



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
DE AGUASCALIENTES**

CENTRO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA

Tesis

**FILOGENIA DEL COMPLEJO *BOUTELOUA REPENS* (POACEAE:
CHLORIDOIDEAE) BASADA EN DATOS MOLECULARES**

Presenta

BIOL. GERALDINE MURILLO PÉREZ

Para obtener el grado de

MAESTRA EN CIENCIAS AGRONÓMICAS

TUTOR

María Elena Siqueiros Delgado PhD.

COMITÉ TUTORAL

J. Travis Columbus PhD.

Dr. Gilberto A. Ocampo Acosta PhD.

Aguascalientes, Ags. Mayo de 2017




DR. RAÚL ORTÍZ MARTÍNEZ
DECANO DEL CENTRO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
P R E S E N T E

Por medio del presente, tengo a bien informarle que la **BIOL. GERALDINE MURILLO PÉREZ** con ID 107583, estudiante de la Maestría en Ciencias Agronómicas y Veterinarias ha cumplido de manera satisfactoria el proceso de redacción, revisión y correcciones de su tesis titulada: **FILOGENIA DEL COMPLEJO BOUTELOUA REPENS (POACEAE: CHLORIDOIDEAE) BASADA EN DATOS MOLECULARES.**

Por lo anteriormente mencionado y con fundamento en el Artículo 175, Apartado II del Reglamento General de Docencia, me permito emitir el **VOTO APROBATORIO** para la impresión del documento y continuar con el proceso de titulación y programación del examen de grado.

Pongo lo anterior a su digna consideración y sin otro particular por el momento, me permito enviarle un cordial saludo.

A T E N T A M E N T E
"Se Lumen Proferre"
Aguascalientes, Ags. a 05 de mayo de 2017.



María Elena Siqueiros Delgado PhD.
Tutora de tesis



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
DE AGUASCALIENTES

DR. RAÚL ORTÍZ MARTÍNEZ
DECANO DEL CENTRO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
P R E S E N T E

Por medio del presente, tengo a bien informarle que la **BIOL. GERALDINE MURILLO PÉREZ** con ID 107583, estudiante de la Maestría en Ciencias Agronómicas y Veterinarias ha cumplido de manera satisfactoria el proceso de redacción, revisión y correcciones de su tesis titulada: **FILOGENIA DEL COMPLEJO BOUTELOUA REPENS (POACEAE: CHLORIDOIDEAE) BASADA EN DATOS MOLECULARES.**

Por lo anteriormente mencionado y con fundamento en el Artículo 175, Apartado II del Reglamento General de Docencia, me permito emitir el **VOTO APROBATORIO** para la impresión del documento y continuar con el proceso de titulación y programación del examen de grado.

Pongo lo anterior a su digna consideración y sin otro particular por el momento, me permito enviarle un cordial saludo.

A T E N T A M E N T E

"Se Lumen Proferre"

Aguascalientes, Ags. a 05 de mayo de 2017.

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'J. Travis Columbus'.

J. Travis Columbus PhD.
Asesor de tesis



DR. RAÚL ORTÍZ MARTÍNEZ
DECANO DEL CENTRO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
P R E S E N T E

Por medio del presente, tengo a bien informarle que la **BIOL. GERALDINE MURILLO PÉREZ** con ID 107583, estudiante de la Maestría en Ciencias Agronómicas y Veterinarias ha cumplido de manera satisfactoria el proceso de redacción, revisión y correcciones de su tesis titulada: **FILOGENIA DEL COMPLEJO BOUTELOUA REPENS (POACEAE: CHLORIDOIDEAE) BASADA EN DATOS MOLECULARES.**

Por lo anteriormente mencionado y con fundamento en el Artículo 175, Apartado II del Reglamento General de Docencia, me permito emitir el **VOTO APROBATORIO** para la impresión del documento y continuar con el proceso de titulación y programación del examen de grado.

Pongo lo anterior a su digna consideración y sin otro particular por el momento, me permito enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE

"Se Lumen Proferre"

Aguascalientes, Ags. a 05 de mayo de 2017.



Gilberto A. Ocampo Acosta PhD.
Asesor de tesis



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
DE AGUASCALIENTES
CENTRO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

OF. NO. CCA-D-11-15-098-17

Dra. en Admón. María del Carmen Martínez Serna
Directora General de Investigación y Posgrado
PRESENTE.

Por medio de la presente me permito comunicarle a usted que la tesis titulada "FILOGENIA DEL COMPLEJO BOUTELOUA REPENS (POACEAE: CHLORIDOIDEAE) BASADA EN DATOS MOLECULARES", de la alumna **GERALDINE MURILLO PÉREZ**, egresada de la Maestría en Ciencias Agronómicas y Veterinarias, respeta las normas y lineamientos establecidos institucionalmente para su elaboración y su autor cuenta con el voto aprobatorio de su tutor y comité tutorial.

