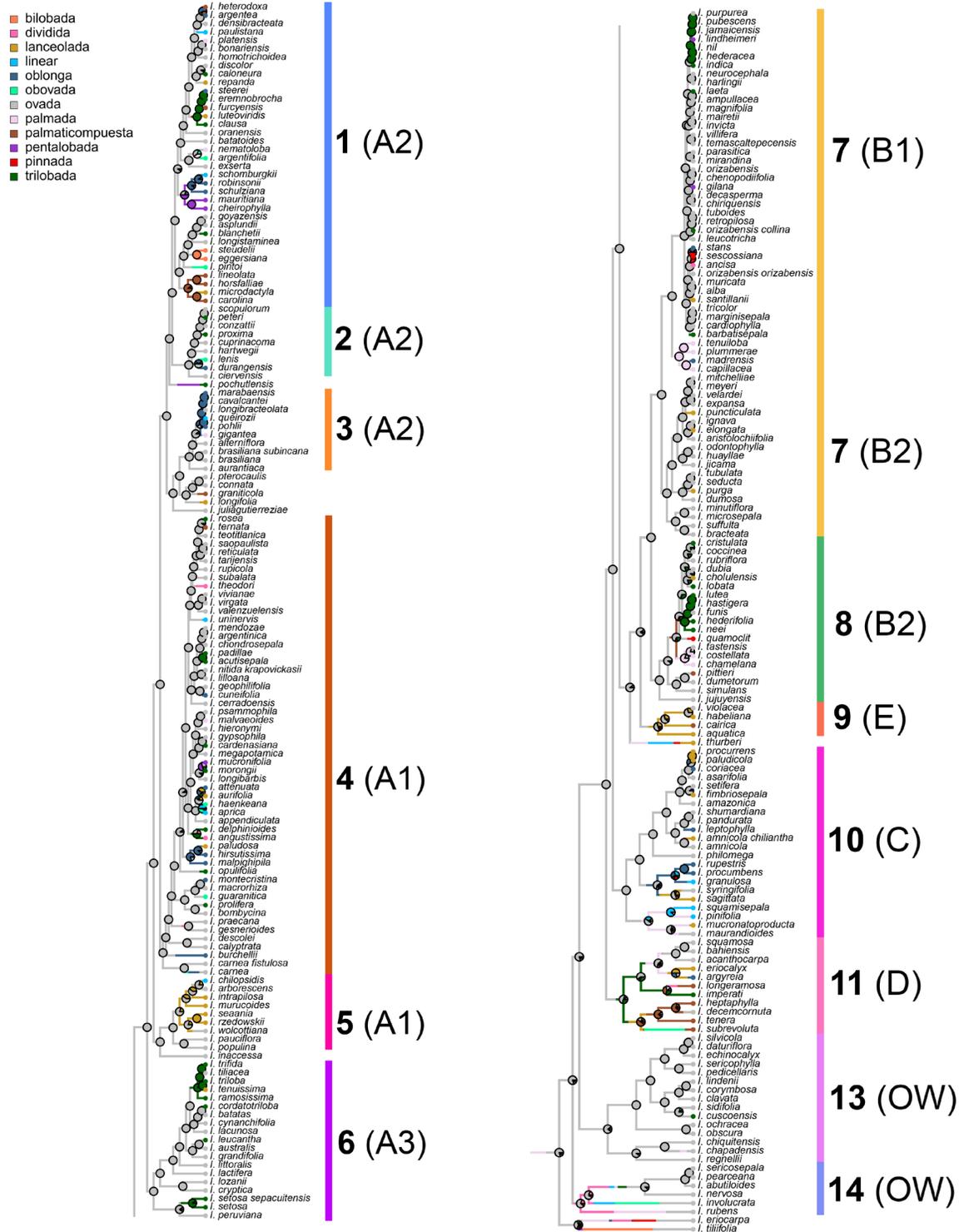


Figura 16 (p.1, 2). Reconstrucción de estados ancestrales y mapeo estocástico para la forma de la lámina. Se ilustra una historia de la evolución del carácter en la filogenia de Máxima Verosimilitud inferida en este estudio (mapeo estocástico; función *make.simmap* de la biblioteca *Phytools* v0.2-4 en R). Las gráficas de pastel en cada nodo ilustran el promedio de la probabilidad de cada estado de carácter en cada nodo obtenido a partir de 10 simulaciones realizadas sobre la filogenia de Máxima Verosimilitud.

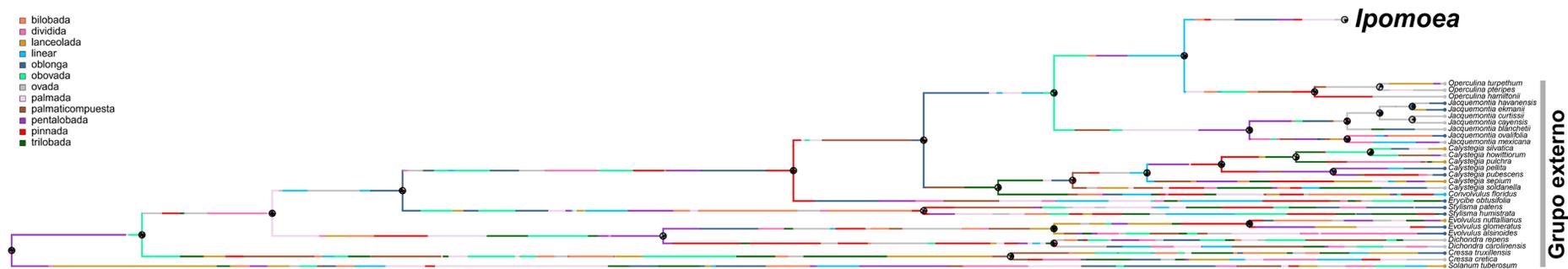


Figura 16 (p.3). Reconstrucción de estados ancestrales y mapeo estocástico para la forma de la lámina. Se ilustra una historia de la evolución del carácter en la filogenia de Máxima Verosimilitud inferida en este estudio (mapeo estocástico; función *make.simmap* de la biblioteca *Phytools* v0.2-4 en R). Las gráficas de pastel en cada nodo ilustran el promedio de la probabilidad de cada estado de carácter en cada nodo obtenido a partir de 10 simulaciones realizadas sobre la filogenia de Máxima Verosimilitud.

- dividida
- entera
- lobada
- palmada
- palmaticompuesta

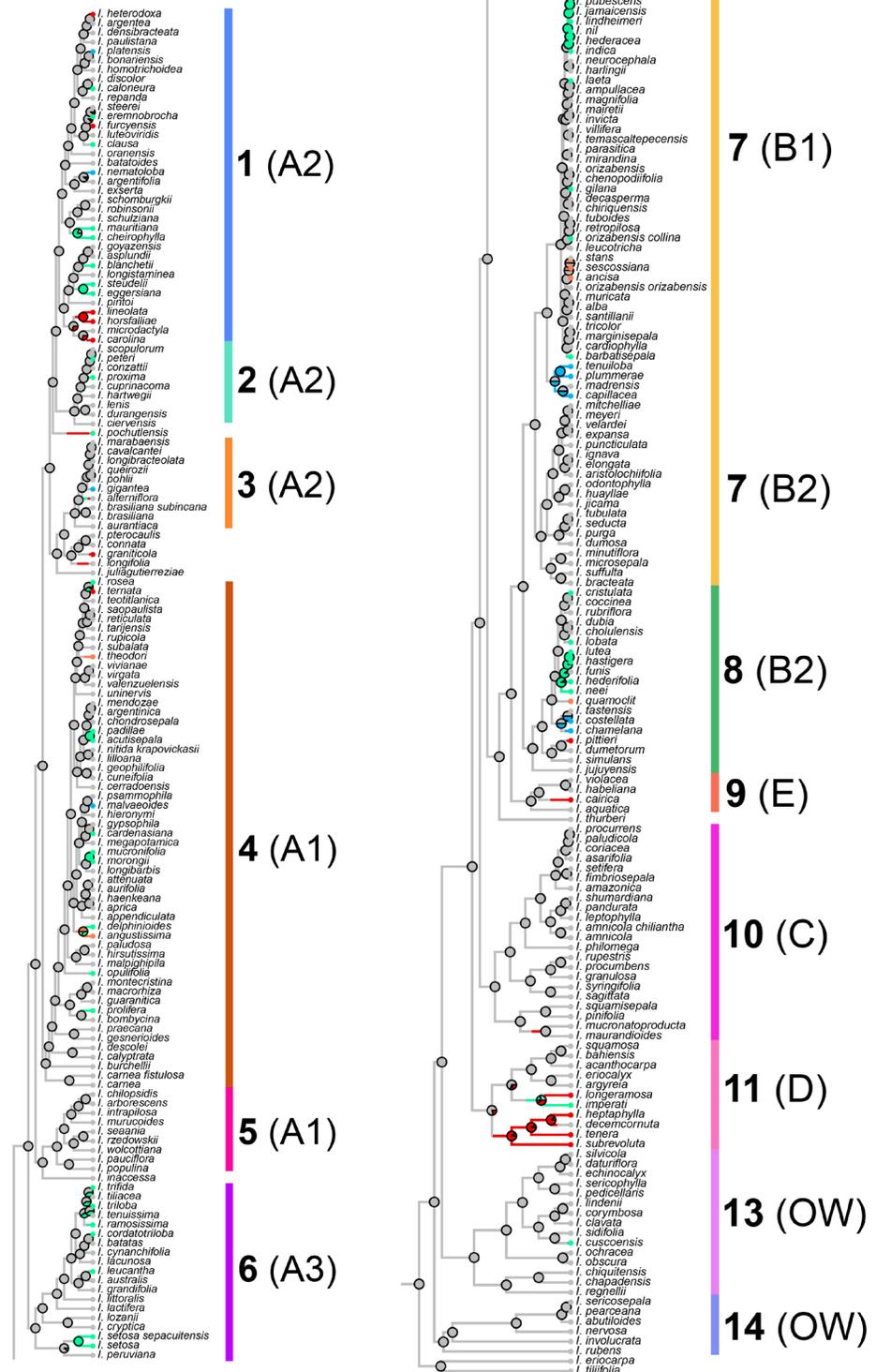


Figura 17 (p.1, 2). Reconstrucción de estados ancestrales y mapeo estocástico para la forma de la lámina (**recategorización**). Se ilustra una historia de la evolución del carácter en la filogenia de Máxima Verosimilitud inferida en este estudio (mapeo estocástico; función *make.simmap* de la biblioteca *Phytools* v0.2-4 en R). Las gráficas de pastel en cada nodo ilustran el promedio de la probabilidad de cada estado de carácter en cada nodo obtenido a partir de 10 simulaciones realizadas sobre la filogenia de Máxima Verosimilitud.

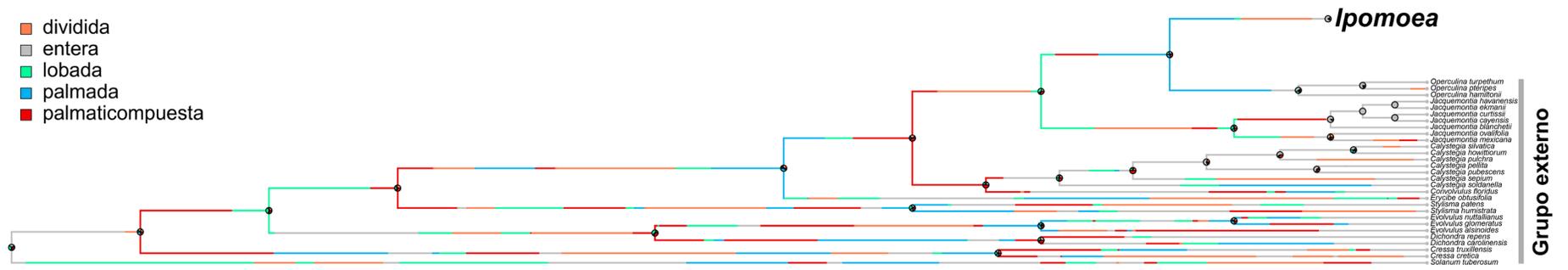


Figura 17 (p.3). Reconstrucción de estados ancestrales y mapeo estocástico para la forma de la lámina (**recategorización**). Se ilustra una historia de la evolución del carácter en la filogenia de Máxima Verosimilitud inferida en este estudio (mapeo estocástico; función *make.simmap* de la biblioteca *Phytools* v0.2-4 en R). Las gráficas de pastel en cada nodo ilustran el promedio de la probabilidad de cada estado de carácter en cada nodo obtenido a partir de 10 simulaciones realizadas sobre la filogenia de Máxima Verosimilitud.

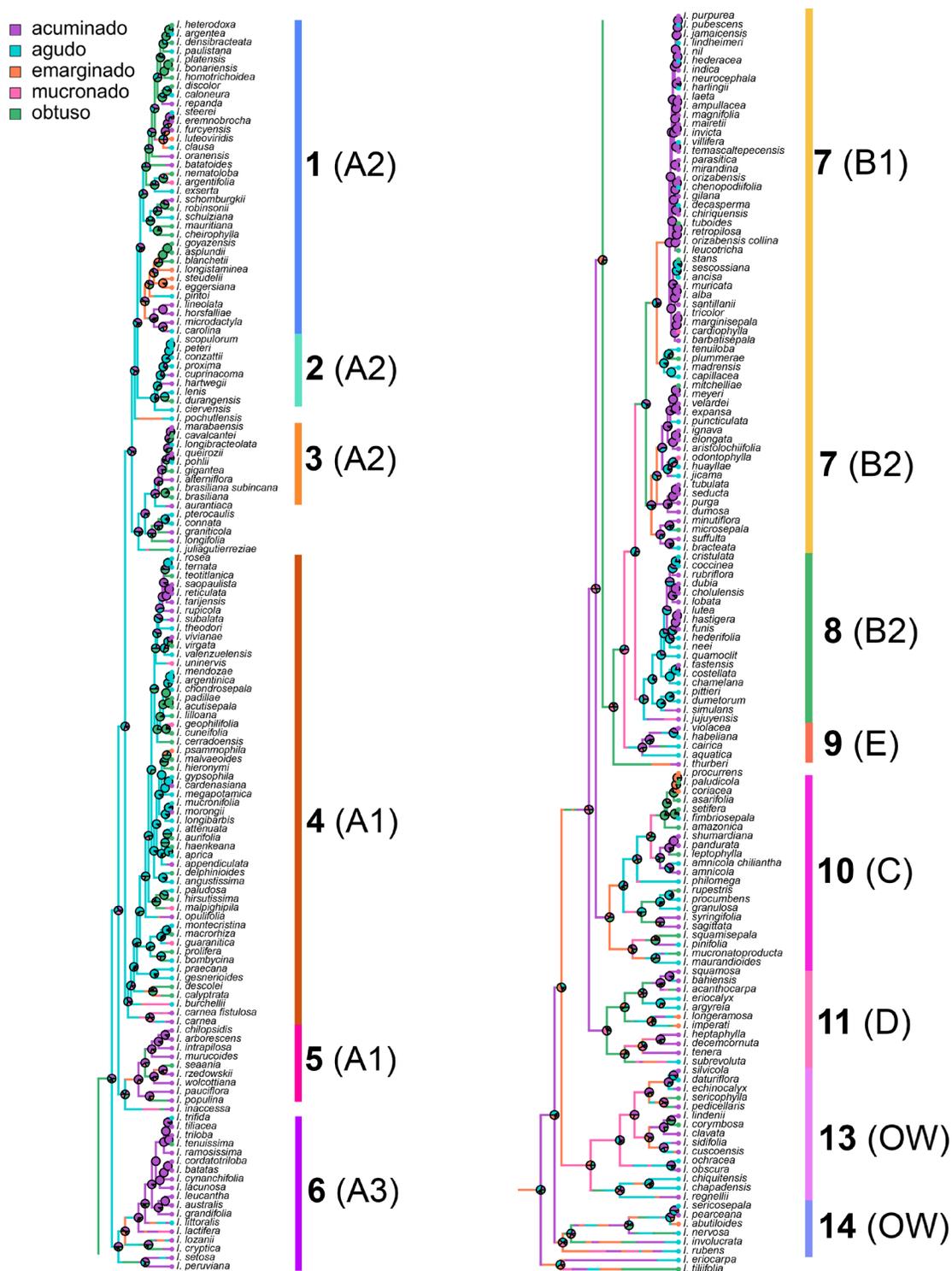


Figura 18 (p.1, 2). Reconstrucción de estados ancestrales y mapeo estocástico para la forma del ápice. Se ilustra una historia de la evolución del carácter en la filogenia de Máxima Verosimilitud inferida en este estudio (mapeo estocástico; función *make.simmap* de la biblioteca *Phytools* v0.2-4 en R). Las gráficas de pastel en cada nodo ilustran el promedio de la probabilidad de cada estado de carácter en cada nodo obtenido a partir de 10 simulaciones realizadas sobre la filogenia de Máxima Verosimilitud.

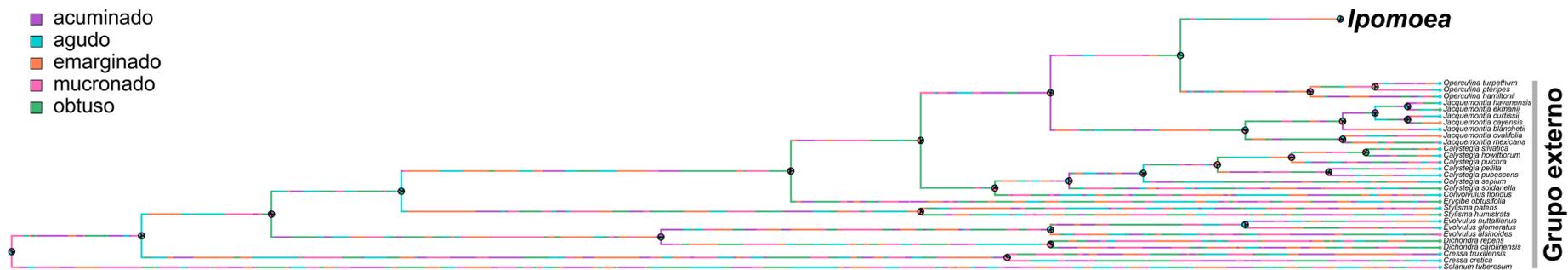


Figura 18 (p.3). Reconstrucción de estados ancestrales y mapeo estocástico para la forma del ápice. Se ilustra una historia de la evolución del carácter en la filogenia de Máxima Verosimilitud inferida en este estudio (mapeo estocástico; función *make.simmap* de la biblioteca *Phytools* v0.2-4 en R). Las gráficas de pastel en cada nodo ilustran el promedio de la probabilidad de cada estado de carácter en cada nodo obtenido a partir de 10 simulaciones realizadas sobre la filogenia de Máxima Verosimilitud.

- cordada
- cuneada
- decurrente
- hastada
- redondeada
- sagitada
- truncada
- unionfoliolos

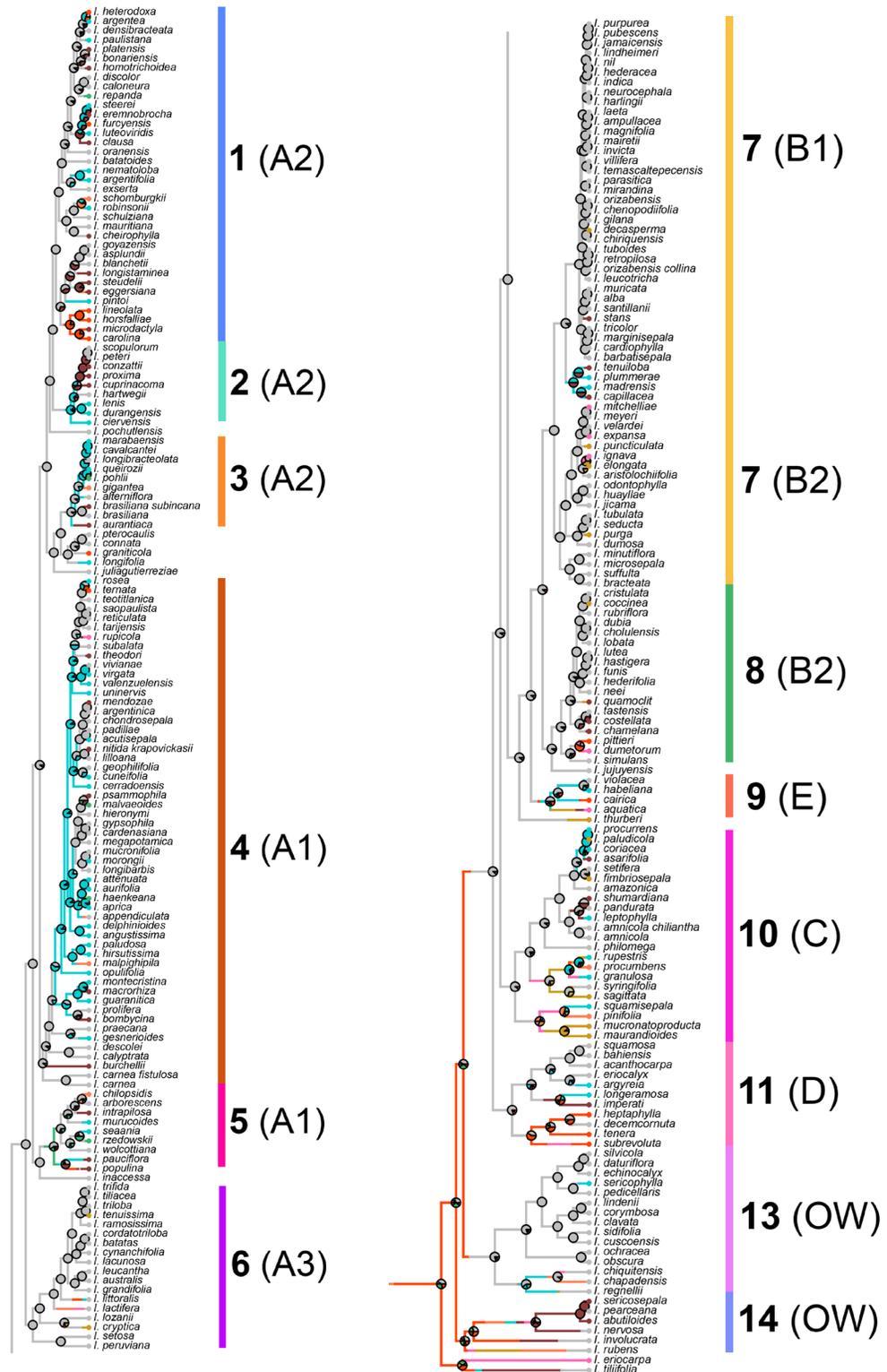


Figura 19 (p.1, 2). Reconstrucción de estados ancestrales y mapeo estocástico para la forma de la base. Se ilustra una historia de la evolución del carácter en la filogenia de Máxima Verosimilitud inferida en este estudio (mapeo estocástico; función *make.simmap* de la biblioteca *Phytools* v0.2-4 en R). Las gráficas de pastel en cada nodo ilustran el promedio de la probabilidad de cada estado de carácter en cada nodo obtenido a partir de 10 simulaciones realizadas sobre la filogenia de Máxima Verosimilitud.

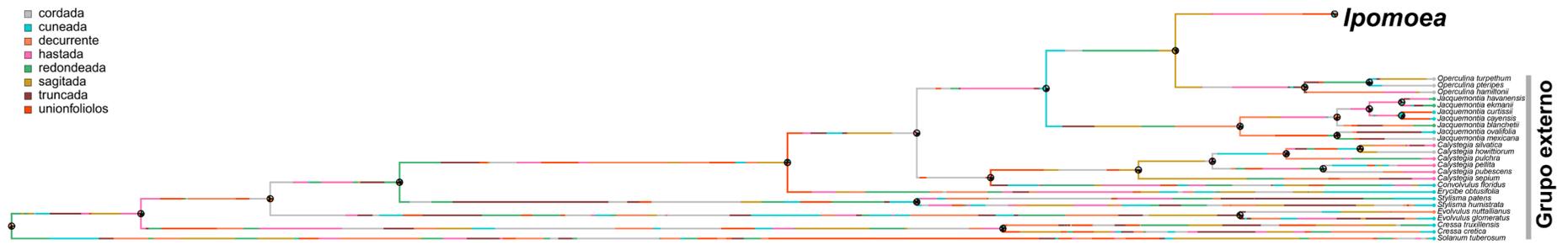


Figura 19 (p.3). Reconstrucción de estados ancestrales y mapeo estocástico para la forma de la base. Se ilustra una historia de la evolución del carácter en la filogenia de Máxima Verosimilitud inferida en este estudio (mapeo estocástico; función *make.simmap* de la biblioteca *Phytools* v0.2-4 en R). Las gráficas de pastel en cada nodo ilustran el promedio de la probabilidad de cada estado de carácter en cada nodo obtenido a partir de 10 simulaciones realizadas sobre la filogenia de Máxima Verosimilitud.

- dentado
- entero
- ondulado

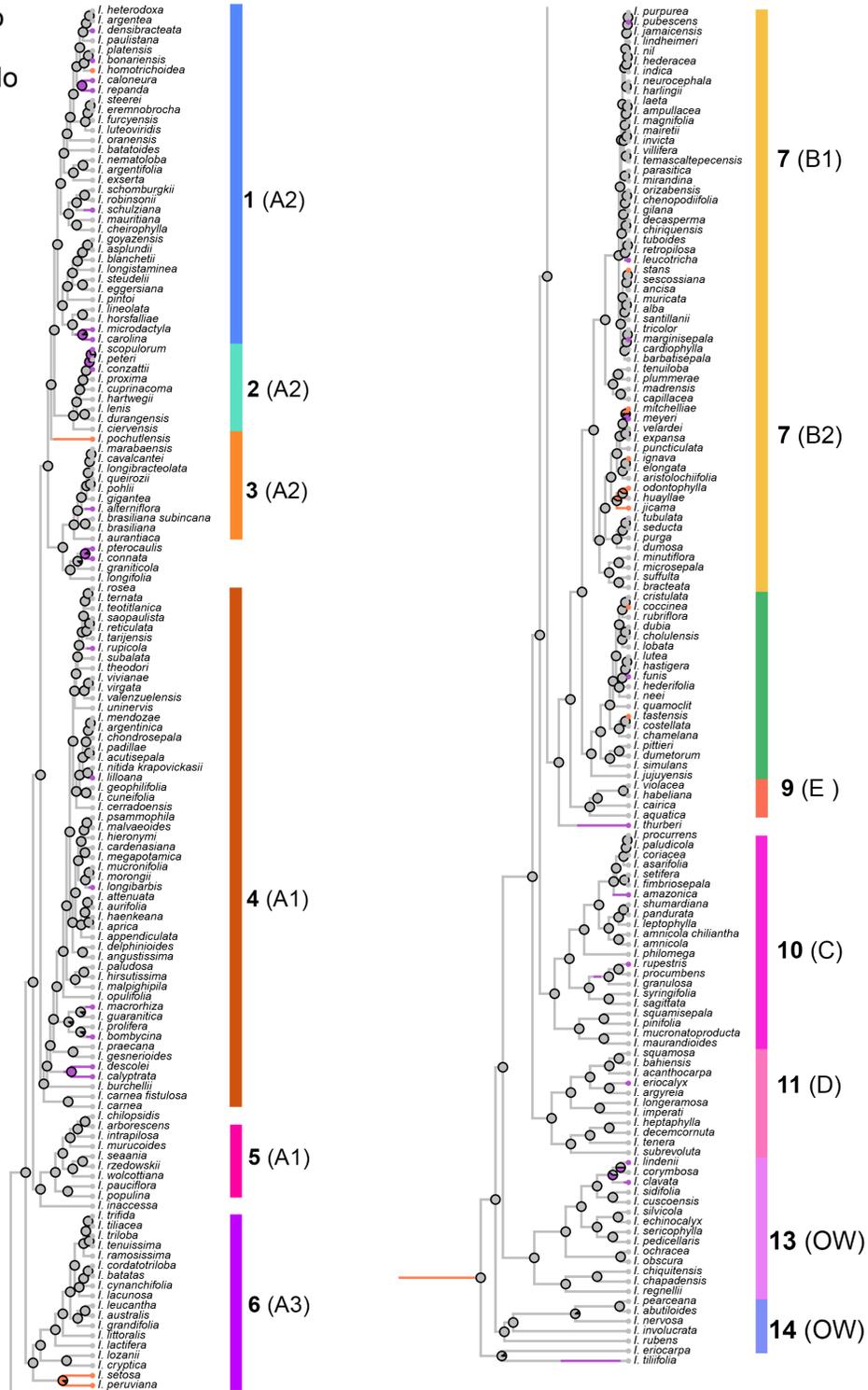


Figura 20 (p.1, 2). Reconstrucción de estados ancestrales y mapeo estocástico para la forma del margen. Se ilustra una historia de la evolución del carácter en la filogenia de Máxima Verosimilitud inferida en este estudio (mapeo estocástico; función *make.simmap* de la biblioteca *Phytools* v0.2-4 en R). Las gráficas de pastel en cada nodo ilustran el promedio de la probabilidad de cada estado de carácter en cada nodo obtenido a partir de 10 simulaciones realizadas sobre la filogenia de Máxima Verosimilitud.

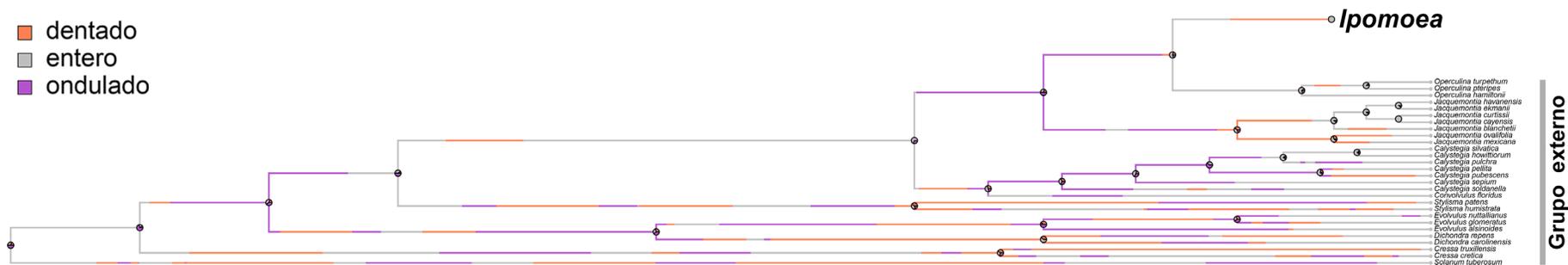


Figura 20 (p.3). Reconstrucción de estados ancestrales y mapeo estocástico para la forma del margen. Se ilustra una historia de la evolución del carácter en la filogenia de Máxima Verosimilitud inferida en este estudio (mapeo estocástico; función *make.simmap* de la biblioteca *Phytools* v0.2-4 en R). Las gráficas de pastel en cada nodo ilustran el promedio de la probabilidad de cada estado de carácter en cada nodo obtenido a partir de 10 simulaciones realizadas sobre la filogenia de Máxima Verosimilitud.

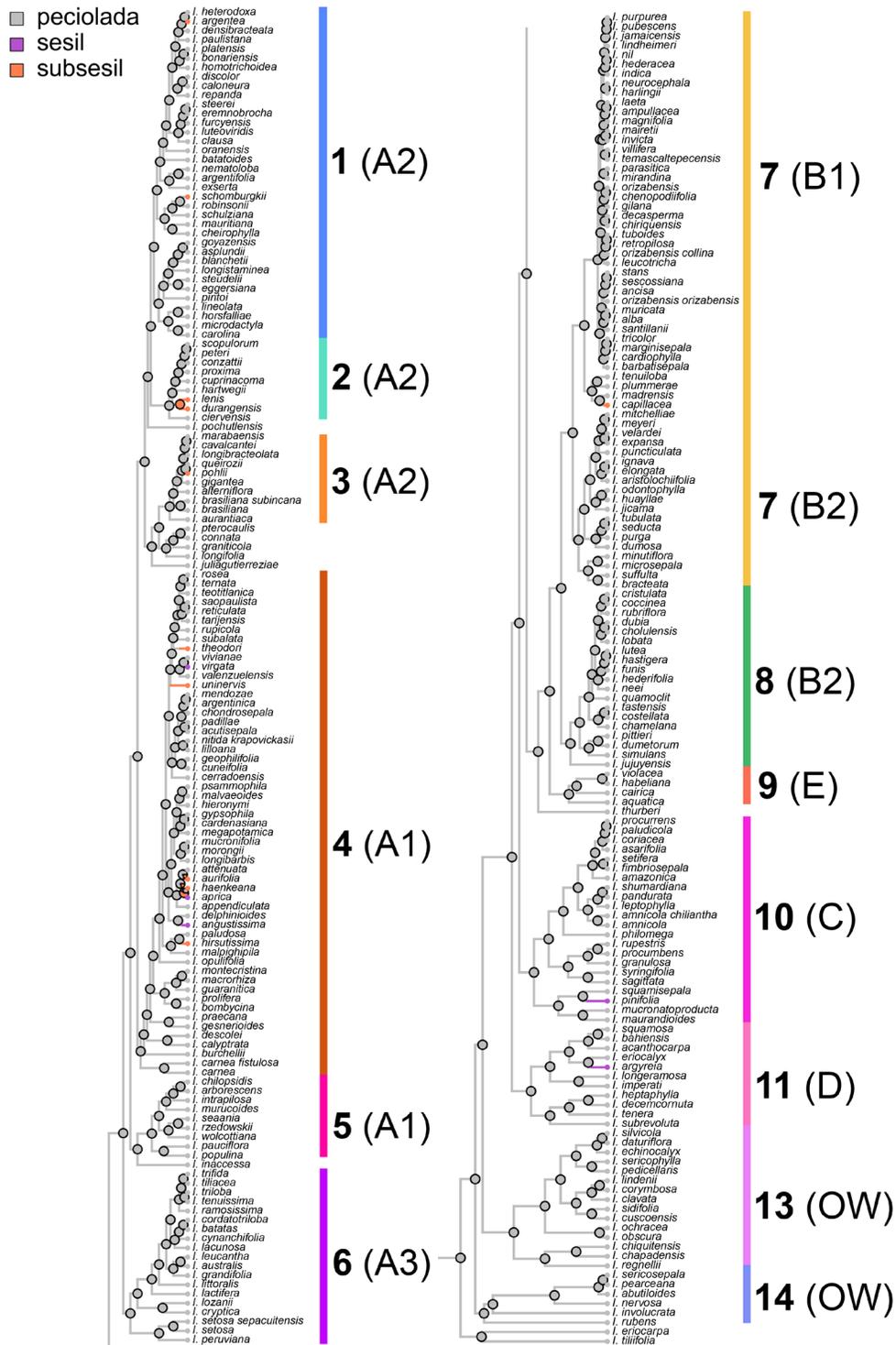


Figura 21 (p.1, 2). Reconstrucción de estados ancestrales y mapeo estocástico para tipo de peciolo. Se ilustra una historia de la evolución del carácter en la filogenia de Máxima Verosimilitud inferida en este estudio (mapeo estocástico; función *make.simmap* de la biblioteca *Phytools* v0.2.4 en R). Las gráficas de pastel en cada nodo ilustran el promedio de la probabilidad de cada estado de carácter en cada nodo obtenido a partir de 10 simulaciones realizadas sobre la filogenia de Máxima Verosimilitud.

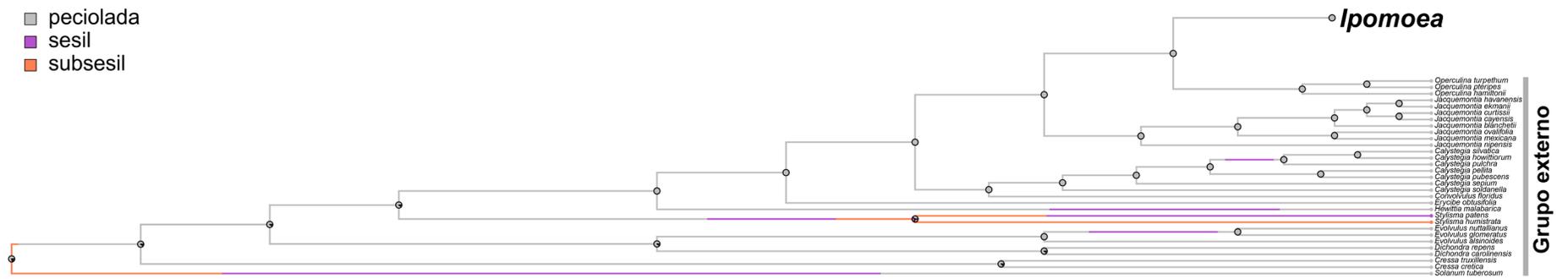


Figura 21 (p.3). Reconstrucción de estados ancestrales y mapeo estocástico para tipo de pecíolo. Se ilustra una historia de la evolución del carácter en la filogenia de Máxima Verosimilitud inferida en este estudio (mapeo estocástico; función *make.simmap* de la biblioteca *Phytools* v0.2-4 en R). Las gráficas de pastel en cada nodo ilustran el promedio de la probabilidad de cada estado de carácter en cada nodo obtenido a partir de 10 simulaciones realizadas sobre la filogenia de Máxima Verosimilitud.