Sin más por el momento aprovecho la ocasión para enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE
Jesús María, Ags., 09 de Mayo del 2017
"SE LUMEN PROFERRE"



Dr. Raúl Ortiz Martínez
Decano del Centro

c.c.p. Jefa del Departamento de Control Escolar
c.c.p. Sección de Certificados y Títulos
c.c.p. Secretario Técnico
c.c.p. Estudiante
c.c.p. Archivo



AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Autónoma de Aguascalientes por brindarme las herramientas necesarias para desempeñar mi profesión con responsabilidad y sentido humano, y al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por la beca número 614403, otorgada para el desarrollo de mis estudios de posgrado.

A mi tutora, la Dra. María Elena Siqueiros, por su apoyo incondicional para el desarrollo de todas mis metas profesionales y personales; por siempre agotar todos los recursos a su alcance para realizar y concluir satisfactoriamente mi proyecto de investigación; y sobre todo, por ser el pilar más importante en mi formación profesional y por su invaluable amistad. A mis asesores, el Dr. Travis Columbus y el Dr. Gilberto Ocampo, por el vasto conocimiento que han compartido conmigo desde la concepción de éste proyecto, por sus consejos, sugerencias y por la disposición mostrada para llevar a cabo exitosamente éste proyecto.

Al personal del laboratorio de Biotecnología vegetal de la UAA, por facilitarme el uso de sus instalaciones y por apoyarme en todo lo que necesité. A los trabajadores, investigadores y estudiantes del Rancho Santa Ana Botanic Garden, por acogerme como un miembro más de su equipo, por los consejos que me brindaron dentro del laboratorio de biología molecular, por compartirme su conocimiento y experiencia en el campo de la sistemática y filogenia vegetal; y sobre todo, por hacerme sentir como en casa.

A los encargados e investigadores de los herbarios IEB y MEXU, por su disposición y apoyo para la toma de muestras de los ejemplares depositados en sus colecciones, que se incluyeron en el presente trabajo.

A mis compañeros y amigos del herbario HUAA, por estar siempre dispuestos a escuchar mis inquietudes y dudas, y ayudarme dentro de sus posibilidades a

resolverlas y enriquecer mi proyecto con sus recomendaciones y observaciones. Al personal de los herbarios IEB y MEXU por permitirme la extracción de material vegetal para realizar los estudios filogenéticos incluidos en el presente trabajo.

A mis compañeros de colecta Julio, Fer, Marce, Marisol, Beto y los doctores Columbus y Siqueiros quienes hicieron esos largos recorridos más amenos y divertidos.

A las biólogas Marisol Pacheco Jiménez y María Elena Mendoza López por su valiosa colaboración en el trabajo de laboratorio realizado durante el proyecto, por su amistad y por su apoyo incondicional en el ámbito personal y profesional.

Y al Ing. Carlos Eduardo Hernández Rincón, por proporcionar el equipo computacional necesario para la ejecución de todos los análisis filogenéticos incluidos en el presente trabajo.

DEDICATORIAS

A mis *padres*, quienes a pesar de la distancia siempre han sabido estar presentes en todos mis momentos de triunfo y derrota, ayudándome a levantarme cuando lo he necesitado y a celebrar las metas conquistadas; a quienes les debo no solo la vida, sino ser la mujer que soy, alguien que no se rinde.

A mis *hermanas*, mi mayor fuente de alegrías y orgullo, y mi más grande inspiración en la vida.

A mi *tío Chuy*, mi confidente, mi consejero, mi ángel guardián, quien siempre ha estado a mi lado cuidándome y guiándome por el mejor camino.

A mi mejor amigo, compañero y cómplice, *Carlos*, que aún a la distancia siempre ha estado a mi lado apoyándome sin condiciones y motivándome a cumplir todas mis metas; escuchándome y brindándome su paciencia y consejos, consolándome en los momentos más difíciles y levantándome cuando he caído. A ti, por llegar a mi vida cuando más te necesitaba, y por siempre demostrarme tu cariño y amor sinceros.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE GENERAL..... 1