■ compuesta
 ■ simple

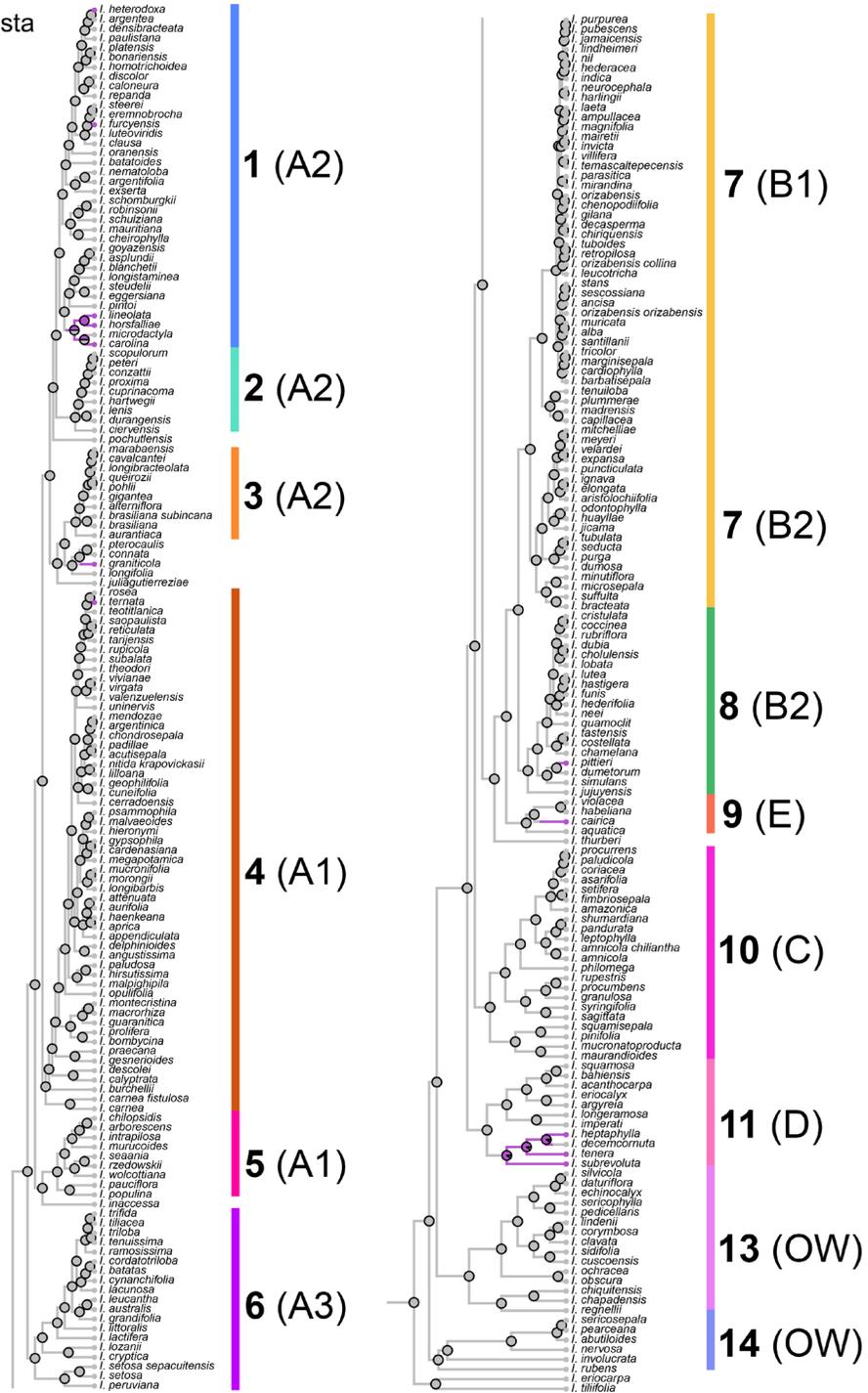


Figura 22 (p.1, 2). Reconstrucción de estados ancestrales y mapeo estocástico para tipo de hoja (simple o compuesta). Se ilustra una historia de la evolución del carácter en la filogenia de Máxima Verosimilitud inferida en este estudio (mapeo estocástico; función *make.simap* de la biblioteca *Phytools* v0.2-4 en R). Las gráficas de pastel en cada nodo ilustran el promedio de la probabilidad de cada estado de carácter en cada nodo obtenido a partir de 10 simulaciones realizadas sobre la filogenia de Máxima Verosimilitud.

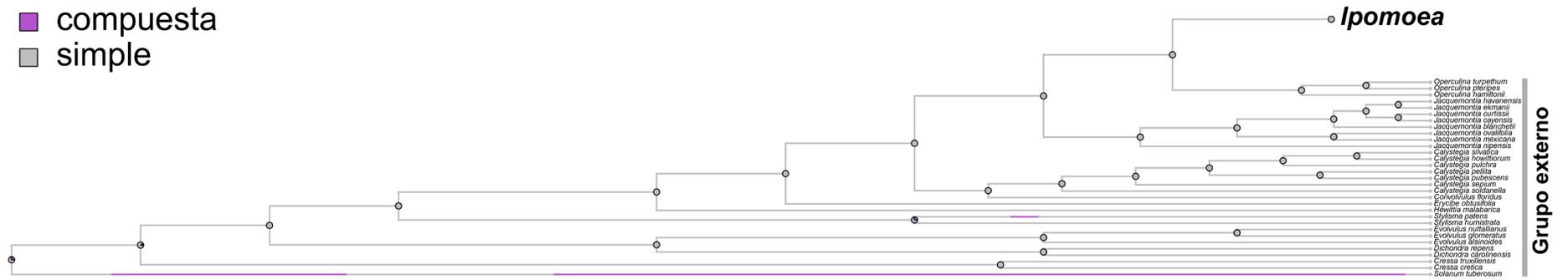


Figura 22 (p.3). Reconstrucción de estados ancestrales y mapeo estocástico para tipo de hoja (simple o compuesta). Se ilustra una historia de la evolución del carácter en la filogenia de Máxima Verosimilitud inferida en este estudio (mapeo estocástico; función *make.simmap* de la biblioteca *Phytools* v0.2-4 en R). Las gráficas de pastel en cada nodo ilustran el promedio de la probabilidad de cada estado de carácter en cada nodo obtenido a partir de 10 simulaciones realizadas sobre la filogenia de Máxima Verosimilitud.

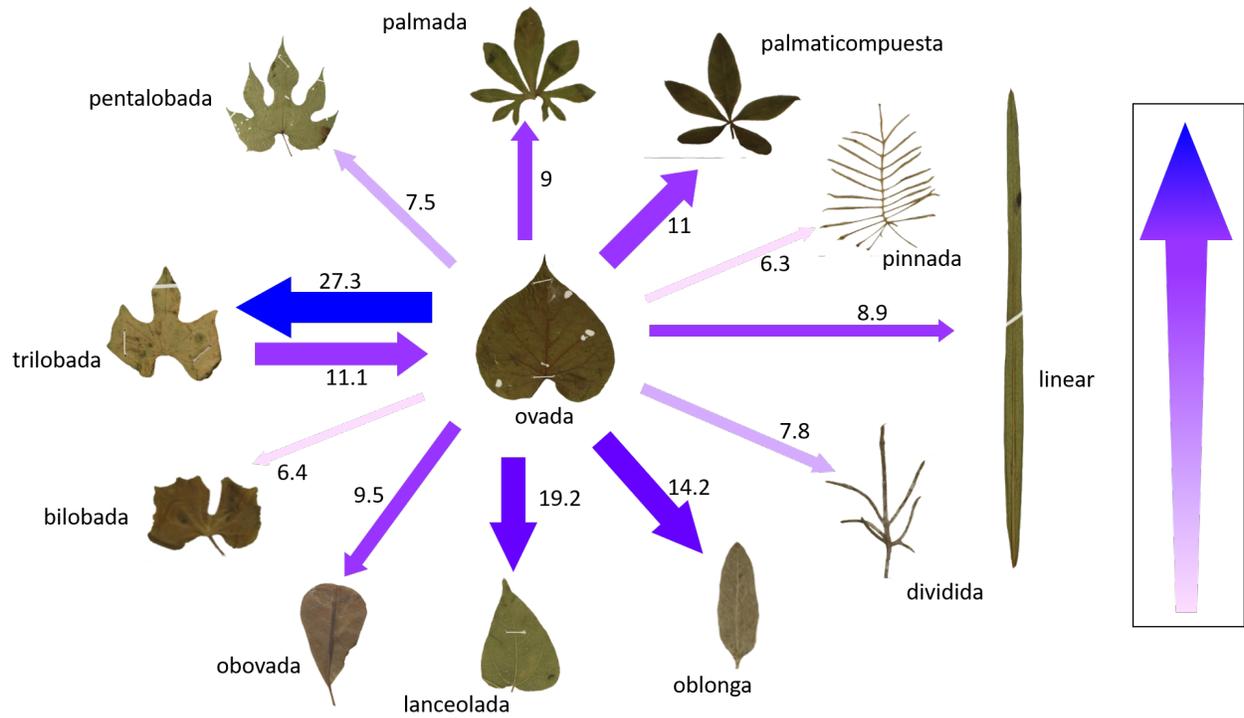


Figura 23. Frecuencia promedio de las transiciones de la forma ovada hacia el resto de las formas. La dirección de la transición (según la Tabla 9) está representada por flechas, cuyo grosor y color representan la magnitud de la frecuencia promedio de la transición. Las transiciones de hojas ovadas a trilobadas son las más frecuentes. Los promedios fueron obtenidos a partir de 10 simulaciones por árbol en una muestra de 102 árboles, usando la función *make.simmmap* de la biblioteca *Phytools* v0.2-4 en R

DISCUSIÓN

Obtuvimos la filogenia para *Ipomoea* con el mayor muestreo taxonómico que existe hasta el momento, pues incluye 19 especies más de *Ipomoea* en comparación con la filogenia de ITS publicada por Muñoz *et al.*, 2019. Los resultados de nuestros análisis filogenéticos recuperan los clados principales propuestos por Muñoz *et al.* 2019 (Figura 5) y respalda la monofilia de *Ipomoea* propuesta por este mismo autor.

Trabajos anteriores a los de Muñoz *et al.*, sostenían que la tribu *Ipomoeae* estaba conformada por nueve géneros: *Argyreia*, *Astripomoea*, *Blinkworthia*, *Ipomoea*, *Lepistemon*, *Paralepistemon*, *Rivea*, *Strictocardia* y *Turbina* (Stefanović, Austin & Olmstead, 2003). La filogenia del marcador ITS así como la obtenida a partir de 421 regiones nucleares de copia única (Muñoz-Rodríguez *et al.*, 2019), muestran que los géneros *Argyreia*, *Astripomoea*, *Lepistemon*, *Strictocardia* y *Turbina* se agrupan dentro del clado *Ipomoea*, por lo que este género no era monofilético. A partir de este resultado, Muñoz *et al.*, proponen una reasignación taxonómica que incluye a todas las especies de los géneros *Argyreia*, *Astripomoea*, *Lepistemon*, *Strictocardia* y *Turbina* dentro del clado de *Ipomoea*. En nuestros análisis filogenéticos de Máxima Verosimilitud las especies que pertenecían a estos otros géneros se agrupan dentro del clado *Ipomoea* con un bootstrap de 98% por lo que respaldamos su inclusión. Actualmente el género *Ipomoea* incluye a todos los miembros de la familia Convolvulaceae con polen espinoso (Muñoz-Rodríguez *et al.*, 2019) y conforma un grupo monofilético.

La topología obtenida en nuestras inferencias filogenéticas también muestra ciertas modificaciones con respecto a la filogenia previa de ITS de Muñoz *et al.*, 2019. Algunas relaciones entre especies dentro de un mismo clado cambian, también existen especies que se encuentran en clados distintos; por ejemplo, en nuestra filogenia obtenida con Máxima Verosimilitud y la filogenia de Mayor Credibilidad de Clados, el clado OW o el clado B2 no forman un grupo monofilético, como es el caso de la filogenia de Muñoz *et al.*, (2019) esto puede deberse al uso de un único marcador para la inferencia filogenética.

El marcador ITS es uno de los más utilizados en la inferencia filogenética debido a que cuenta con un alto grado de variación incluso entre especies estrechamente relacionadas, y también contiene regiones conservadas que facilitan la alineaciones entre familias y ordenes

diferentes (Coleman, 2003; Song *et al.*, 2012). Contar con secuencias con una alta tasa de evolución podría ayudar a mejorar la resolución a nivel inter e infra específico, a tener clados más consistentes y con mejores soportes de bootstrap y probabilidad posterior. Por ejemplo, el gen del cloroplasto *ndhF* tiene una longitud mayor que el gen *rbcL* y cuenta con una alta tasa de evolución molecular, por lo que podría proporcionarnos más sitios informativos para realizar la inferencia filogenética, y podría ser un buen candidato para secuenciar en *Ipomoea* (Kim & Jansen, 1995). Los intrones y espaciadores no codificantes evolucionan a un ritmo más rápido en comparación con regiones codificantes; por ejemplo los espaciadores intergénicos entre *ndhC-trnV*, *trnR-atpA*, *ndhF-rpl32*, *psbM-trnD* y *trnQ-rps16* son regiones altamente variables que podrían ayudar a resolver relaciones filogenéticas a nivel inter e intraespecífico (Korotkova *et al.*, 2014).

Si bien el uso de únicamente ITS en la inferencia filogenética limitó la resolución de las relaciones filogenéticas fue suficiente para hacer una primera aproximación en el estudio de la evolución de la diversidad foliar. Los resultados de señal filogenética, mapeo estocástico de caracteres y reconstrucción de estados ancestrales para caracteres continuos y categóricos sugieren que la historia evolutiva compartida de las especies no juega un papel preponderante en moldear la gran diversidad foliar que observamos en *Ipomoea*. Esto implica que otros factores han tenido influencia moldear la evolución de estos caracteres, posiblemente factores climáticos y genéticos.

La forma del ápice puede relacionarse a diferentes tipos de clima (Malhado *et al.*, 2012). Se ha sugerido que los ápices acuminados presentan una ventaja en ambientes húmedos y con una alta precipitación anual pues reducen la retención de agua en la superficie evitando daño en la superficie foliar o que se establezcan organismos epifitos (Sack & Frole, 2006; Malhado *et al.*, 2012). Por otro lado, las hojas con ápice redondeado, obtuso y emarginado tienen una mayor retención de agua lo que podría ser una ventaja en climas xéricos o con un alto nivel de irradiación solar (Wang *et al.*, 2020). De hecho, las especies de *Ipomoea* que cuentan con ápice emarginado incluidas en este estudio se distribuyen en regiones en donde las altas temperaturas y niveles de radiación solar son comunes; por ejemplo: *I. eggersiana* habita áreas de las Islas Vírgenes del Caribe; *I. longistaminea* especie endémica de bosques muy secos de Brasil

(Catinga); *I. luteoviridis* localizada en Haití y República Dominicana; *I. pes-capre* que por lo menos en México la podemos encontrar en diferentes playas (Wood *et al.*, 2020).

En el caso del ápice, no existe un patrón en las transiciones entre estados de carácter, es decir, las transiciones de un estado de carácter a otro pueden darse en cualquier dirección sin importar el estado de carácter previo (Figura 18). El ápice emarginado es notoriamente diferente al resto de las formas consideradas en este estudio, los ápices acuminado, agudo, mucronado y obtuso son una prolongación de la lámina hacia la parte distal de la hoja, por otro lado, el ápice emarginado es una hendidura de la parte distal hacia la parte proximal de la hoja (Ellis *et al.*, 2009), esta diferencia podría estar contribuyendo a que las formas más parecidas entre sí transicionen de un estado de carácter a otro con mayor frecuencia.

El margen es otro de los caracteres en los que se ha planteado que al ambiente juega un papel importante en la evolución de su forma (Royer & Wilf, 2006; Royer *et al.*, 2009). Un estudio realizado en plantas genéticamente iguales de *Acer rubrum* cultivadas en dos ambientes diferentes mostró que los individuos que se desarrollaron en climas fríos tenían margen dentado y láminas más disectadas lo cual podría ayudar a prevenir embolias por congelación (Royer *et al.*, 2009). También existe evidencia que muestra que el margen dentado se presenta en ambientes cálidos, en estos casos se plantea que los dientes marginales podrían aumentar la pérdida de calor por convección (Vogel, 1970). En ambos casos el margen dentado está jugando un papel fundamental en la regulación de la temperatura de la hoja. En el caso de *Ipomoea*, las especies con margen dentado pueden encontrarse en ambientes contrastantes; por ejemplo, en ambientes cálidos podemos encontrar a *I. pochutlensis* localizada en Pochutla Oaxaca, o *I. erosa* presente en Cuba. Por otro lado, *I. mitchelliae* habita ambientes con un alto nivel de precipitación en Costa Rica y Honduras. El hecho de que estas especies de margen dentado se encuentren en ambientes diferentes es consistente con la idea de que en ambientes con una alta precipitación el margen dentado podría estar evitando embolias (Royer *et al.*, 2009), mientras que en ambientes cálidos el margen dentado ayudaría a regular la temperaturas (Vogel, 1970).

Los análisis de señal filogenética, mapeo estocástico de caracteres y reconstrucción de estados ancestrales para caracteres continuos nos muestran en la evolución de la diversidad del clado de *Ipomoea* existen similitudes no debidas a ancestría común, por lo que al igual que con los

caracteres categóricos, los factores ambientales podrían ser los responsables de que encontremos especies lejanamente relacionadas con un área foliar similar. Un estudio realizado con la especie *Claytonia perfoliata* (Donn) mostró que las plantas localizadas en pastizales y con alta incidencia de luz presentaban hojas lineares y con un área foliar menor a las que se encontraban creciendo bajo la sombra de robles (McIntyre & Strauss, 2014).

El área foliar también puede disminuir por divisiones en la lámina. Una hoja lobulada o disectada puede evitar el sobrecalentamiento y con esto la pérdida de agua (Vogel, 1970). En el caso de *Ipomoea* esperaríamos encontrar especies cuyas hojas sean muy divididas y por ende con un índice de circularidad y AP pequeño en zonas con altas temperaturas; por el contrario, podría esperarse que las especies con hojas enteras y con un índice de circularidad y AP alto, estén presentes en zonas con alta humedad y poca incidencia de luz. El pecíolo es otra estructura que nos podría indicar el ambiente en el que esperaríamos encontrar a las especies; algunos estudios muestran que en ambientes con poca incidencia de luz los pecíolos se elongan y en zonas abiertas el pecíolo se reduce o desaparece por completo (Vogel, 2009). Con base en esta idea, sería de esperarse que especies con hojas sésiles como *I. durangensis*, *I. lenis* e *I. capillacea* se encontraran en zonas con alta incidencia de luz y altas temperaturas. Estas hipótesis pueden ponerse a prueba usando censos de observaciones directas o basados en datos de ocurrencia derivados de ejemplares de herbario.

Patrones evolutivos en la forma de la hoja en *Ipomoea*

Algunos estudios sobre diversidad foliar han empleado una división entre forma y nivel de disección de la lámina, en particular se han propuesto varias categorías de disección de la lámina, como el grado de prolongación de las hendiduras, el patrón de división y el número de divisiones (Moreno, 1984). Algunas categorías son: lobado, hendido, partido, sectado; y estas categorías a su vez pueden diferenciarse por el número de divisiones, bi, tri, etc; por mencionar algunas. En este mismo trabajo, la autora propone una adaptación del Systematics Association Committee for Descriptive Terminology (1962) en donde la forma de la hoja puede determinarse mediante formas geométricas como: circular, elíptico, lanceolado, ovado, linear, cuadrado, oblongo, rómbico, trulado, deltado, triangular y cuneado. Algunos de estos términos son retomados en

otros glosarios, por ejemplo, en el trabajo de Ellis *et al.*, (2009). Para Simpson (2006), la división es un carácter de la forma y sus estados de carácter son tratados como características del margen; dependiendo del grado de sinuosidad (división, incisión) se definirá si son lóbulos o segmentos.

Sin embargo, esta codificación que separa forma y división de la lámina no es lo suficientemente informativa para el grupo de *Ipomoea* debido a que en el género podemos encontrar formas con divisiones irregulares las cuales resulta difícil enmarcarlas dentro de una figura geométrica, por lo que en estos casos el nivel de disección de la lámina nos da un buen acercamiento a un tipo de forma. Por otro lado, dentro de *Ipomoea* existen hojas que pueden tener diferente grado de división, a pesar de esto podemos obtener la misma forma laminar y no reflejar la variación morfológica de la hoja. Por ejemplo, podemos tener una hoja con tres lóbulos y una hoja palmaticompuesta y ambas pueden ser de forma ovada. En estos casos asignarles el mismo estado de carácter nos haría perder información, por ejemplo, no podríamos localizar la posición de las hojas trilobadas dentro de la filogenia.

Por otro lado, tomar en cuenta únicamente el grado de división de la lámina nos permitiría agruparlas y separarlas de las hojas enteras, sin embargo, no tendríamos información sobre su forma. En este caso podríamos observar en la filogenia que todas las hojas enteras nos quedan en un único clado sin tomar en cuenta si son ovadas o lineares. Es por esto que para *Ipomoea* es importante tener una clasificación que conjunte nivel de disección y forma de la lámina y de esta manera poder reflejar la mayor parte de la diversidad foliar que existe en el género.

En este trabajo propusimos dos formas de categorizar la forma de la lámina. En una clasificación tomamos en cuenta la variación morfológica que puede haber dentro de hojas enteras; en la recategorización incluimos todas las hojas enteras en un solo grupo, de igual manera, las hojas divididas y pinnadas las agrupamos en un único estado de carácter (Tabla 3). Esta nueva categorización permitió identificar algunos clados pequeños que podrían resultar interesantes ya que en ellos las especies presentan el mismo estado de carácter.

La reconstrucción de estados ancestrales para las diferentes clasificaciones, así como para los análisis de los otros caracteres evaluados, sugiere que la hoja del ancestro común más reciente del género *Ipomoea* fue de forma ovada, con ápice acuminado, margen entero, base cordada y peciolada (Figura 24). De acuerdo con el mapeo estocástico de caracteres continuos, la hoja ancestral pudo haber tenido un área foliar de entre 25 a 50 cm². Los valores que toma el nodo

ancestral de *Ipomoea* para el índice AP y la circularidad muestran que el ancestro del género pudo haber presentado una hoja entera, lo cual es consistente con los resultados obtenidos en la reconstrucción de estados ancestrales de la forma de la lámina y el tipo de hoja (simple o compuesta).

Los estudios de método comparativo realizan estimados de los modelos con base en el estado de carácter correspondiente a cada especie, la topología y longitudes de rama de la filogenia, por lo tanto, si la información proporcionada cambia, las inferencias que obtendremos serán diferentes. El número de especies para las cuales se tiene datos del estado de carácter también es importante, ya que un muestreo con pocas especies podría modificar las inferencias realizadas. En este estudio, se incluyó un muestreo de 102 árboles, que nos permite inferir la distribución posterior conjunta de los estados de carácter ancestrales y obtener una distribución en los valores de señal filogenética. A pesar de la diferencia en el número de especies evaluadas para cada carácter, nuestro muestreo incluye la mitad de especies de la filogenia, aproximadamente, todas distribuidas en diferentes clados. La distribución de los estados de carácter en la filogenia parece indicar que, aunque se aumente el muestreo, los patrones evolutivos en la forma de la hoja de *Ipomoea* no tendrán grandes cambios

Cambios en la interacción genética como respuesta al ambiente

A lo largo de su desarrollo, las hojas dependen de señales ambientales para activar o inhibir la producción de ciertos genes que permitirán la diferenciación y mantenimiento de sus células (Byrne, 2012). La respuesta de estas redes genéticas moduladas por señales ambientales se ha propuesto como uno de los principales mecanismos en el cambio morfológico de las hojas. Los genes *KNOX* clase I permiten el mantenimiento de las células meristemáticas y se ha visto que su reactivación en etapas posteriores del desarrollo de la hoja promueve la división de la lámina, dando como resultado una morfología diferente (Shani *et al.*, 2009; Vasco & Ambrose, 2020). Tal es el caso del género *Elaphoglossum*, el cual se caracteriza por presentar hojas simples, sin embargo, existen seis especies con hojas divididas; un estudio mostró que los genes *KNOX* clase I, además de presentarse en las células meristemáticas, tienen actividad en células diferenciadas de hojas divididas (Vasco & Ambrose, 2020).

También se ha mostrado que el gen homeótico *RCO* promueve el cambio de hojas compuestas a hojas simples (Vuolo *et al.*, 2016). Este gen proviene de una duplicación y neofuncionalización del gen *LMII-LIKE*, y está presente en muchas especies de la familia Brassicaceae, las cuales presentan hojas con niveles de disección variables. En *Arabidopsis thaliana* este gen se perdió; se plantea que su ausencia promovió la transición de una hoja compuesta a una hoja simple (Vuolo *et al.*, 2016).

Por otro lado, la interacción entre las fitohormonas auxinas y el gen *CUC2* (*CUP-SHAPED COTYLEDON2*) modula la formación de folíolos y márgenes dentados o aserrados (Bilborough *et al.*, 2011). En los puntos en donde la auxina tiene altas concentraciones la lámina se elonga, dando lugar a lo que se puede reconocer como indentaciones de distintos tipos. La expresión del gen *CUC2* en el margen de la hoja regula la concentración de las auxinas reorientando su circulación, lo cual lleva a formar puntos donde esta hormona tiene una alta concentración (máximos de auxina). A su vez las auxinas reprimen la expresión de *CUC2* en dichas regiones y esto da como resultado un crecimiento diferencial del margen que fenotípicamente reconocemos como un margen dentado (Bilborough *et al.*, 2011).

Una aproximación para evaluar cuáles son los mecanismos que operan en el desarrollo de hojas lobadas y profusamente divididas en *Ipomoea*, puede ser un seguimiento de expresión génica a lo largo del desarrollo foliar. Por ejemplo, se podrían secuenciar transcriptomas en distintos tiempos de desarrollo foliar y evaluar si después de la diferenciación de las células meristemáticas existe expresión de algunos genes *KNOX* de clase I. Esto podría proporcionar evidencia sobre el proceso genético que siguen las hojas durante su desarrollo morfológico en este clado. Además podríamos evaluar si en el caso de las especies con margen dentado, este se origina por la formación de máximos de auxina y su interacción con el gen *CUC2* tal como ocurre en *A. thaliana* (Bilborough *et al.*, 2011).

Las redes genéticas son muy importantes en la modificación morfológica de las hojas, pero es importante poner estos cambios en la regulación dentro de un contexto ambiental, ya que estas alteraciones son respuesta a estímulos del exterior. Por ejemplo, en *A. thaliana* el aumento en la irradiación solar promueve la expresión del gen *TAA1* (*TRIPTOFANO AMINOTRANSFERASA DE ARABIDOPSIS*), lo cual aumenta la síntesis de auxinas (Byrne, 2012) que son importantes en la formación de los márgenes dentados (Bilborough *et al.*, 2011).

La hoja es un órgano no monofilético y se plantea que ha aparecido múltiples veces a lo largo de la historia de las plantas (Tomescu, 2009), no obstante, se ha planteado que los diferentes linajes de plantas comparten la red genética que permite el desarrollo de las hojas por lo que se ha hablado de que esto corresponde a una homología profunda (Harrison *et al.*, 2005; Evkaikina *et al.*, 2017), es decir, morfologías o estructuras similares presentes en especies lejanamente relacionadas pueden estar reguladas por un mismo mecanismo genético (Harrison *et al.*, 2005). Otro ejemplo de homología profunda es la presencia de hojas compuestas en diferentes linajes de angiospermas. Un estudio mostró que para la disección completa de la lámina que da lugar a foliolos es necesaria la participación de los genes NAM/CUC-LIKE, los cuales se han encontrado en especies de los órdenes Ranunculales, Fabales, Brassicales y Solanales (Scotland, 2010).

Nuestros resultados muestran que los caracteres que componen la arquitectura foliar son homoplasias. Sin embargo, es importante tomar en cuenta que quizá el mecanismo genético que regula la forma es el mismo por lo que podríamos hablar de homología profunda y resultaría importante evaluar si existen cambios de expresión génica en hojas con morfologías similares y si la expresión génica que da lugar a la forma de la hoja en una misma especie cambia de acuerdo al ambiente.



Figura 24. Hoja ancestral del género *Ipomoea*. Al centro se muestra la hoja ancestral del género, ovada, con ápice acuminado, margen entero, base cordada y peciolada. Imagen BHH.

CONCLUSIONES

- La filogenia obtenida en este trabajo es la filogenia para *Ipomoea* con el mayor muestreo taxonómico que existe hasta el momento. Si bien el uso únicamente de ITS para la inferencia filogenética puede limitar la resolución de las relaciones filogenéticas, posibilitó un mayor muestreo taxonómico.
- Los análisis de este trabajo sugieren que la hoja del ancestro común más reciente del género *Ipomoea* fue de forma ovada, con ápice acuminado, margen entero, base cordada, peciolada y con un área foliar de entre 25 a 50 cm².
- Todos los caracteres analizados presentan baja señal filogenética ($K=0.0024$ a 0.0377 para caracteres continuos y de 0.0026 a 0.0207 para caracteres categóricos).
- El ápice y la base foliar son caracteres lábiles, las transiciones de un estado de carácter a otro pueden darse en cualquier dirección sin importar el estado de carácter previo. Por otro lado, el margen, peciolo y tipo de hoja (simple o compuesta) son caracteres que, aunque no presentan señal filogenética, tiene pocas transiciones a lo largo de cada rama.
- Los resultados de señal filogenética, mapeo estocástico de caracteres y reconstrucción de estados ancestrales para caracteres continuos y categóricos sugieren que la historia evolutiva compartida de las especies no limita la evolución de la diversidad foliar que observamos en *Ipomoea*, lo cual sugiere que factores climáticos y genéticos podrían tener influencia como moldeadores de la evolución foliar en este grupo.
- Las especies no muestreadas en este trabajo son diversas en cuanto a su morfología foliar y su posición filogenética, se espera que los patrones evolutivos en la forma de la hoja de *Ipomoea* documentados en este trabajo sean robustos a un aumento en el muestreo taxonómico.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

Acevedo-Rodríguez, C. J. & González-Torres, L. R. (2015) 'Diversidad de grupos funcionales en la vegetación de la costa arenosa de los cayos Grande, Anclitas y Caguamas (archipiélago de los Jardines de la Reina Cuba)', *Botanica Complutensis*, 39, pp. 97–104. doi: 10.5209/rev-BOCM.2015.v39.49138.

Adams, D. C., Rohlf, F. J. & Slice, D. E. (2004) 'Geometric Morphometrics: Ten years of progress following the "revolution"', *Journal of Zoology*, 71(1), pp. 5–16. doi: 10.1080/11250000409356545.

Austin, D. F. & Huáman, Z. (1996) 'A synopsis of Ipomoea (Convolvulaceae) in the Americas', *Taxon*, 45(1), pp. 3–38.

Ayala Robledo, G. (2015) 'Inferencia del clima y elevación de la formación Olmos, Coahuila, México, del Cretácico tardío (Maestrichtiano) mediante la fisonomía de hojas y determinación de nuevo material.' México: Universidad Nacional Autónoma de México, pp. 1–152.

Bailey, T. L. & Elkan, C. (1994) 'Fitting a mixture model by expectation maximization to discover motifs in biopolymers.', *Proceedings : International Conference on Intelligent Systems for Molecular Biology*, 2, pp. 28–36.

Barbosa, M. A. M. *et al.* (2019) 'Bundle sheath extensions affect leaf structural and physiological plasticity in response to irradiance', *Plant Cell and Environment*, 42(5), pp. 1575–1589. doi: 10.1111/pce.13495.

Barlow, B. A. & Wiens, D. (1977) 'Host-Parasite Resemblance in Australian Mistletoes: The case for cryptic mimicry', *Evolution*, 31(1), p. 69. doi: 10.2307/2407546.

Beentje, H. (2010) *The Kew Plant Glossary. An illustrated dictionary of plant terms.* UK by Hobb. Edited by Sharon Whitehead. Royal Botanic Gardens, Kew.

Beerling, D. J. & Berner, R. A. (2005) 'Feedbacks and the coevolution of plants and atmospheric CO₂', *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102(5), pp. 1302–1305. doi: 10.1073/pnas.0408724102.

Bharathan, G. *et al.* (2002) 'Homologies in leaf form inferred from KNOXI gene expression during development.', *Science*, 296(June), pp. 1858–1860.

Bilsborough, G. D. *et al.* (2011) 'Model for the regulation of Arabidopsis thaliana leaf margin development', *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108(8), pp. 3424–3429. doi: 10.1073/pnas.1015162108.

Blomberg, S. P., Garland, T. & Ives, A. R. (2003) 'Testing for phylogenetic signal in comparative data: Behavioral traits are more labile', *Evolution*, 57(4), pp. 717–745. doi: 10.1111/j.0014-3820.2003.tb00285.x.

- Bright, K. L. & Rausher, M. D. (2008) 'Natural selection on a leaf-shape polymorphism in the ivyleaf morning glory (*Ipomoea hederacea*)', *Evolution*, 62(8), pp. 1978–1990. doi: 10.1111/j.1558-5646.2008.00416.x.
- Brown, V. K. & Lawton, J. H. (1991) 'Herbivory and the evolution of leaf size and shape', *Philosophical Transactions - Royal Society of London, B*, 333(1267), pp. 265–272. doi: 10.1098/rstb.1991.0076.
- Byrne, M. E. (2012) 'Making leaves', *Current Opinion in Plant Biology*. Elsevier Ltd, 15(1), pp. 24–30. doi: 10.1016/j.pbi.2011.10.009.
- Cadotte, M. W. & Davies, T. J. (2016) *Phylogenies in Ecology: A Guide to Concepts and Methods*. Princeton University Press. doi: doi:10.1515/9781400881192.
- Calvillo-Canadell, L. & Cevallos-Ferriz, S. R. S. (2005) 'Diverse assemblage of eocene and oligocene leguminosae from Mexico', *International Journal of Plant Sciences*, 166(4), pp. 671–692. doi: 10.1086/430096.
- Chen, J. J. *et al.* (1997) 'A gene fusion at a homeobox locus: Alterations in leaf shape and implications for morphological evolution', *Plant Cell*, 9(8), pp. 1289–1304. doi: 10.1105/tpc.9.8.1289.
- Chitwood, D. H. *et al.* (2014) 'A modern ampelography: A genetic basis for leaf shape and venation patterning in grape', *Plant Physiology*, 164(1), pp. 259–272. doi: 10.1104/pp.113.229708.
- Chitwood, D. H. *et al.* (2016) 'Climate and developmental plasticity: Interannual plasticity in grapevine leaf morphology', *Plant Physiology*, 170(3), pp. 1480–1491. doi: 10.1104/pp.15.01825.
- Chitwood, D. H. (2020) 'The shapes of wine and table grape leaves: An ampelometric study inspired by the methods of Pierre Galet', *Plants, People, Planet*, pp. 1–16. doi: 10.1002/ppp3.10157.
- Chitwood, D. H. & Otoni, W. C. (2017) 'Morphometric analysis of *Passiflora* leaves: The relationship between landmarks of the vasculature and elliptical Fourier descriptors of the blade', *GigaScience*, 6(1), pp. 1–13. doi: 10.1093/gigascience/giw008.
- Chuanromanee, T. S., Cohen, J. I. & Ryan, G. L. (2019) 'Morphological analysis of size and shape (MASS): An integrative software program for morphometric analyses of leaves', *Applications in Plant Sciences*, 7(9), pp. 1–9. doi: 10.1002/aps3.11288.
- Coleman, A. W. (2003) 'ITS2 is a double-edged tool for eukaryote evolutionary comparisons', *Trends in Genetics*, 19(7), pp. 370–375. doi: 10.1016/S0168-9525(03)00118-5.
- Cunningham, C. W., Omland, K. E. & Oakley, T. H. (1998) 'Reconstructing ancestral character states: A critical reappraisal', *Trends in Ecology and Evolution*, 13(9), pp. 361–366. doi: 10.1016/S0169-5347(98)01382-2.

- Dehon, M. *et al.* (2019) ‘Morphometric analysis of fossil bumble bees (Hymenoptera, apidae, bombini) reveals their taxonomic affinities’, *ZooKeys*, 2019(891), pp. 71–118. doi: 10.3897/zookeys.891.36027.
- Demmings, E. M. *et al.* (2019) ‘Quantitative trait locus Analysis of leaf morphology indicates conserved shape loci in Grapevine’, *Frontiers in Plant Science*, 10(November), pp. 1–11. doi: 10.3389/fpls.2019.01373.
- Dilcher, D. L. (1974) ‘Approaches to the identification of angiosperm leaf remains.’, *The Botanical Review*, 40(1), pp. 1–157. doi: 10.1134/S0031030108050109.
- Dorado-Ruiz, O. *et al.* (2016) *Flora ilustrada del trópico seco de Morelos: Convolvulaceae del trópico seco. Fascículo 1*. Universidad Autónoma del Estado de Morelos.
- Drummond, A. J. & Rambaut, A. (2015) ‘Bayesian evolutionary analysis by sampling trees’, *Bayesian Evolutionary Analysis with BEAST*, 8, pp. 79–96. doi: 10.1017/CBO9781139095112.007.
- Ellis, B. *et al.* (2009) *Manual of Leaf Architecture*. United States of America: The New York Botanical Garden.
- Elmore, C. D. (1986) ‘Mode of Reproduction and Inheritance of Leaf Shape in Ipomoea hederacea’, *Weed Science*, 34(3), pp. 391–395. doi: 10.1017/s0043174500067047.
- Espinosa, D. & Llorente, Y. J. (1996) ‘Biología Comparada’, pp. 11–14.
- Evkaikina, A. I. *et al.* (2017) ‘The Huperzia selago shoot tip transcriptome sheds new light on the evolution of leaves’, *Genome Biology and Evolution*, 9(9), pp. 2444–2460. doi: 10.1093/gbe/evx169.
- Felsenstein, J. (1985) ‘Phylogenies and the comparative method’, *American Society of Naturalists*, 125(1), pp. 1–15.
- Fennell, M. *et al.* (2012) ‘Plant Spread Simulator: A model for simulating large-scale directed dispersal processes across heterogeneous environments’, *Ecological Modelling*. Elsevier B.V., 230, pp. 1–10. doi: 10.1016/j.ecolmodel.2012.01.008.
- Ferris, K. G. (2019) ‘Endless forms most functional: uncovering the role of natural selection in the evolution of leaf shape’, *American Journal of Botany*, 106(12), pp. 1532–1535. doi: 10.1002/ajb2.1398.
- Floyd, S. K. & Bowman, J. L. (2006) ‘Distinct Developmental Mechanisms Reflect the Independent Origins of Leaves in Vascular Plants’, *Current Biology*, 16(19), pp. 1911–1917. doi: 10.1016/j.cub.2006.07.067.
- Freyman, W. A. & Höhna, S. (2019) ‘Stochastic character mapping of state-dependent diversification reveals the tempo of evolutionary decline in self-compatible Onagraceae lineages’, *Systematic Biology*, 68(3), pp. 505–519. doi: 10.1093/sysbio/syy078.