ÍNDICE DE TABLAS 3

ÍNDICE DE FIGURAS..... 4

TABLA DE ANEXOS..... 5

RESUMEN..... 6

ABSTRACT..... 7

INTRODUCCIÓN 8

ANTECEDENTES..... 11

MARCO TEÓRICO..... 13

 Uso de caracteres moleculares..... 13

 Espaciador transcrito interno (ITS) del ADN ribosomal nuclear (nrADN). 14

 Espaciador intergénico *trnT-L-F* 16

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA 18

OBJETIVOS 19

 Objetivo general..... 19

 Objetivos específicos 19

HIPÓTESIS DE INVESTIGACIÓN 19

CAPÍTULO I. FILOGENIA MOLECULAR..... 20

MATERIALES Y MÉTODOS 20

 Muestras analizadas 20

 Extracción de ADN 25

 Marcadores moleculares utilizados 26

 Gen nuclear 26

 Gen de cloroplasto 26

 Condiciones de amplificación del ADN 27

 Gen nuclear 27

 Gen de cloroplasto 28

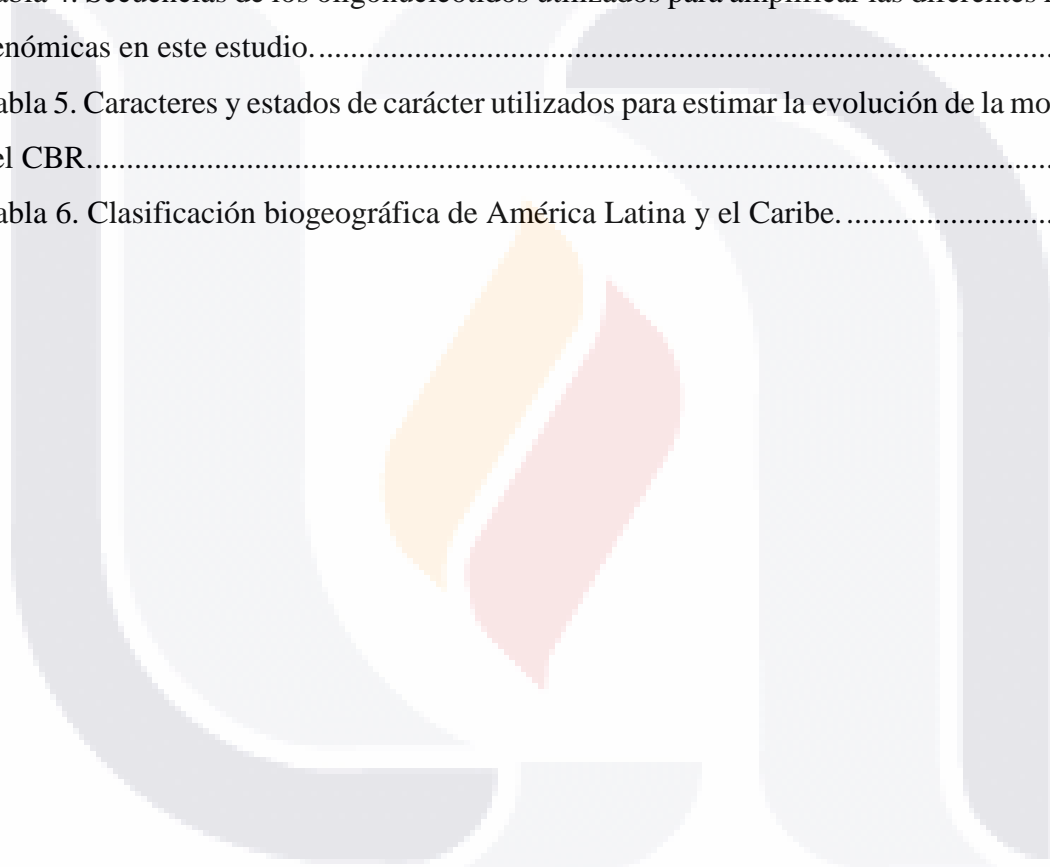
 Secuenciación de ADN..... 28

 Caracterización de las secuencias..... 29

Análisis filogenético	30
RESULTADOS	31
DISCUSION	37
CAPÍTULO II. EVOLUCIÓN DE CARACTERES MORFOLÓGICOS	40
MATERIALES Y MÉTODOS	43
RESULTADOS.....	45
Presencia/Ausencia de rizoma.	45
Forma de la flor rudimentaria	45
Número de espiguillas por rama	50
Longitud de la arista media de la lema de la flor rudimentaria	50
DISCUSION	53
Presencia/Ausencia de Rizoma.....	53
Forma de la flor rudimentaria	53
Número de ramas por inflorescencia	54
Número de espiguillas por rama	55
Longitud de la arista media del rudimento	56
CAPITULO III. BIOGEOGRAFÍA HISTÓRICA	60
MATERIALES Y MÉTODOS	63
RESULTADOS.....	64
DISCUSION	66
CONCLUSIONES	66
GLOSARIO	70
BIBLIOGRAFÍA	73
ANEXOS	84

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Especies actualmente reconocidas en el complejo <i>Bouteloua repens</i>	10
Tabla 2. Muestras de las especies incluidas en el complejo <i>Bouteloua repens</i> analizadas en el presente estudio.....	21
Tabla 3. Secuencias en GenBank de las especies del complejo <i>Bouteloua repens</i> incluidas en el análisis filogenético.	24
Tabla 4. Secuencias de los oligonucleótidos utilizados para amplificar las diferentes regiones genómicas en este estudio.....	28
Tabla 5. Caracteres y estados de carácter utilizados para estimar la evolución de la morfología del CBR.....	43
Tabla 6. Clasificación biogeográfica de América Latina y el Caribe.....	63



ÍNDICE DE FIGURAS

Figura. 1. Distribución de las muestras del complejo <i>Bouteloua repens</i> incluidas en los análisis filogenéticos.....	25
Figura. 2 Esquema del espaciador transcrito interno de ADN ribosoma nuclear (ITS)	26
Figura. 3 Esquema de la región <i>trnT-L-F</i>	27
Figura. 4. Árbol filogenético realizado con inferencia Bayesiana analizando los datos de ADN nuclear (ITS) de los individuos del complejo <i>B. repens</i>	34
Figura. 5. Árbol filogenético realizado con inferencia Bayesiana analizando los datos de ADN de cloroplasto (<i>trnT-L-F</i>) de los individuos del complejo <i>B. repens</i>	35
Figura. 6. Árbol filogenético realizado con inferencia Bayesiana analizando las secuencias de datos combinados (ITS + <i>trnT-L-F</i>) de los individuos del complejo <i>B. repens</i>	36
Figura. 7. Tipos de rudimento en el complejo <i>B. repens</i>	44
Figura. 8. Reconstrucción de la evolución de la presencia/ausencia de rizoma en las especies del complejo <i>Bouteloua repens</i>	47
Figura. 9. Reconstrucción de la evolución de la forma de la flor rudimentaria en las especies del complejo <i>Bouteloua repens</i>	48
Figura. 10. Reconstrucción de la evolución del número de ramas por inflorescencia en las especies del complejo <i>Bouteloua repens</i>	49
Figura. 11. Reconstrucción de la evolución del número de espiguillas por rama en las especies del complejo <i>Bouteloua repens</i>	51
Figura. 12. Reconstrucción de la evolución en la longitud de la arista media de la lema de la flor rudimentaria de las especies del complejo <i>Bouteloua repens</i>	52
Figura. 13. Comparación del ejemplar <i>Bouteloua</i> sp. con las accesiones que se agrupa en las hipótesis filogenéticas	58
Figura. 14. Biogeografía historia del complejo <i>Bouteloua repens</i>	65

TABLA DE ANEXOS

ANEXO 1. Protocolo CTAB 2% de extracción de ADN (MINIPREP).....84

ANEXO 2. 2X CTAB Total genomic dna extraction.....85

ANEXO 3. PCR Purification using PEG precipitation.....87

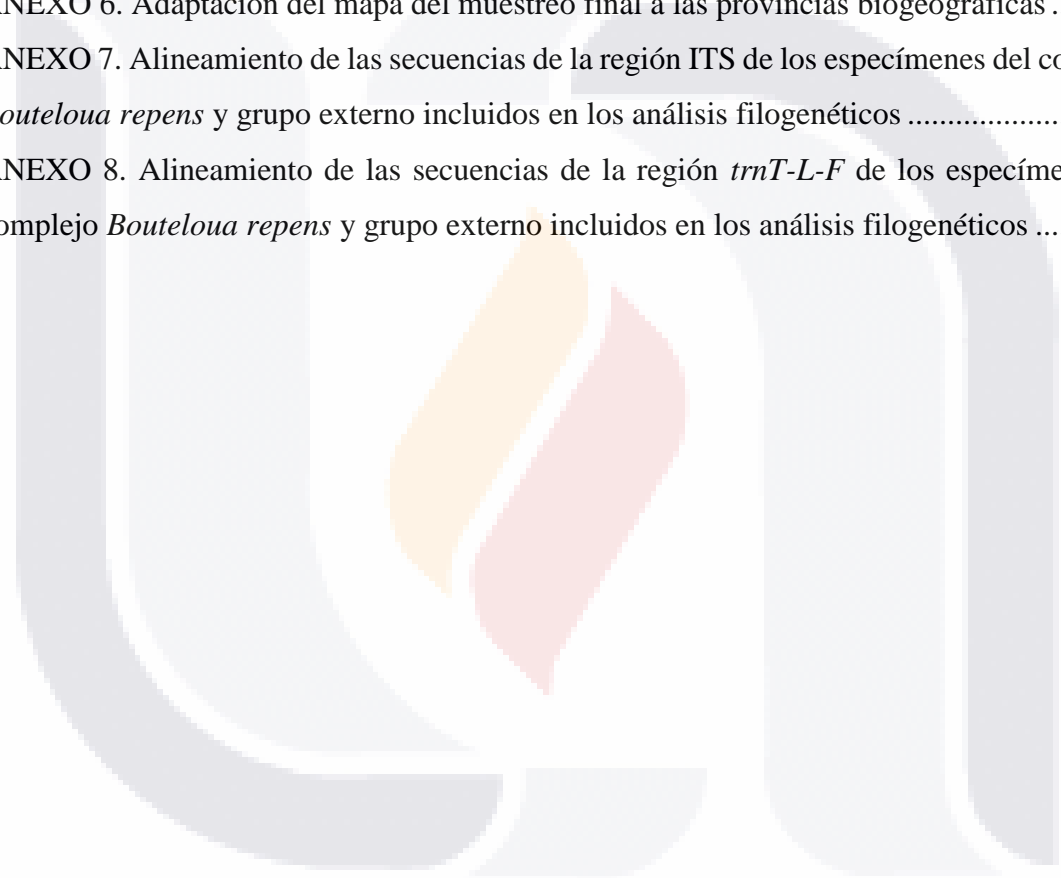
ANEXO 4. Sephadex 96-well plate clean-up of cycle sequencing products.....88