- Fritsch, P. W. *et al.* (2018) 'Leaf adaptations and species boundaries in North American *Cercis*: implications for the evolution of dry floras', *American Journal of Botany*, 105(9), pp. 1577–1594. doi: 10.1002/ajb2.1155.
- Givnish, T. J. (1984) 'Leaf and adaptations in tropical forests', *Physiological ecology of Plants of the wet tropics*, 12, pp. 51–84. Available at: <http://www.springerlink.com/index/10.1007/978-94-009-7299-5>.
- Givnish, T. J. (1987) 'Comparative Studies of Leaf Form: Assessing the relative roles of selective pressures and phylogenetic constraints', *New Phytologist*, 106(1), pp. 131–160. doi: 10.1111/j.1469-8137.1987.tb04687.x.
- Hareven, D. *et al.* (1996) 'The making of a compound leaf: Genetic manipulation of leaf architecture in tomato', *Cell*, 84(5), pp. 735–744. doi: 10.1016/S0092-8674(00)81051-X.
- Harrison, C. J. *et al.* (2005) 'Independent recruitment of a conserved developmental mechanism during leaf evolution', *Nature*, 434(7032), pp. 509–514. doi: 10.1038/nature03380.
- Hickey, L. J. (1973) 'Classification of the Architecture of Dicotyledonous Leaves', *American Journal of Botany*, 60(1), pp. 17–33.
- Hoang, D. T. *et al.* (2007) 'UFBoot2: Improving the Ultrafast Bootstrap Approximation. Molecular biology and evolution.', *Molecular Biology and Evolution*, 35(2), pp. 518–522. doi: 10.5281/zenodo.854445.
- Holland, B. R. *et al.* (2020) 'Accuracy of ancestral state reconstruction for non-neutral traits', *Scientific Reports*, 10(1), pp. 1–10. doi: 10.1038/s41598-020-64647-4.
- Janssen, B. J. *et al.* (1998) 'Isolation and characterization of two knotted-like homeobox genes from tomato', *Plant Molecular Biology*, 36(3), pp. 417–425. doi: 10.1023/A:1005925508579.
- Jones, C. S. *et al.* (2009) 'Leaf shape evolution in the South African genus *Pelargonium l' hér.* (Geraniaceae)', *Evolution*, 63(2), pp. 479–497. doi: 10.1111/j.1558-5646.2008.00552.x.
- Katoh, K., Rozewicki, J. & Yamada, K. D. (2017) 'MAFFT online service: multiple sequence alignment, interactive sequence choice and visualization', *Briefings in Bioinformatics*, pp. 1–7. doi: 10.1093/bib/bbx108.
- Kim, K. J. & Jansen, R. K. (1995) 'ndhF sequence evolution and the major clades in the sunflower family', *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 92(22), pp. 10379–10383. doi: 10.1073/pnas.92.22.10379.
- Korotkova, N. *et al.* (2014) 'Variability among the most rapidly evolving plastid genomic regions is lineage-specific: Implications of pairwise genome comparisons in *Pyrus* (Rosaceae) and other angiosperms for marker choice', *PLoS ONE*, 9(11). doi: 10.1371/journal.pone.0112998.
- Langdale, J. A. (2008) 'Evolution of developmental mechanisms in plants', *Current Opinion in Genetics and Development*, 18(4), pp. 368–373. doi: 10.1016/j.gde.2008.05.003.

- Maddison, W. P. & Maddison, D. R. (2011) *Mesquite: a modular system for evolutionary analysis. Version 2.75.*, <http://mesquiteproject.org>.
- Malhado, A. C. M. *et al.* (2012) ‘Drip-tips are Associated with Intensity of Precipitation in the Amazon Rain Forest’, *Biotropica*, 44(6), pp. 728–737. doi: 10.1111/j.1744-7429.2012.00868.x.
- Martínez Cabrera, D., Terrazas, T. & Ochoterena, H. (2007) ‘Leaf architecture of Hamelieae (Rubiaceae)’, *Feddes Repertorium*, 118, pp. 286–310. doi: 10.1002/fedr.200711.
- Martins, E. P. (2000) ‘Adaptation and the comparative method’, *Trends in Ecology and Evolution*, 15(7), pp. 296–299. doi: 10.1016/S0169-5347(00)01880-2.
- McIntyre, P. J. & Strauss, S. Y. (2014) ‘Phenotypic and transgenerational plasticity promote local adaptation to sun and shade environments’, *Evolutionary Ecology*, 28(2), pp. 229–246. doi: 10.1007/s10682-013-9670-y.
- Molina-Venegas, R. & Rodríguez, M. (2017) ‘Revisiting phylogenetic signal; strong or negligible impacts of polytomies and branch length information?’, *BMC Evolutionary Biology*. *BMC Evolutionary Biology*, 17(1), pp. 1–10. doi: 10.1186/s12862-017-0898-y.
- Moreno, N. (1984) *Glosario Botánico Ilustrado*. Primera ed. México: Instituto Nacional de Investigaciones sobre Recursos Bióticos.
- Muiruri, E. W. *et al.* (2019) ‘Forest diversity effects on insect herbivores: do leaf traits matter?’, *New Phytologist*, 221(4), pp. 2250–2260. doi: 10.1111/nph.15558.
- Muñoz-Rodríguez, P. *et al.* (2019) ‘A taxonomic monograph of *Ipomoea* integrated across phylogenetic scales’, *Nature Plants*. Springer US, 5(11), pp. 1136–1144. doi: 10.1038/s41477-019-0535-4.
- Nicotra, A. B. *et al.* (2015) ‘Adaptive plasticity and epigenetic variation in response to warming in an Alpine plant’, *Ecology and Evolution*, 5(3), pp. 634–647. doi: 10.1002/ece3.1329.
- Nielsen, R. (2002) ‘Mapping mutations on phylogenies’, *Systematic Biology*, 51(5), pp. 729–739. doi: 10.1080/10635150290102393.
- Nylander, J. A. A. (2004) ‘MrModeltest v2. Program distributed by the author’, *Evolutionary Biology Centre Uppsala University*, 2, pp. 1–2. Available at: <http://scholar.google.com/scholar?hl=en&btnG=Search&q=intitle:MrModeltest#0>.
- Paradis, E., Claude, J. & Strimmer, K. (2004) ‘APE: Analyses of phylogenetics and evolution in R language’, *Bioinformatics*, 20(2), pp. 289–290. doi: 10.1093/bioinformatics/btg412.
- Pérez Mausán, A. I. (2016) ‘Densidad de venas en hojas fósiles de las localidades Miocénicas de San Esteban Tizatlán, Tlaxcala e Ixtapa, Chiapas, método para su uso como posible herramienta en la interpretación paleoclimática.’ Universidad Nacional Autónoma de México, pp. 1–63.
- Rambaut, A. (2010) *FigTree v1.3.1*. Institute of Evolutionary Biology, University of Edinburgh,

- Edinburgh*. Available at: <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/> (Accessed: 25 August 2018).
- Rasband, W.S. (2019). ImageJ, U. S. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA, <https://imagej.nih.gov/ij/>, 1997-2018.
- Revell, L. J. (2013) ‘Two new graphical methods for mapping trait evolution on phylogenies’, *Methods in Ecology and Evolution*, 4(8), pp. 754–759. doi: 10.1111/2041-210X.12066.
- Revell, L. J., Harmon, L. J. & Collar, D. C. (2008) ‘Phylogenetic signal, evolutionary process, and rate.’, *Systematic biology*, 57(4), pp. 591–601. doi: 10.1080/10635150802302427.
- Ronquist, F. *et al.* (2012) ‘Mrbayes 3.2: Efficient bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space’, *Systematic Biology*, 61(3), pp. 539–542. doi: 10.1093/sysbio/sys029.
- Royer, D. L. *et al.* (2009) ‘Phenotypic plasticity of leaf shape along a temperature gradient in *Acer rubrum*’, *PLoS ONE*, 4(10). doi: 10.1371/journal.pone.0007653.
- Royer, D. L. & Wilf, P. (2006) ‘Why do toothed leaves correlate with cold climates? Gas exchange at leaf margins provides new insights into a classic paleotemperature proxy’, *International Journal of Plant Sciences*, 167(1), pp. 11–18. doi: 10.1086/497995.
- RStudio Team (2021). RStudio: Integrated Development for R. RStudio, PBC, Boston, MA URL <http://www.rstudio.com/>.
- Sack, L. & Frole, K. (2006) ‘Leaf structural diversity is related to hydraulic capacity in tropical rain forest trees’, *Ecology*, 87(2), pp. 483–491. doi: 10.1890/05-0710.
- Savriama, Y. (2018) ‘A Step-by-step guide for geometric morphometrics of floral symmetry’, *Frontiers in Plant Science*, 9(October), pp. 1–23. doi: 10.3389/fpls.2018.01433.
- Schuepp, P. H. (1993) ‘Leaf Boundary Layers’, *The New Phytologist*, 125(3), pp. 477–507.
- Scotland, R. W. (2010) ‘Deep homology: A view from systematics’, *BioEssays*, 32(5), pp. 438–449. doi: 10.1002/bies.200900175.
- Shani, E. *et al.* (2009) ‘Stage-specific regulation of solanum lycopersicum leaf maturation by class 1 KNOTTED1-LIKE HOMEODOMAIN PROTEIN1’, *Plant Cell*, 21(10), pp. 3078–3092. doi: 10.1105/tpc.109.068148.
- Simpson, Michael G. (2006). *Plant Systematics*. Amsterdam: Elsevier/Academic Press, 2006. Print.
- Skelton, R. P. *et al.* (2018) ‘Low Vulnerability to Xylem Embolism in Leaves and Stems of North American Oaks’, *Plant Physiology*, 177(3), pp. 1066–1077. doi: 10.1104/pp.18.00103.
- Smith, S. D. & Kriebel, R. (2018) ‘Convergent evolution of floral shape tied to pollinator shifts in *Lochrominae* (Solanaceae)’, *Evolution*, 72(3), pp. 688–697. doi: 10.1111/evo.13416.

- Song, J. *et al.* (2012) ‘Extensive Pyrosequencing Reveals Frequent Intra-Genomic Variations of Internal Transcribed Spacer Regions of Nuclear Ribosomal DNA’, *PLoS ONE*, 7(8). doi: 10.1371/journal.pone.0043971.
- Stefanović, S., Austin, D. F. & Olmstead, R. G. (2003) ‘Classification of Convolvulaceae : A Phylogenetic Approach’, 28(4), pp. 791–806.
- Tomescu, A. M. F. (2009) ‘Megaphylls, microphylls and the evolution of leaf development’, *Trends in Plant Science*, 14(1), pp. 5–12. doi: 10.1016/j.tplants.2008.10.008.
- Tyree, M. T. & Sperry, J. S. (1989) ‘Vulnerability of Xylem to Cavitation and Embolism’, *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 40(1), pp. 19–36. doi: 10.1146/annurev.pp.40.060189.000315.
- Vasco, A. & Ambrose, B. A. (2020) ‘Simple and divided leaves in ferns: Exploring the genetic basis for leaf morphology differences in the genus *elaphoglossum* (dryopteridaceae)’, *International Journal of Molecular Sciences*, 21(15), pp. 1–20. doi: 10.3390/ijms21155180.
- Villaseñor, J. L. (2016) ‘Catálogo de las plantas vasculares nativas de México’, *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 87(3), pp. 559–902. doi: 10.1016/j.rmb.2016.06.017.
- Vitek, N. S. (2018) *Delineating modern variation from extinct morphology in the fossil record using shells of the Eastern Box Turtle (Terrapene carolina)*, *PLoS ONE*. doi: 10.1371/journal.pone.0193437.
- Vogel, S. (1970) ‘Convective cooling at low airspeeds and the shapes of broad leaves’, *Journal of Experimental Botany*, 21(1), pp. 91–101. doi: 10.1093/jxb/21.1.91.
- Vogel, S. (2009) ‘Leaves in the lowest and highest winds: Temperature, force and shape: Tansley review’, *New Phytologist*, 183(1), pp. 13–26. doi: 10.1111/j.1469-8137.2009.02854.x.
- Vuolo, F. *et al.* (2016) ‘Coupled enhancer and coding sequence evolution of a homeobox gene shaped leaf diversity’, *Genes and Development*, 30(21), pp. 2370–2376. doi: 10.1101/gad.290684.116.
- Wang, T. *et al.* (2020) ‘Apex structures enhance water drainage on leaves’, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 117(4), pp. 1890–1894. doi: 10.1073/pnas.1909924117.
- Wood, J. R. I. *et al.* (2020) ‘A foundation monograph of ipomoea (convolvulaceae) in the new world’, *PhytoKeys*, 143, pp. 1–823. doi: 10.3897/PHYTOKEYS.143.32821.

ANEXO 1

Listado de especies incluidas en la nueva filogenia realizada en este trabajo con el marcador ITS. Proporcionadas por el Dr. Pablo Muñoz (U. de Oxford, Reino Unido).

n	Especie	Grupo
1	<i>Bonamia media</i>	externo
2	<i>Calystegia howittiorum</i>	externo
3	<i>Calystegia pellita</i>	externo
4	<i>Calystegia pubescens</i>	externo
5	<i>Calystegia pulchra</i>	externo
6	<i>Calystegia sepium</i>	externo
7	<i>Calystegia silvatica</i>	externo
8	<i>Calystegia soldanella</i>	externo
9	<i>Convolvulus floridus</i>	externo
10	<i>Cressa cretica</i>	externo
11	<i>Cressa truxillensis</i>	externo
12	<i>Dichondra carolinensis</i>	externo
13	<i>Dichondra repens</i>	externo
14	<i>Erycibe obtusifolia</i>	externo
15	<i>Evolvulus alsinoides</i>	externo
16	<i>Evolvulus glomeratus</i>	externo
17	<i>Evolvulus nuttallianus</i>	externo
18	<i>Hewittia malabarica</i>	externo
19	<i>Humbertia madagascariensis</i>	externo
20	<i>Jacquemontia blanchetii</i>	externo
21	<i>Jacquemontia cayensis</i>	externo
22	<i>Jacquemontia curtissii</i>	externo
23	<i>Jacquemontia ekmanii</i>	externo
24	<i>Jacquemontia havanensis</i>	externo
25	<i>Jacquemontia mexicana</i>	externo
26	<i>Jacquemontia nipensis</i>	externo
27	<i>Jacquemontia ovalifolia</i>	externo
28	<i>Operculina hamiltonii</i>	externo
29	<i>Operculina pteripes</i>	externo
30	<i>Operculina turpethum</i>	externo
31	<i>Seddera latifolia</i>	externo
32	<i>Solanum tuberosum</i>	externo
33	<i>Stylisma humistrata</i>	externo
34	<i>Stylisma patens</i>	externo
35	<i>Ipomoea abrupta</i>	interno
36	<i>Ipomoea abutiloides</i>	interno

37	<i>Ipomoea acanthocarpa</i>	interno
38	<i>Ipomoea aculeata</i>	interno
39	<i>Ipomoea acutisepala</i>	interno
40	<i>Ipomoea adenioides</i>	interno
41	<i>Ipomoea aff. hirsutissima</i>	interno
42	<i>Ipomoea aff. plebeia</i>	interno
43	<i>Ipomoea aff. spinulifera</i>	interno
44	<i>Ipomoea aff. theodori</i>	interno
45	<i>Ipomoea alba</i>	interno
46	<i>Ipomoea albivenia</i>	interno
47	<i>Ipomoea alterniflora</i>	interno
48	<i>Ipomoea amazonica</i>	interno
49	<i>Ipomoea amnicola</i>	interno
50	<i>Ipomoea amnicola chiliantha</i>	interno
51	<i>Ipomoea ampullacea</i>	interno
52	<i>Ipomoea ancisa</i>	interno
53	<i>Ipomoea androyensis</i>	interno
54	<i>Ipomoea angustissima</i>	interno
55	<i>Ipomoea appendiculata</i>	interno
56	<i>Ipomoea aprica</i>	interno
57	<i>Ipomoea aquatica</i>	interno
58	<i>Ipomoea arborescens</i>	interno
59	<i>Ipomoea argentaurata</i>	interno
60	<i>Ipomoea argentea</i>	interno
61	<i>Ipomoea argentifolia</i>	interno
62	<i>Ipomoea argentinica</i>	interno
63	<i>Ipomoea argillicola</i>	interno
64	<i>Ipomoea argyreia</i>	interno
65	<i>Ipomoea aristolochiifolia</i>	interno
66	<i>Ipomoea asarifolia</i>	interno
67	<i>Ipomoea asplundii</i>	interno
68	<i>Ipomoea asterophora</i>	interno
69	<i>Ipomoea attenuata</i>	interno
70	<i>Ipomoea aurantiaca</i>	interno
71	<i>Ipomoea aurifolia</i>	interno
72	<i>Ipomoea australis</i>	interno
73	<i>Ipomoea austroindica</i>	interno
74	<i>Ipomoea bahiensis</i>	interno
75	<i>Ipomoea bakeri</i>	interno
76	<i>Ipomoea barbatisepala</i>	interno
77	<i>Ipomoea barteri</i>	interno
78	<i>Ipomoea batatas</i>	interno
79	<i>Ipomoea batatoides</i>	interno
80	<i>Ipomoea bathycolpos</i>	interno