ANEXO 5. Provincias biogeográfica de América Latina y el Caribe89

ANEXO 6. Adaptación del mapa del muestreo final a las provincias biogeográficas92

ANEXO 7. Alineamiento de las secuencias de la región ITS de los especímenes del complejo *Bouteloua repens* y grupo externo incluidos en los análisis filogenéticos93

ANEXO 8. Alineamiento de las secuencias de la región *trnT-L-F* de los especímenes del complejo *Bouteloua repens* y grupo externo incluidos en los análisis filogenéticos105



RESUMEN

El complejo *Bouteloua repens* (Poaceae: Chloridoideae) (CBR) es un grupo de cinco especies que se distribuyen desde el sur de Estados Unidos hasta Brasil, con su centro de origen y diversidad en México. Debido a su gran similitud morfológica, posible hibridación, poliploidía y apomixis, la circunscripción de sus especies y las relaciones entre sus taxa han sido inciertas. Además, todos los estudios anteriores acerca del CBR se han basado únicamente en caracteres morfológicos, y no se ha propuesto ninguna hipótesis filogenética que ayude a resolver la problemática que representa el complejo.

En el presente estudio se incluyeron 62 secuencias de ADN nuclear (ITS) y 33 secuencias de ADN de cloroplasto (*trnT-L-F*), que fueron analizadas mediante el método de Inferencia Bayesiana para estimar la historia evolutiva del grupo. Además, se estimó el patrón de la evolución de caracteres morfológicos usados tradicionalmente en la circunscripción de las especies, así como su biogeografía histórica. De acuerdo a los resultados obtenidos, el complejo *Bouteloua repens* representa un grupo natural con altos niveles de soporte; sólo dos de las cinco especies que incluye el complejo son monofiléticas (*B. americana* y *B. repens*), *B. alamosana* podría representar dos taxones independientes, y las relaciones entre *B. radicata* y *B. williamsii*, siguen siendo inciertas. La estimación de la evolución de caracteres morfológicos, sugiere que la mayoría son homoplásicos, excepto la forma de la flor rudimentaria para la especie *B. americana*, en la cual representa su sinapomorfia morfológica. Los análisis de biogeografía histórica indican que el CBR se originó en la Sierra Madre del Sur, y de ahí se dispersó para adquirir su distribución actual.

La aparición de morfologías intermedias entre las especies actualmente reconocidas en el complejo *Bouteloua repens*, así como la separación genética de especies y de copias de fragmentos nucleares del mismo individuo, sugieren que la hibridación es uno de los principales factores en la diversificación del grupo.

Palabras clave: evolución, pastizal, sistemática, monofilia.

ABSTRACT

The *Bouteloua repens* complex (Poaceae: Chloridoideae) (BRC) is a group of five species distributed from the southern United States to Brazil, with its center of origin and diversity in Mexico. Due to their great morphological similarity, possible hybridization, polyploidy and apomixis, the circumscription of their species and the relationships between their taxa have been uncertain. In addition, all previous studies on CBR have been based solely on morphological characters, and no phylogenetic hypotheses have been proposed to help solve the complex problem.

Sixty-two nuclear DNA sequences (ITS) and 33 chloroplast DNA sequences (*trnT-L-F*), were included and analyzed by Bayesian Inference methods to estimate the evolutionary history of the group. In addition, the evolution of morphological characters and its historical biogeography were estimated. According to our results, the *Bouteloua repens* complex is a well-supported natural group; *B. americana* and *B. repens* are monophyletic with strong support. The estimation of the evolution of selected morphological characters suggests the majority as homoplastic, except the upper floret shape, which represents the morphological synapomorphy of the *B. americana* clade. The historical biogeography analyzes indicate that the group originated in the Sierra Madre del Sur, and then the complex species were distributed to acquire their current distribution.

The occurrence of intermediate morphologies between the species currently recognized in the *Bouteloua repens* complex, as well as genetic separation of species and copies of nuclear fragments of the same individual, suggest that hybridization is one of the main factors in the diversification of the group.

Key words: evolution, grassland, systematics, monophyly.

INTRODUCCIÓN

La familia Poaceae, es la quinta familia más numerosa de angiospermas en el mundo, e incluye aproximadamente 700 géneros y 10 000 especies (Watson & Dallwitz, 1992; Clayton & Renvoize, 1986). Se caracteriza principalmente por tener una fuerte dominancia ecológica, y cubre aproximadamente un quinto de la superficie del planeta (Shantz, 1954). Posee gran importancia económica, por incluir numerosas especies alimenticias, como los cereales (e.g. maíz, arroz, cebada, centeno y trigo), la caña de azúcar y los bambúes; e incluye también numerosas especies forrajeras (e.g. zacate navajita, sorgo, pasto buffel y pasto rhodes) (Clayton & Renvoize, 1986).

El género *Bouteloua* Lagasca (Poaceae: Chloridoideae) es uno de los géneros de gramíneas nativas más importantes de los pastizales mexicanos, tanto por su alto valor forrajero, como por su amplia distribución; representa un grupo monofilético con 57 especies (Columbus, 1999), distribuidas en el continente Americano; 25 de ellas presentan una distribución exclusiva en México, dos son exclusivas de los Estados Unidos, tres se distribuyen únicamente en las Antillas y una exclusivamente en Sudamérica, el resto presentan distribución más o menos continua a través del continente Americano. De acuerdo a Rzedowski (1978), México es su centro de origen y diversidad.

Dentro del género *Bouteloua*, se sitúa el complejo *Bouteloua repens* (CBR). El CBR es un grupo de cinco especies (Gould, 1980) (Tabla 1) morfológicamente muy similares, que se caracterizan por ser plantas perennes (excepto *B. alamosana*), poseer inflorescencias de 4-14 ramas, con 5-20 espiguillas cada una; usualmente las espiguillas presentan una flor perfecta con lema 3-nervada y con los nervios extendiéndose en mucrones o aristas cortas (la central por lo general más larga), y una flor rudimentaria con aristas al menos tan largas como el rudimento (Griffiths, 1912; Gould, 1969), excepto *B. americana*, que presenta solo una flor perfecta estéril, con un rudimento largo-aristado. Los caracteres anatómicos de hoja que distinguen a las especies del CBR de otras especies del género son: (1) la presencia de columnas de esclerénquima usualmente asociadas a todos los haces vasculares, (2) las

columnas más estrechas que las células de la vaina contigua, y (3) presentan espinas y pequeñas papilas usualmente en la superficie adaxial de la zona costal (Columbus, 1996).

Las especies del complejo *Bouteloua repens* habitan por lo general en lugares conservados, pero bajo ciertas condiciones pueden colonizar áreas con disturbio. Por ello, se encuentran en hábitats y condiciones ambientales diversas. *Bouteloua alamosana* habita en sabanas secas, a orilla de caminos y en potreros, a una altitud de 0 a 1000 m. Se distribuye en México en los estados de Chiapas, Michoacán, Oaxaca y Sonora, así como en Costa Rica, El Salvador, Guatemala, Honduras y Nicaragua (Gould, 1980). *Bouteloua americana*, se distribuye en terrenos arenosos y abiertos, en altitudes entre 0 - 1200 m. Su distribución abarca los estados de Chiapas y Yucatán en México, Brasil, Colombia, Cuba, Ecuador, Guyana, Haití, Jamaica, Puerto Rico, República Dominicana y Venezuela (Gould, 1980). *Bouteloua radicata* habita en laderas secas rocosas, pastizales y matorrales xerófilos, en un rango altitudinal de los 500 - 2700 m. Se distribuye en los estados de Arizona y Nuevo México en Estados Unidos y en México, en la Ciudad de México y en los estados de Aguascalientes, Chihuahua, Coahuila, Durango, Guanajuato, Guerrero, Jalisco, Estado de México, Michoacán, Nayarit, Nuevo León, Oaxaca, Querétaro, San Luis Potosí, Sonora, Tamaulipas y Zacatecas. *Bouteloua repens* habita en terrenos abiertos de pastizales, planicies o laderas sobre suelos arenosos o pedregosos, bosques de encino, pino, sabanas y matorrales xerófilos, en altitudes entre 0 - 2600 m. Se distribuye en los Estados Unidos en Arizona, Oklahoma, Nuevo México y Texas; en México, en la Ciudad de México y los estados de Aguascalientes, Baja California Sur, Campeche, Chiapas, Chihuahua, Coahuila, Colima, Durango, Guanajuato, Guerrero, Hidalgo, Jalisco, Estado de México, Michoacán, Morelos, Nayarit, Nuevo León, Oaxaca, Puebla, Querétaro, San Luis Potosí, Sonora, Tamaulipas, Veracruz, Yucatán y Zacatecas; además de Guatemala, Costa Rica, Las Antillas y Colombia. Finalmente, *B. williamsii* se encuentra en laderas rocosas con pastizales, matorrales, bosques de encino y pino abiertos. Se distribuye en la República Mexicana en los estados de Aguascalientes, Chiapas, Jalisco, Edo. Méx., Nayarit, Oaxaca, Puebla, San Luis Potosí y Zacatecas, en Honduras y se ha citado para Guatemala (Gould, 1980).

Dentro del CBR se han reportado fenómenos de poliplidía e hibridación (Gould, 1980), lo que lo hace un grupo de difícil estudio. Además, se sabe que algunas especies del género *Bouteloua* forman complejos agámicos, donde los cruzamientos entre grupos diploides y poliploides son posibles, cuando se superan las barreras de ploidía (Bashaw & Hanna, 1990). En estos complejos, en los que la apomixis, hibridación, poliploidización, haploidización y sexualidad ocurren, la variación morfológica observada es continua y, por tanto, la separación taxonómica entre especies dentro del complejo es difícil y ha sido artificial (Do Valle & Savidan, 1996), generando la necesidad de definir las especies mediante otro tipo de herramientas como las moleculares, que permitan definir grupos naturales con más precisión y en base a esto buscar caracteres diagnósticos que reconozcan especies.