81	<i>Ipomoea beraviensis</i>	interno
82	<i>Ipomoea bernouilliana</i>	interno
83	<i>Ipomoea biflora</i>	interno
84	<i>Ipomoea biflora blepharosepa</i>	interno
85	<i>Ipomoea binectarifera</i>	interno
86	<i>Ipomoea blanchetii</i>	interno
87	<i>Ipomoea blepharophylla</i>	interno
88	<i>Ipomoea bombycina</i>	interno
89	<i>Ipomoea bonariensis</i>	interno
90	<i>Ipomoea borneoensis</i>	interno
91	<i>Ipomoea bracteata</i>	interno
92	<i>Ipomoea brasiliana</i>	interno
93	<i>Ipomoea brasiliana subincana</i>	interno
94	<i>Ipomoea brassii</i>	interno
95	<i>Ipomoea breviscapa</i>	interno
96	<i>Ipomoea buchananii</i>	interno
97	<i>Ipomoea bullata</i>	interno
98	<i>Ipomoea burchellii</i>	interno
99	<i>Ipomoea cairica</i>	interno
100	<i>Ipomoea calobra</i>	interno
101	<i>Ipomoea caloneura</i>	interno
102	<i>Ipomoea calyptrata</i>	interno
103	<i>Ipomoea cambodiensis</i>	interno
104	<i>Ipomoea campanulata</i>	interno
105	<i>Ipomoea capillacea</i>	interno
106	<i>Ipomoea capitiformis</i>	interno
107	<i>Ipomoea cardenasiana</i>	interno
108	<i>Ipomoea cardiophylla</i>	interno
109	<i>Ipomoea carnea</i>	interno
110	<i>Ipomoea carnea fistulosa</i>	interno
111	<i>Ipomoea carolina</i>	interno
112	<i>Ipomoea cavalcantei</i>	interno
113	<i>Ipomoea cerradoensis</i>	interno
114	<i>Ipomoea chamelana</i>	interno
115	<i>Ipomoea chapadensis</i>	interno
116	<i>Ipomoea cheirophylla</i>	interno
117	<i>Ipomoea chenopodiifolia</i>	interno
118	<i>Ipomoea chilopsidis</i>	interno
119	<i>Ipomoea chiquitensis</i>	interno
120	<i>Ipomoea chiriquensis</i>	interno
121	<i>Ipomoea chloroneura</i>	interno
122	<i>Ipomoea cholulensis</i>	interno
123	<i>Ipomoea chondrosepala</i>	interno
124	<i>Ipomoea chrysochaetia</i>	interno

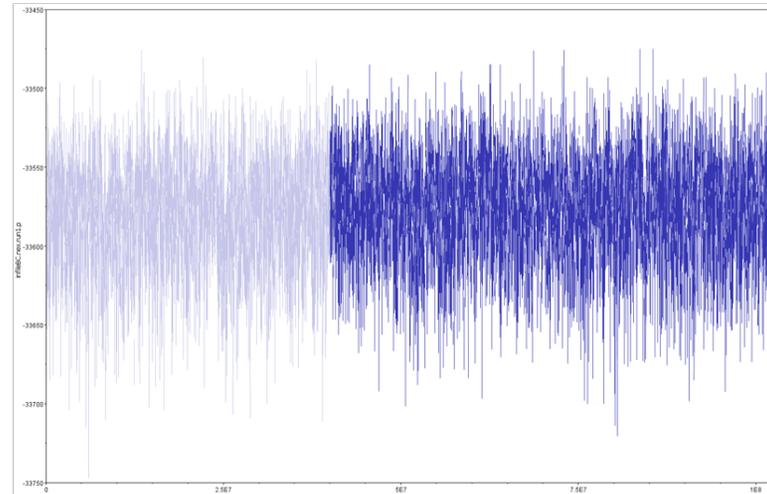
125	<i>Ipomoea chrysosperma</i>	interno
126	<i>Ipomoea cicatricosa</i>	interno
127	<i>Ipomoea ciervensis</i>	interno
128	<i>Ipomoea citrina</i>	interno
129	<i>Ipomoea clausa</i>	interno
130	<i>Ipomoea clavata</i>	interno
131	<i>Ipomoea coccinea</i>	interno
132	<i>Ipomoea connata</i>	interno
133	<i>Ipomoea konzattii</i>	interno
134	<i>Ipomoea optica</i>	interno
135	<i>Ipomoea cordatotriloba</i>	interno
136	<i>Ipomoea cordofana</i>	interno
137	<i>Ipomoea coriacea</i>	interno
138	<i>Ipomoea corymbosa</i>	interno
139	<i>Ipomoea coscinosperma</i>	interno
140	<i>Ipomoea costata</i>	interno
470	<i>Ipomoea teotitlanica</i>	interno
471	<i>Ipomoea ternata</i>	interno
472	<i>Ipomoea ternifolia leptotoma</i>	interno
473	<i>Ipomoea theodori</i>	interno
474	<i>Ipomoea thurberi</i>	interno
475	<i>Ipomoea ticcopa</i>	interno
476	<i>Ipomoea tiliacea</i>	interno
477	<i>Ipomoea tiliifolia</i>	interno
478	<i>Ipomoea transvaalensis</i>	interno
479	<i>Ipomoea tricolor</i>	interno
480	<i>Ipomoea trifida</i>	interno
481	<i>Ipomoea triflora</i>	interno
482	<i>Ipomoea triloba</i>	interno
483	<i>Ipomoea tuberculata</i>	interno
484	<i>Ipomoea tuberculata odontose</i>	interno
485	<i>Ipomoea tuboides</i>	interno
486	<i>Ipomoea tubulata</i>	interno
487	<i>Ipomoea ugandensis</i>	interno
488	<i>Ipomoea uninervis</i>	interno
489	<i>Ipomoea urbaniana</i>	interno
490	<i>Ipomoea urceolata</i>	interno
491	<i>Ipomoea vagans</i>	interno
492	<i>Ipomoea vahibora</i>	interno
493	<i>Ipomoea valenzuelensis</i>	interno
494	<i>Ipomoea velardei</i>	interno
495	<i>Ipomoea venosa</i>	interno
496	<i>Ipomoea verbascoidea</i>	interno
497	<i>Ipomoea verticillata</i>	interno

498	<i>Ipomoea villifera</i>	interno
499	<i>Ipomoea violacea</i>	interno
500	<i>Ipomoea virgata</i>	interno
501	<i>Ipomoea vivianae</i>	interno
502	<i>Ipomoea volkensis</i>	interno
503	<i>Ipomoea wangii</i>	interno
504	<i>Ipomoea welwitschii</i>	interno
505	<i>Ipomoea wightii</i>	interno
506	<i>Ipomoea wolcottiana</i>	interno
507	<i>Ipomoea x multifida</i>	interno

ANEXO 2

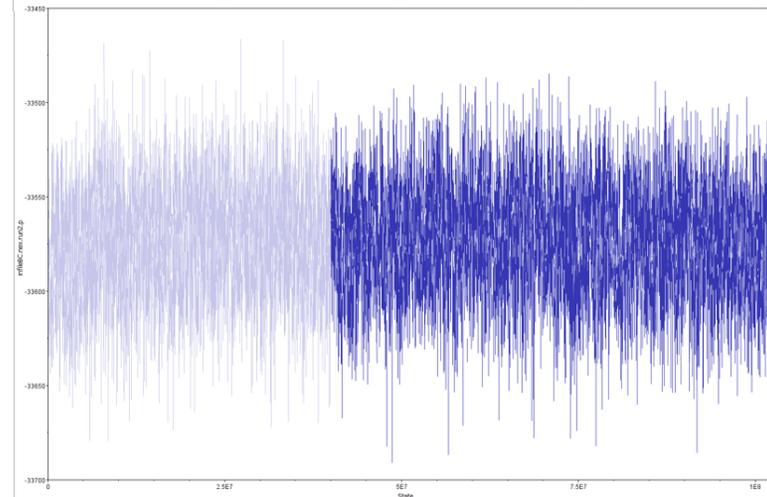
Visualización de convergencia de cadenas de dos análisis bayesianos independientes. La corrida uno y dos corresponden al análisis de 143,235,000 generaciones y la corrida 3 y 4 corresponden al análisis de 138,705,000 generaciones.

Corrida 1



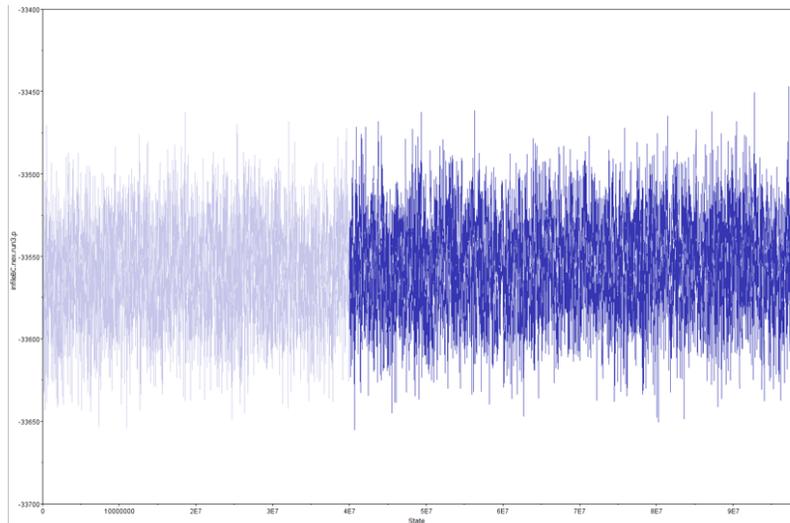
Estadística	Media	ESS
LnL	-33574.5...	2020
LnPr	-261.881	6029
TL	25.12	6030
r(A<->C)	0.113	9949
r(A<->G)	0.207	8721
r(A<->T)	0.143	9377
r(C<->G)	7.111E-2	8644
r(C<->T)	0.363	7226
r(G<->T)	0.103	10525
pi(A)	0.206	7395
pi(C)	0.298	6761
pi(G)	0.249	7734
pi(T)	0.246	8104
alpha	0.46	10094

Corrida 2



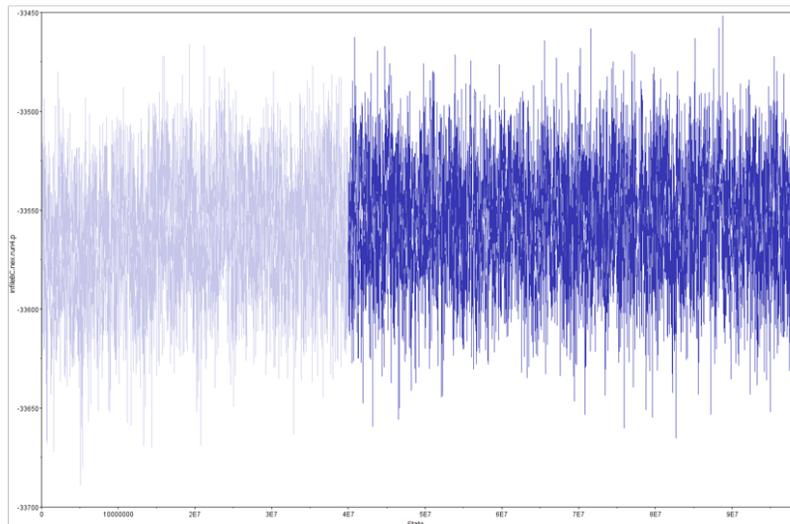
Estadística	Media	ESS
LnL	-33571.8...	2104
LnPr	-245.4	2928
TL	24.716	2951
r(A<->C)	0.113	10168
r(A<->G)	0.21	5721
r(A<->T)	0.143	9527
r(C<->G)	7.105E-2	8879
r(C<->T)	0.36	5756
r(G<->T)	0.103	7325
pi(A)	0.205	8280
pi(C)	0.299	5439
pi(G)	0.249	7162
pi(T)	0.246	5498
alpha	0.46	9902

Corrida 3



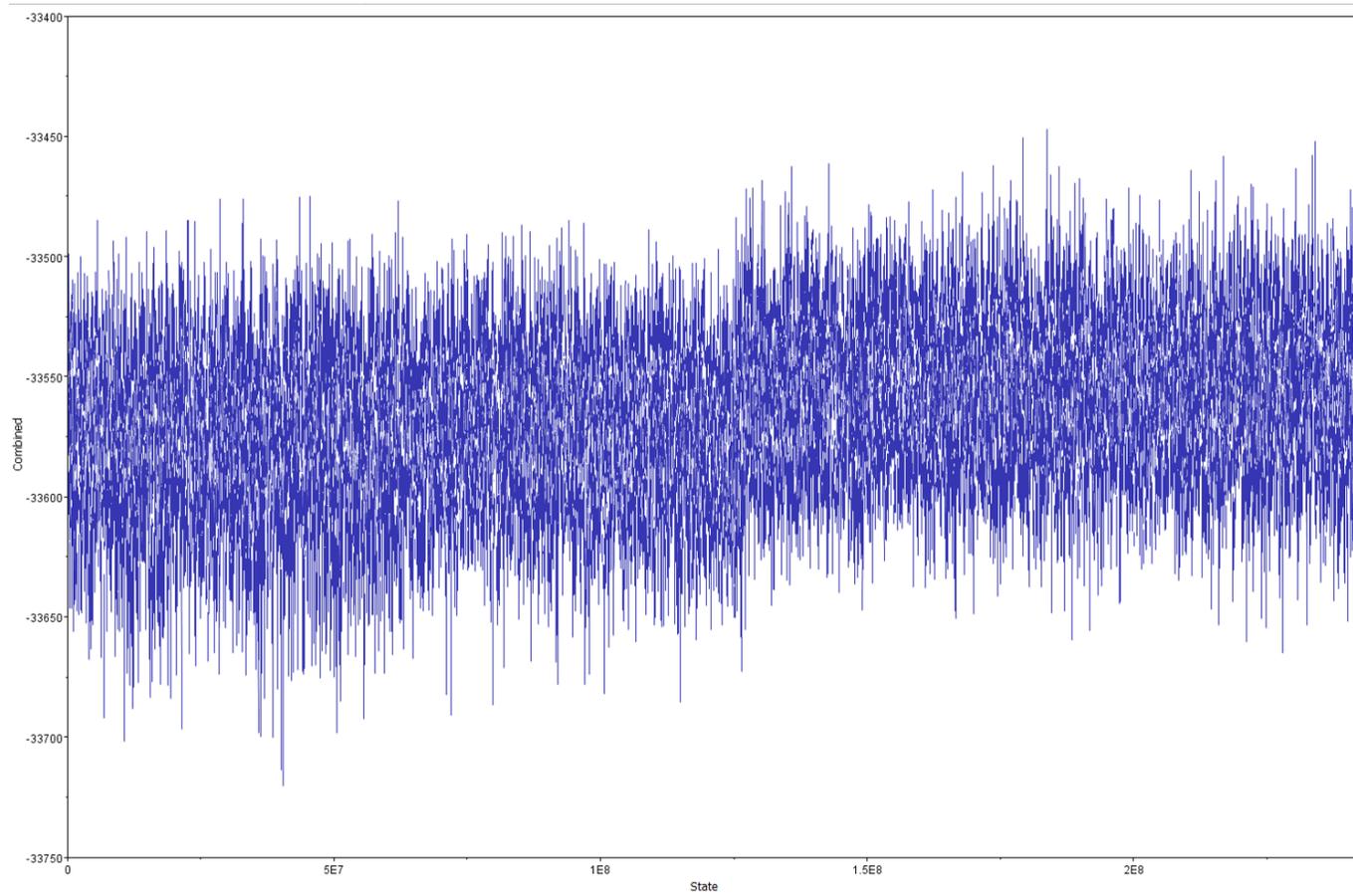
Estadística	Media	ESS
LnL	-33553.5...	2218
LnPr	-258.255	5892
TL	25.03	5909
r(A<->C)	0.113	5107
r(A<->G)	0.21	7238
r(A<->T)	0.142	8689
r(C<->G)	7.175E-2	7790
r(C<->T)	0.361	8431
r(G<->T)	0.103	4628
pi(A)	0.206	8507
pi(C)	0.298	6246
pi(G)	0.249	7469
pi(T)	0.248	8615
alpha	0.461	7626

Corrida 4



Estadística	Media	ESS
LnL	-33554.3...	2127
LnPr	-258.189	6375
TL	25.029	6368
r(A<->C)	0.113	7995
r(A<->G)	0.209	8286
r(A<->T)	0.141	10013
r(C<->G)	7.207E-2	7341
r(C<->T)	0.361	7751
r(G<->T)	0.104	7670
pi(A)	0.207	7091
pi(C)	0.298	7970
pi(G)	0.248	8531
pi(T)	0.248	8392
alpha	0.46	9175

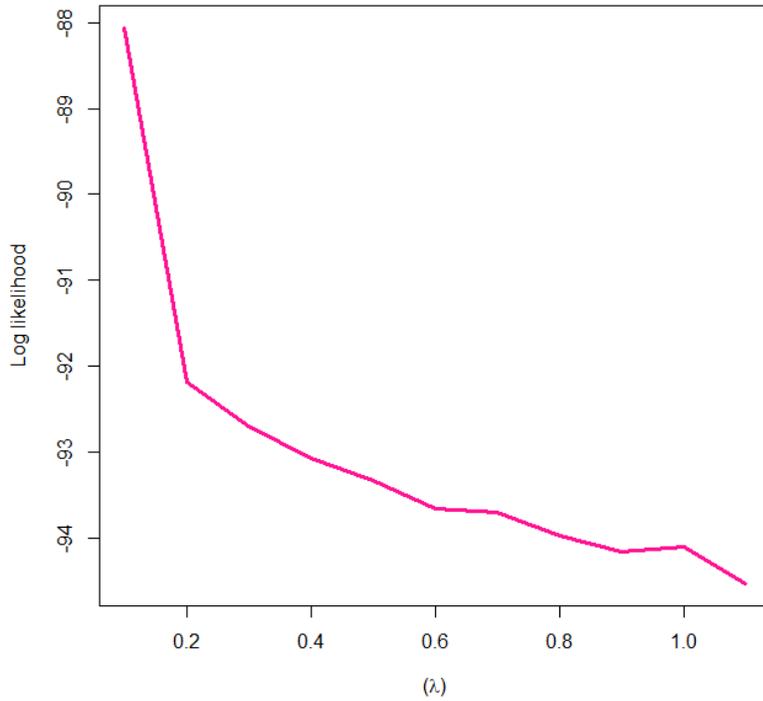
Combinado



Estadística	Media	ESS
LnL	-33563.9...	120
LnPr	-255.846	184
TL	24.971	186
r(A<->C)	0.113	27150
r(A<->G)	0.209	761
r(A<->T)	0.142	865
r(C<->G)	7.148E-2	947
r(C<->T)	0.361	777
r(G<->T)	0.103	4326
pi(A)	0.206	5114
pi(C)	0.298	5897
pi(G)	0.249	6765
pi(T)	0.247	2201
alpha	0.461	25734

ANEXO 3

Gradiente de valores de λ . Con base en esta grafica se seleccionó el valor óptimo de λ para suavizar la longitud de las ramas para los árboles ultramétricos.



ANEXO 4

Forma de la lámina

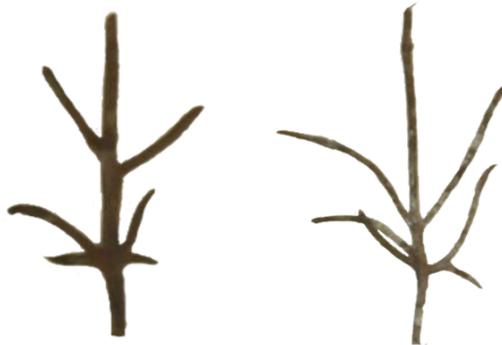
Bilobada

Lámina dividida en dos lóbulos que se mantienen unidos por tejido. La vena media es la vena de mayor orden con menor longitud.



Dividida

Lamina con divisiones lineares, sin ningún patrón aparente. Cada división es por lo menos cinco veces más larga que ancha.



Lanceolada

Ovado en la base y afinándose conforme se acerca al ápice. El segmento perpendicular a la vena media se encuentra en la parte proximal



Linear

El largo de la hoja es al menos 10 veces mayor al ancho.



Oblonga

Los márgenes opuestos son aproximadamente paralelos para al menos un tercio de la hoja.



Obovada

La parte más ancha de la hoja se encuentra en la parte distal (primeros 2/5). lalaal



Ovada

La parte más ancha de la hoja está en las dos quintas partes proximales.



Palmada

De seis a más lóbulos, el seno de cada división llega a la parte proximal cerca a la inserción del peciolo. Los lóbulos se mantienen unidos por tejido.



Palmaticompuesta

Lámina completamente disectada en folíolos que llegan hasta el peciolo, cada folíolo cuenta con su peciolulo.



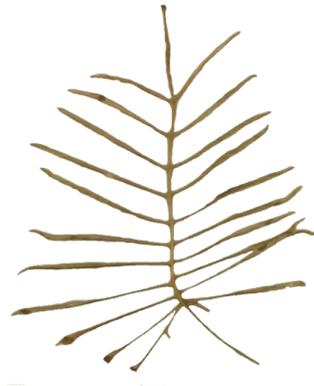
Pentalobada

Lamina con cinco lóbulos, el seno de cada lóbulo no llega hasta la vena media. Los lóbulos se mantienen unidos por tejido.



Pinnada

Divisiones a lo largo de un eje principal sin llegar a dividirse completamente.



Trilobada

Lamina con tres lóbulos que se mantienen unidos por tejido. El seno de cada lóbulo no llega hasta la vena media.



Forma del ápice

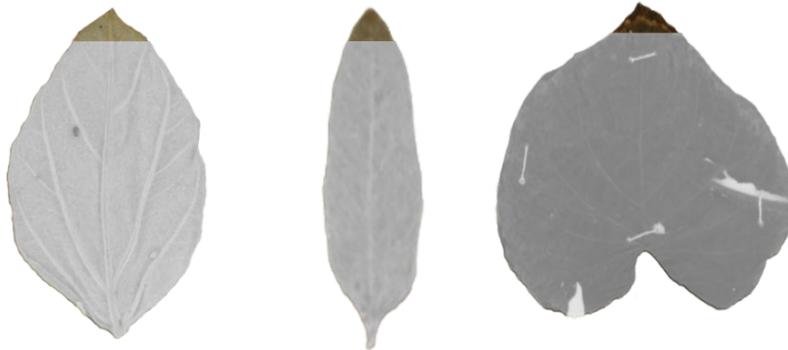
Acuminado

La parte distal se estrecha abruptamente y termina en una punta de goteo.



Agudo

Los dos lados que forman la punta del ápice forman un ángulo menor a 95°



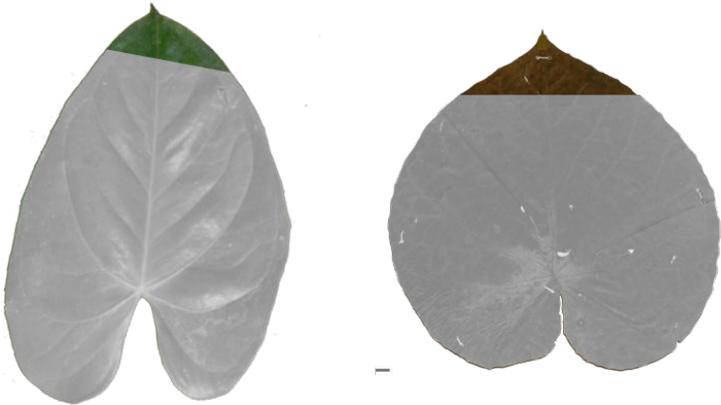
Emarginado

La parte más distal del centro de la lámina está curvado hacia la parte proximal.



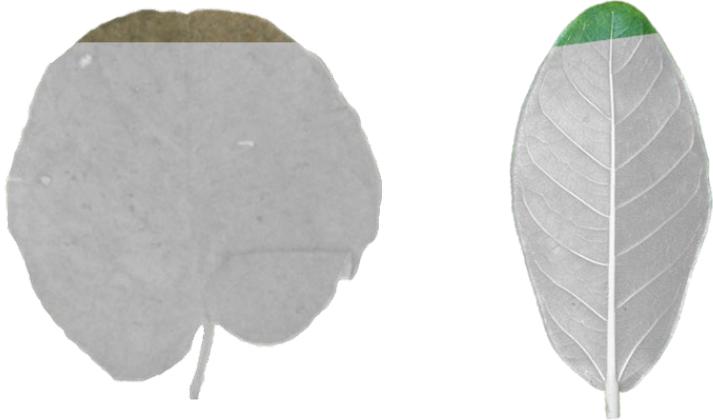
Mucronado

Terminando abruptamente en un punto rígido corto y la vena media sobresale del margen.



Obtuso

Termina en un ángulo de entre 90 y 180.



Forma de la base

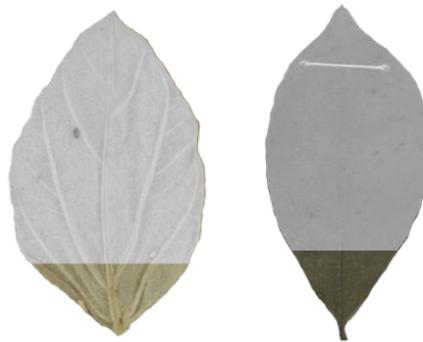
Cordada

Presenta una muesca profunda de modo que toda la base tenga una ligera forma de corazón.



Cuneada

La cuarta parte más proximal de la lámina se estrecha gradualmente, en forma de cuña.



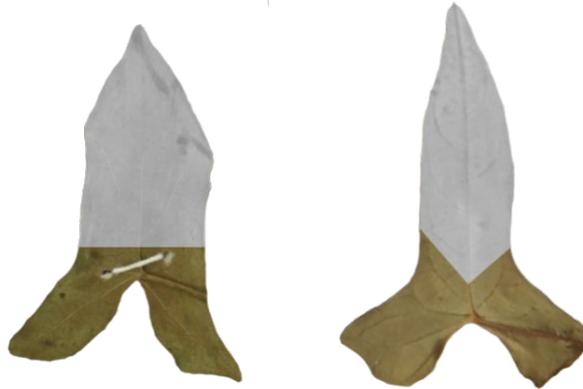
Decurrente

El tejido de la lámina se extiende a lo largo del peciolo y su ancho va decreciendo gradualmente.



Hastada

La base cuenta con dos lóbulos triangulares que apuntan hacia afuera, en un ángulo de 90° - 125° desde la vena media.



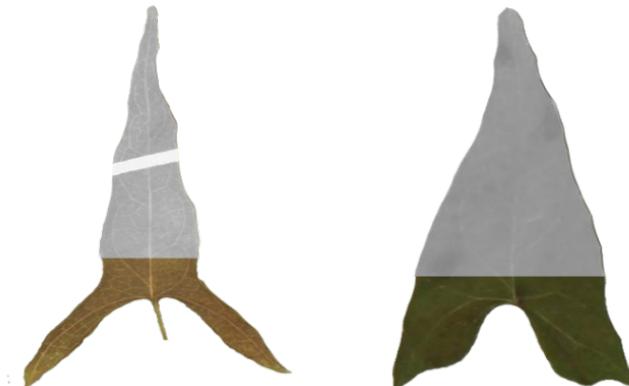
Redondeada

Suavemente curvado sin ángulos abruptos.



Sagitada

Dos lóbulos con ápice agudo apuntando hacia abajo.



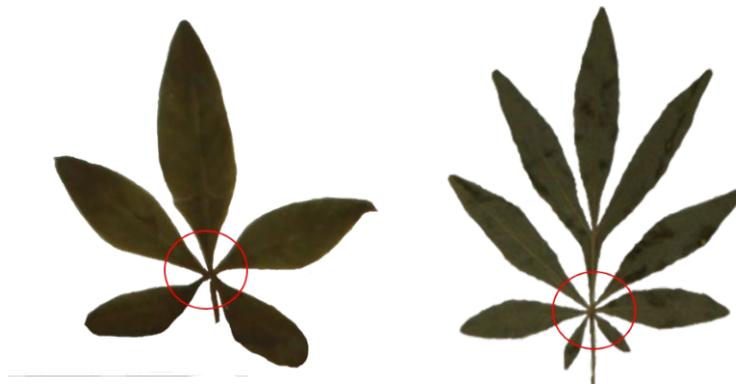
Truncada

La base termina abruptamente con un corte perpendicular a la vena media.



Unión de folíolos

Los peciolulos de los folíolos se unen en un solo punto en el peciolo.



Forma del margen

Dentado

En el límite de la lámina se observan proyecciones en forma de picos.



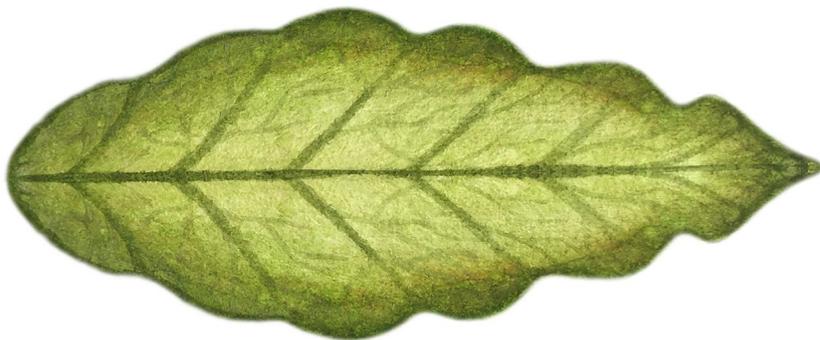
Entero

El límite de la lámina es continuo, sin ningún tipo de proyecciones o protuberancias.



Ondulado

Límite de la hoja forma pequeñas ondas.



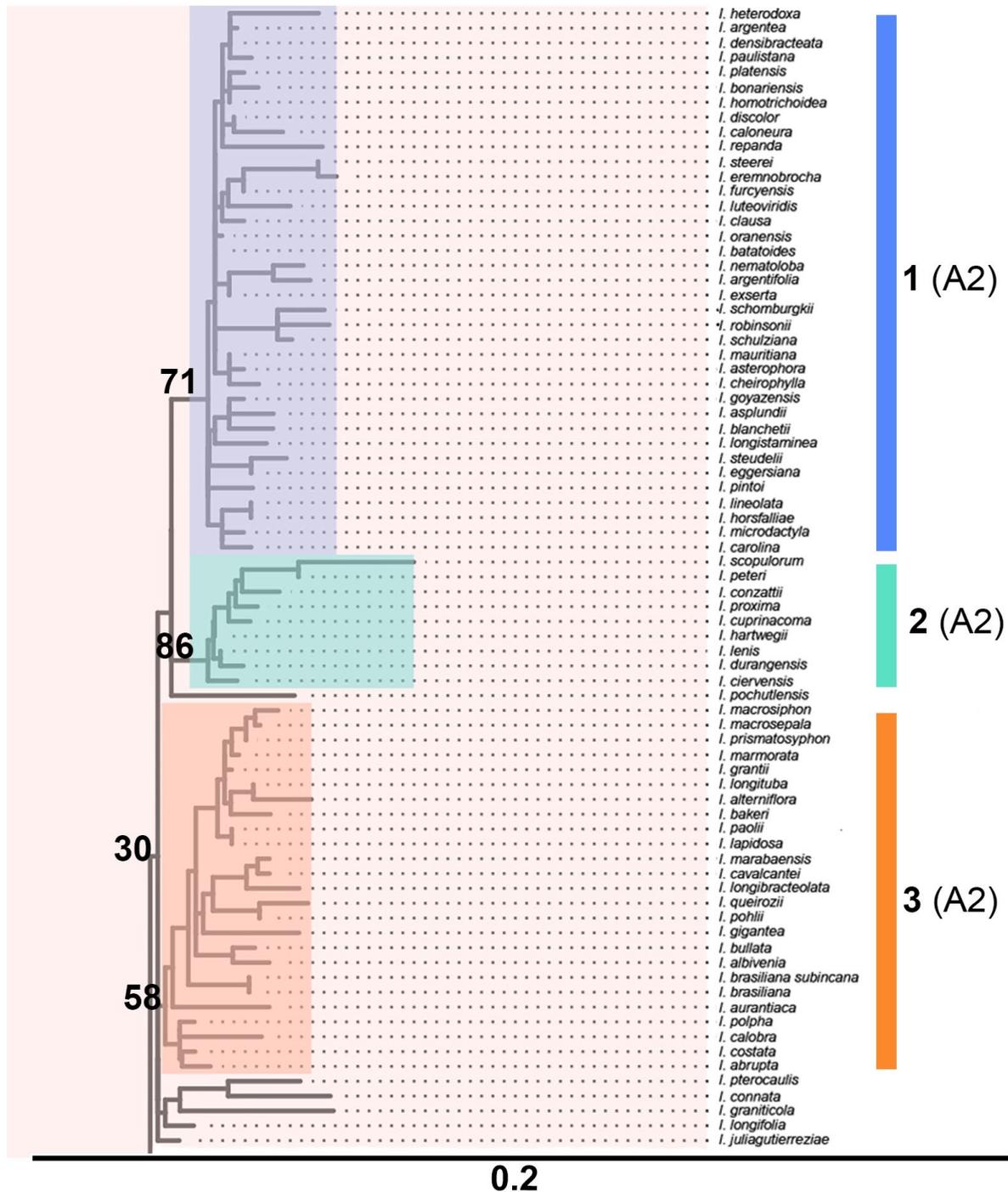
ANEXO 5

Protocolo área y perímetro foliar

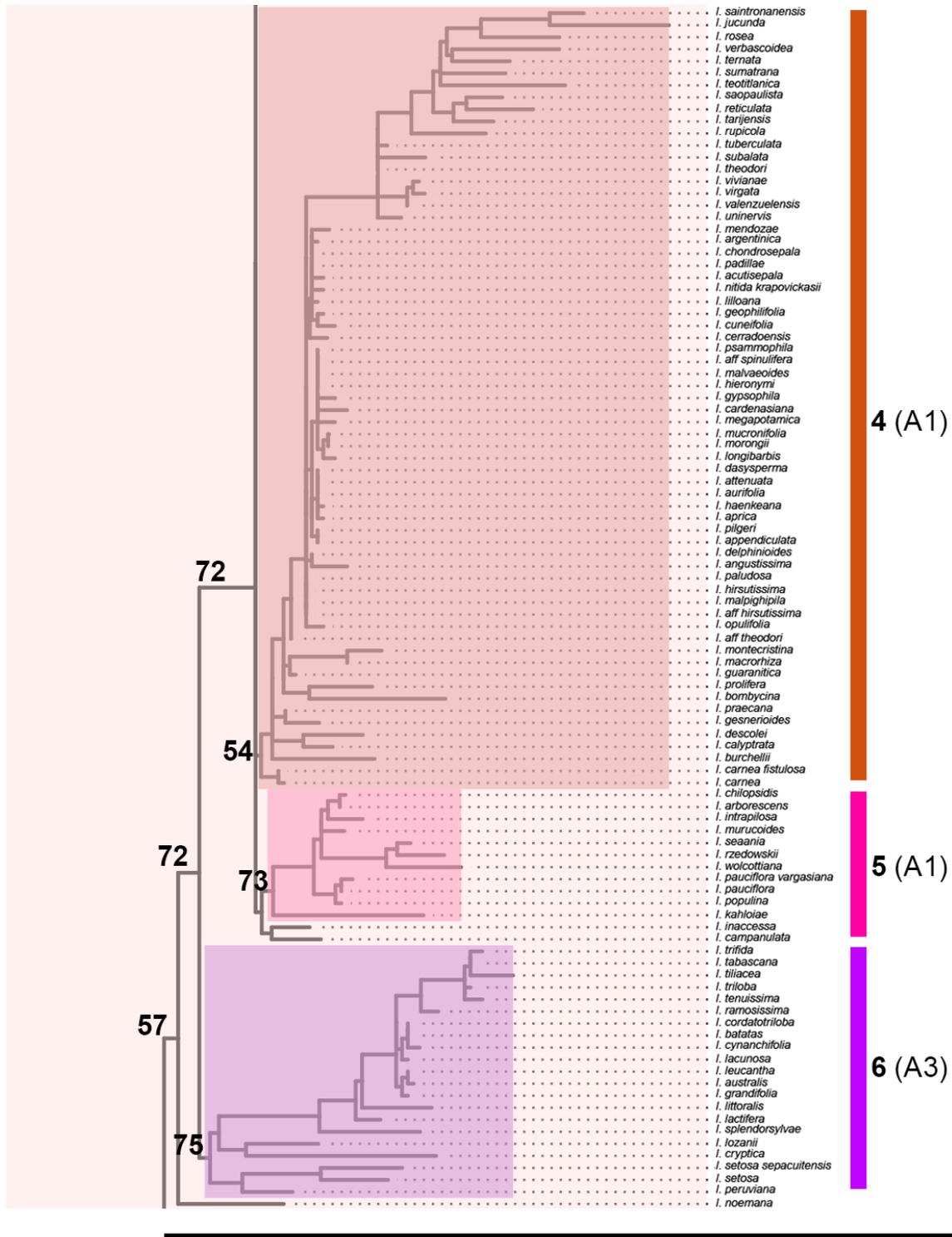
1. Abrir ImageJ.
2. Abrir imagen: **File>Open>Selecciona la imagen**
3. Calibrar la escala: Seleccionar **Straight**, (esta herramienta está en el menú principal y luce como una línea recta). Dibujar una línea sobre la escala del ejemplar, debe ir desde el cero hasta el 5 (puede ser cualquier otro número).
4. **Analyze>Set scale>** En **Know distance** poner la longitud que medimos, en este caso 5. Y en **Unit of length** poner cm > **OK**
5. Rotar imagen (el ápice y el peciolo deben quedar en línea vertical, ápice en la parte superior de la pantalla y la inserción del peciolo parte inferior de la pantalla): **Image>Transform>Rotate**
*En la ventana que emerge marcar **preview** y mover el número de grados que va a rotar la imagen>Pulsar el botón **OK**
6. Recortar hoja que vamos a medir: Seleccionar, de la barra de menú principal, el **Rectangulo>Image>Crop**
*Dibujar el rectángulo alrededor de la hoja que queremos recortar dejando un espacio en la parte inferior para colocar la escala posteriormente.
7. **Image> Type> 8-bit**
8. **Process >Binary >Make Binary**
*Si no nos gusta que la hoja esté blanca podemos invertir colores: **Edit>invert**. De esta manera la hoja queda en negro.