Tabla 1. Especies actualmente reconocidas en el complejo *Bouteloua repens*, distribución y número cromosómico según Gould (1980).

Taxón	Distribución	2n
<i>B. alamosana</i> Vasey	México (Chiapas, Oaxaca), Honduras (Morazán)	40-60
<i>B. americana</i> (L.) Scribn.	Costa Rica (Puntarenas), Venezuela (Guárico)	40
<i>B. radicata</i> (E. Fourn.) Griffiths	Mexico (Guanajuato, Jalisco)	20-60
<i>B. repens</i> (Kunth) Scribn. & Merr.	Estados Unidos (Texas, Arizona), Puerto Rico, México (Aguascalientes, Baja California Sur, Campeche, Chiapas, Durango, Guanajuato, Guerrero, Hidalgo, México, Michoacán, Morelos, Nuevo León, Oaxaca, Puebla, Querétaro, San Luis Potosí, Sonora, Tamaulipas, Veracruz, Yucatán), República Dominicana (Santiago), Honduras (Morazán)	14, 20, 21, 22, 23, 40, 45, 46, 60
<i>B. williamsii</i> Swallen	Mexico (Jalisco, Oaxaca, Zacatecas)	20

ANTECEDENTES

Por su importancia como pasto forrajero, el género *Bouteloua*, ha sido ampliamente estudiado desde el punto de vista ecológico y taxonómico en base a caracteres morfológicos o anatómicos (Griffiths, 1912; Gould, 1980; Herrera Arrieta y De la Cerda Lemus, 1997; y Herrera *et al.*, 2004). Se ha incluido en floras y revisiones de la familia Poaceae y la subfamilia Chloridoideae (Beetle 1981, 1982, 1983, 1986; Beetle *et al.*, 1987; Clayton, 1982; Clayton & Renvoize, 1986; Correl & Johnston, 1970; Davidse & Pohl 1992; Gould, 1968; Gould & Shaw, 1983; Hitchcock, 1951; Jacobs, 1987; McVaugh, 1983; Peterson *et al.*, 1997, 2001; Reeder, 1969; Swallen 1939, entre otros), y en revisiones de complejos de especies basados en datos morfológicos (Columbus, 1993; Gould, 1949; Esparza Sandoval y Herrera Arrieta, 1996; Finley, 1977; Gould & Kapadia, 1962 y 1964; Herrera *et al.* 2008; Johnston, 1982; Kapadia & Gould, 1964; Mohamed & Gould, 1966; Pohl 1994; Reeder & Reeder, 1963, 1969, 1980 y 1990; Roy, 1968, 1970 y 1973; Roy & Gould 1971).

Las relaciones filogenéticas del género han sido exploradas a nivel de subfamilia (Columbus *et al.*, 2007; Hilu & Alice, 2001; Liu *et al.*, 2005a), a nivel intraespecífico con pocas especies del género (Columbus *et al.*, 1998, 2000; Peterson *et al.*, 2015), y a nivel de pocos complejos de especies (Siqueiros, 2001; Siqueiros *et al.*, 2013, 2017). Las primeras contribuciones significativas sobre la filogenia molecular del género, abarcando la mayoría de las especies *sensu* Gould (1980) fueron publicadas por Columbus *et al.* (1998, 2000), quienes proporcionan un panorama general de las relaciones entre las especies de *Bouteloua* basadas en secuencias de ADN de núcleo y de cloroplasto, demostrando la no monofilia de los subgéneros *Bouteloua* y *Chondrosum sensu* Gould (1980), y definiendo la posición de los géneros satélites unisexuales dentro del *Bouteloua* (Columbus, 1999). Derivado de estos resultados, posteriormente se propone la ampliación del género de 42 (Reeder & Reeder, 1980; Beetle, 1982; Columbus, 1996) a 57 especies, con la inclusión de los géneros satélites a *Bouteloua* (Columbus, 1999).

Acerca de las relaciones filogenéticas entre las especies del género, además de las aportaciones de Columbus *et al.* (1998 y 2000), que incluyen sólo una o dos colecciones por especie, están las de Siqueiros *et al.* (2013, 2017) quienes proponen por primera vez, una hipótesis filogenética para un complejo de especies del género *Bouteloua*. Dicha hipótesis muestra la artificialidad en la clasificación de las especies del complejo *B. curtipendula*, ya que de 11 especies, sólo dos son monofiléticas (*B. triaena* y *B. reflexa*) y el resto son agrupaciones artificiales basadas en caracteres homoplásicos. También muestra que las variedades de *B. curtipendula* y *B. uniflora* propuestas por Gould & Kapadia (1964) son artificiales. Lo que resulta en una inconsistencia entre la filogenia del grupo y su clasificación, con los consecuentes problemas de predictividad y congruencia que requieren las clasificaciones naturales.