9. Recortar el peciolo y separar de otras hojas: Seleccionar **Color picker** y cambiar a blanco (es como un gotero). Ahora seleccionar **Paintbrush Tool** y Dibujar una línea para separar la hoja del peciolo.
10. Borrar todo lo que no sea hoja: **Paintbrush Tool** y pasar por todo lo que no sea hoja para que el fondo quede completamente blanco.
11. Insertar escala: **Analyze>Tools>Scale Bar**. En Width in cm poner 2 cm (o el tamaño que se quiera representar).
Height in pixels: 2.
Font size: 10.
Color: black.
Background: None.
Location: Lower left
>**OK**
12. Si la hoja está incompleta en el contorno: Seleccionar **Freehand** (la imagen parece un frijol) y dibujar el contorno. Al terminar apretar **Ctrl+F**. Si la hoja está completa en el perímetro, pero con área foliar faltante: Seleccionar **Wand** (es como una varita mágica), poner el pulsor sobre la hoja y dar click. Cuando el contorno se ponga amarillo apretar **Ctrl+F**. De esta manera toda el área de la hoja va a estar negra.
*También podemos retocar un poco con **Paintbrush Tool** para colorear algunas áreas faltantes.
13. Elegir qué medidas queremos tomar: **Analyze>Set Measurements>marcar área y perímetro**.
14. Medir área y perímetro de cada hoja: **Analyze>Measure**. Se va a abrir una ventana con todas las medidas.
15. Copiar las medidas a una hoja de Excel. “ipomoea_area_foliar”
16. Guardar imagen como: nombre_de_la_imagen_original_8bit

ANEXO 6

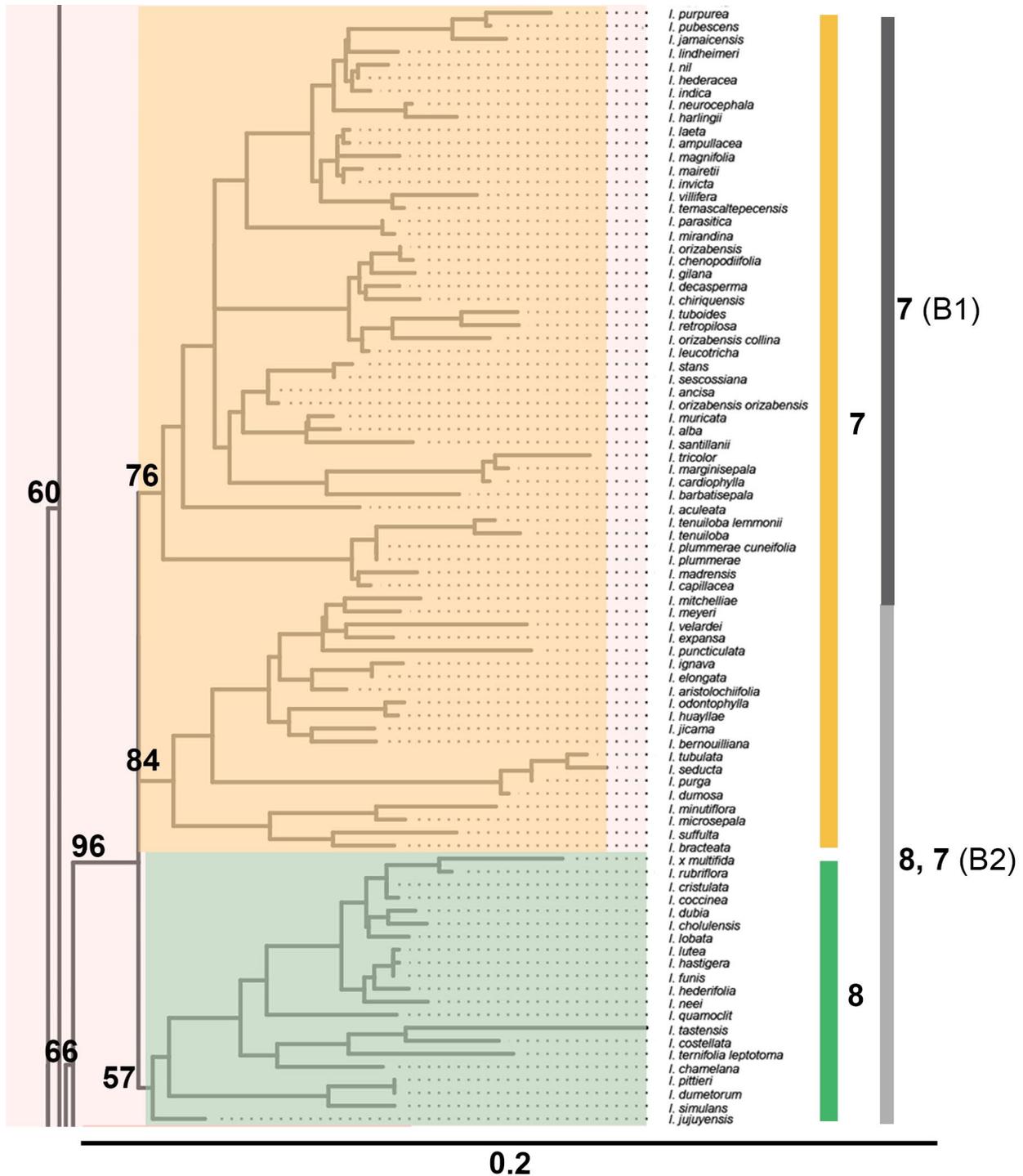


Árbol de Máxima Verosimilitud de ITS para *Ipomoea* (p.1). Árbol de Máxima Verosimilitud de ITS para *Ipomoea*, inferido con IQ Tree en este trabajo. Se identifican 14 clados principales; el clado de *Ipomoea* se sombrea en rosa claro, y los soportes de la rama corresponden al valor de Bootstrap. Únicamente se muestran los valores de Bootstrap y probabilidad posterior de los clados principales que son consistentes con los propuestos por Muñoz y colaboradores.

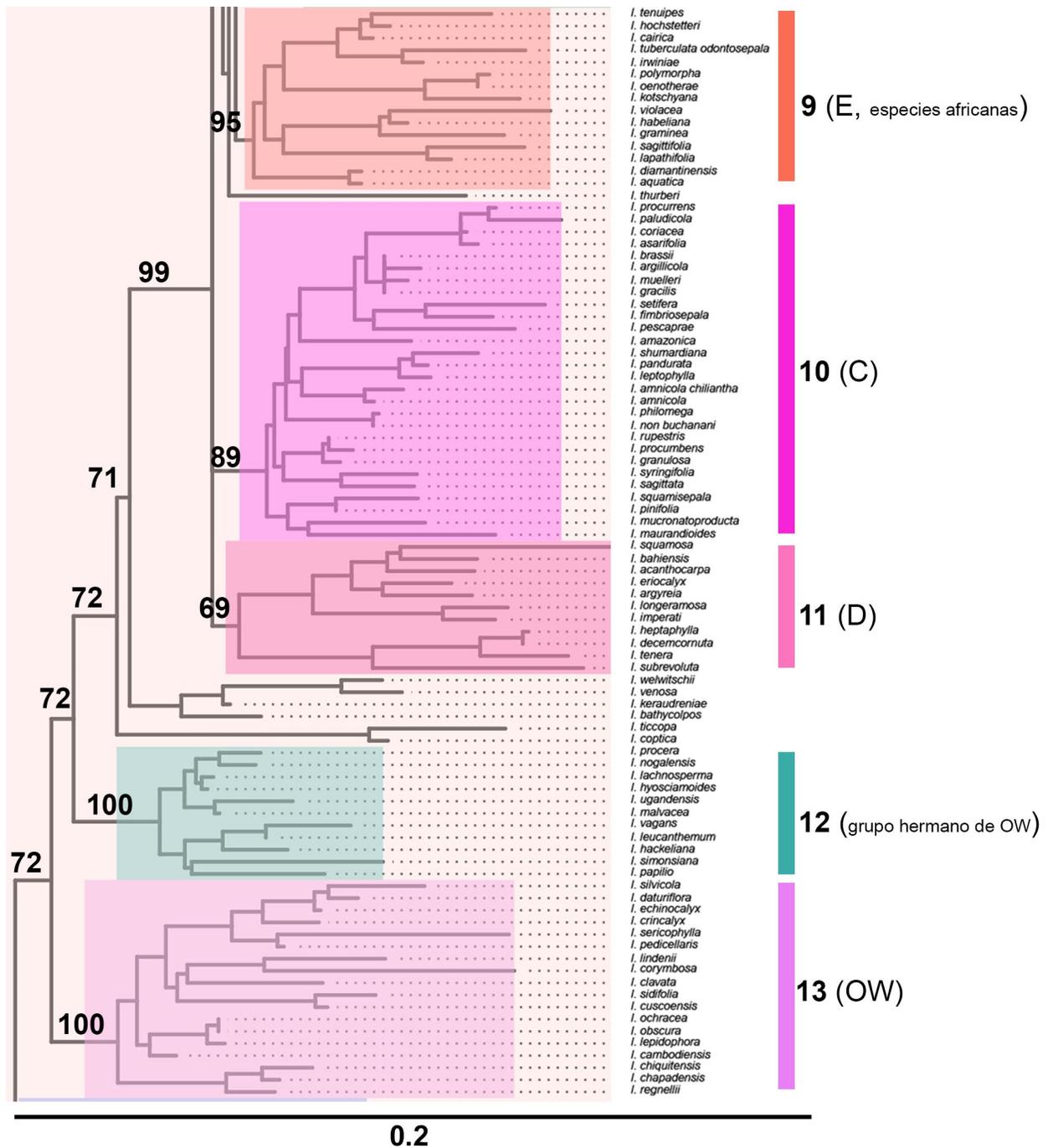


0.2

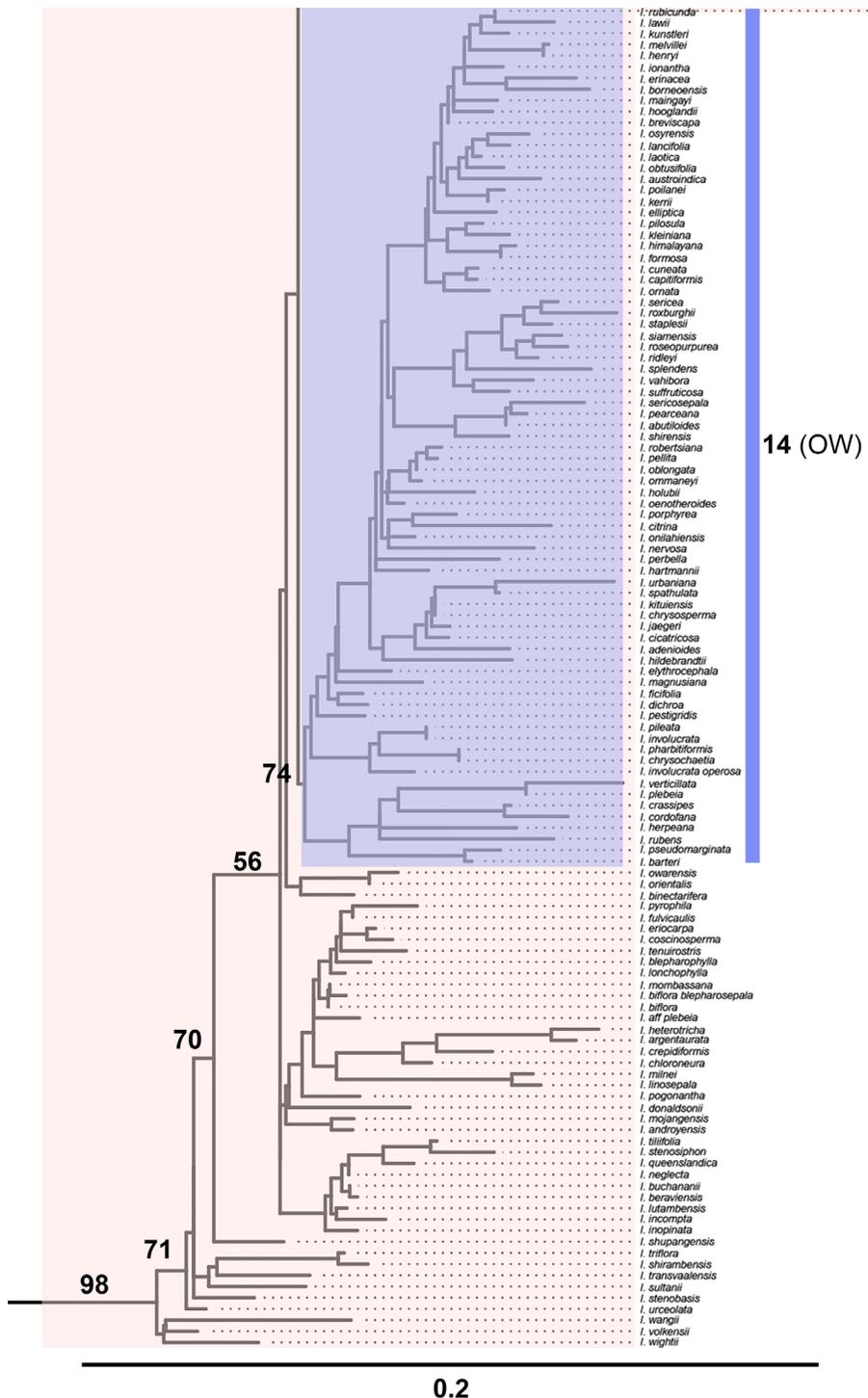
Árbol de Máxima Verosimilitud de ITS para *Ipomoea* (p.2). Árbol de Máxima Verosimilitud de ITS para *Ipomoea*, inferido con IQ Tree en este trabajo. Se identifican 14 clados principales; el clado de *Ipomoea* se sombrea en rosa claro, y los soportes de la rama corresponden al valor de Bootstrap. Únicamente se muestran los valores de Bootstrap y probabilidad posterior de los clados principales que son consistentes con los propuestos por Muñoz y colaboradores.



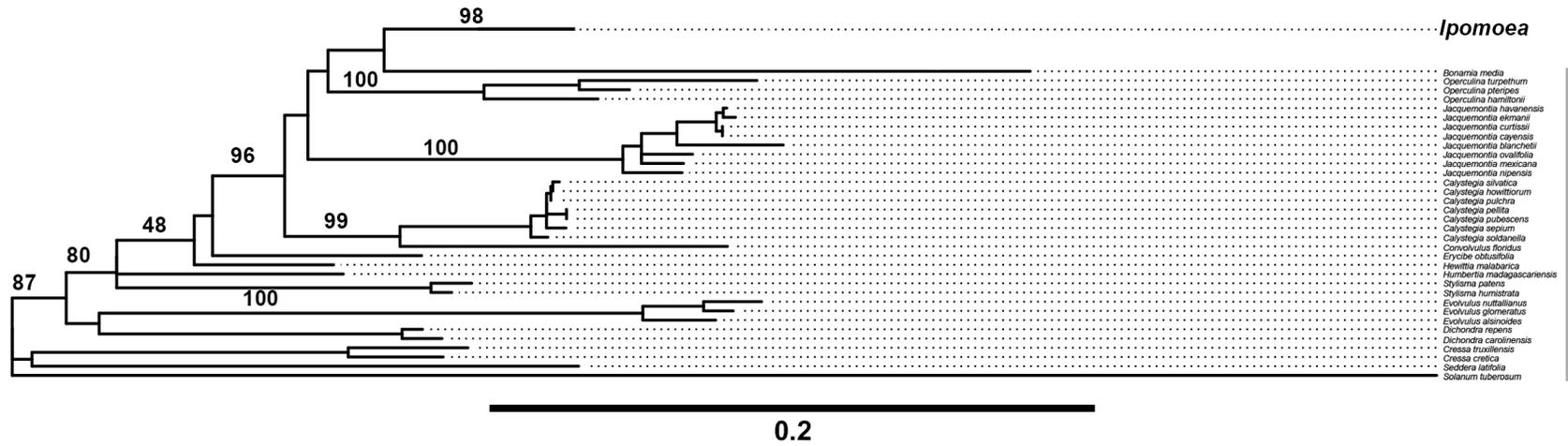
Árbol de Máxima Verosimilitud de ITS para *Ipomoea* (p.3). Árbol de Máxima Verosimilitud de ITS para *Ipomoea*, inferido con IQ Tree en este trabajo. Se identifican 14 clados principales; el clado de *Ipomoea* se sombrea en rosa claro, y los soportes de la rama corresponden al valor de Bootstrap. Únicamente se muestran los valores de Bootstrap y probabilidad posterior de los clados principales que son consistentes con los propuestos por Muñoz y colaboradores.



Árbol de Máxima Verosimilitud de ITS para *Ipomoea* (p.4). Árbol de Máxima Verosimilitud de ITS para *Ipomoea*, inferido con IQ Tree en este trabajo. Se identifican 14 clados principales; el clado de *Ipomoea* se sombrea en rosa claro, y los soportes de la rama corresponden al valor de Bootstrap. Únicamente se muestran los valores de Bootstrap y probabilidad posterior de los clados principales que son consistentes con los propuestos por Muñoz y colaboradores.



Árbol de Máxima Verosimilitud de ITS para *Ipomoea* (p.5). Árbol de Máxima Verosimilitud de ITS para *Ipomoea*, inferido con IQ Tree en este trabajo. Se identifican 14 clados principales; el clado de *Ipomoea* se sombrea en rosa claro, y los soportes de la rama corresponden al valor de Bootstrap. Únicamente se muestran los valores de Bootstrap y probabilidad posterior de los clados principales que son consistentes con los propuestos por Muñoz y colaboradores.



Árbol de Máxima Verosimilitud de ITS para *Ipomoea* (p.6). Árbol de Máxima Verosimilitud de ITS para *Ipomoea*, inferido con IQ Tree en este trabajo Se identifican 14 clados principales; el clado de *Ipomoea* se sombrea en rosa claro, y los soportes de la rama corresponden al valor de Bootstrap. Únicamente se muestran los valores de Bootstrap y probabilidad posterior de los clados principales que son consistentes con los propuestos por Muñoz y colaboradores