Además de los trabajos filogenéticos antes mencionados (Columbus *et al.*, 1998, 2000, Siqueiros 2001 y Siqueiros *et al.* 2013, 2017), no se ha publicado algún otro trabajo que se refiera a la filogenia de otros complejos de *Bouteloua*. Sin embargo, el complejo *B. repens* ha sido reconocido desde el punto de vista taxonómico (Griffiths, 1912; Gould, 1969), y ha sido incluido como grupo hermano del complejo *B. curtipendula* en los trabajos de Columbus *et al.* (1998, 2000) y Siqueiros *et al.* (2001, 2013). Pero estos trabajos solo incluyen una colección de cada especie del complejo *B. repens*, lo que impide hacer inferencias sobre la monofilia de las especies y sus relaciones filogenéticas reales.

MARCO TEÓRICO

El estudio de las relaciones filogenéticas, permite entender las dinámicas evolutivas de los diferentes taxa y analizar sus congruencias y discrepancias teóricas utilizando diferentes algoritmos matemáticos y métodos estadísticos. A pesar de que el estudio filogenético de los taxa se inició a partir de la teoría de la selección natural de Darwin hace más de 150 años, no empezó a tener relevancia hasta el trabajo de Hennig (1966), cuando estos estudios se volvieron más objetivos al plantear hipótesis evolutivas testables y falsables. En los últimos años, el número de estudios filogenéticos se ha incrementado debido a la aplicación de métodos estadísticos y a la implementación de nuevos y potentes algoritmos. Métodos y software que unidos a las enormes posibilidades de las nuevas y poderosas computadoras han posibilitado cálculos rápidos y complejos. Pero este reciente auge se debe principalmente a dos factores: al gran avance computacional que ha permitido el procesamiento de inmensas cantidades de datos en muy poco tiempo y al descubrimiento de la enzima Taq-polimerasa, que ha propiciado el incremento de datos procedentes del ADN de una forma impresionante. Gracias a esta enzima, se han desarrollado un gran número de técnicas moleculares que se han traducido en una fuente de generación de datos para estudios filogenéticos.

Uso de caracteres moleculares

En los últimos años el uso de caracteres moleculares en estudios taxonómicos ha aumentado considerablemente y las técnicas más comúnmente utilizadas provienen de las enzimas de restricción y la secuenciación de genes o regiones particulares de ADN (Wats, 2000). Sin embargo, el estudio de las secuencias de genes presenta grandes ventajas sobre otros caracteres moleculares: representa una fuente abundante de caracteres, potencialmente cada nucleótido de la secuencia, tener diferentes propiedades estructurales y funcionales y presentar diferentes tasas evolutivas. Por ello, es uno de los métodos más comúnmente utilizados, y a diferencia de las enzimas de restricción, con las que se muestrean partes del genoma, las secuencias analizan todas las unidades básicas de información de un organismo (Hillis *et al.*, 1996; Lafontaine y Tollervey, 2000). En ellas, los caracteres están representados

por la posición en la secuencia del gen, mientras que los estados de carácter son los nucleótidos que se encuentran en esa posición (Dragon y Filipowics, 1999). Por esto, es muy importante alinear las secuencias obtenidas lo mejor posible antes de utilizarlas y descartar regiones dudosas (Giannasi *et al.*, 1992; Bult y Zimmer, 1993).

Espaciador transcrito interno (ITS) del ADN ribosomal nuclear (nrADN).

Los genes ribosomales y sus regiones espaciadoras asociadas, que en conjunto son llamados ADN ribosomal nuclear (nrADN) tienen un amplio rango de aplicación, desde el origen de la vida hasta los eventos evolutivos más recientes (Hillis y Dixon, 1991; Lafontaine y Tollervey, 2000). El nrADN ha sido ampliamente utilizado en estudios sistemáticos, porque permite la inferencia de relaciones filogenéticas entre taxa muy distantes, debido a que presentan secuencias de bases altamente conservadas con tasas de evolución muy lentas (Hillis y Dixon, 1991; Lafontaine y Tollervey, 2000). De acuerdo con Hillis y Dixon (1991), el arreglo del ADN ribosomal nuclear (nrADN) de un genoma eucariótico, típicamente consiste de algunos cientos de copias repetidas en tándem; cada una compuesta de la unidad transcrita y de la región de los espaciadores externos no transcritos.

En eucariontes, generalmente existen tres o cuatro subunidades de nrADN dependiendo del grupo de organismos (18S, 5.8S y 26S en plantas; 18S, 5S y 28S en animales y 16S, 5S, 5.8S y 25S en hongos) que se caracterizan por su velocidad de sedimentación (unidades Svedburg). Cada subunidad consiste en: (a) la subunidad larga cuyo rango en tamaño va desde 16S (alrededor de 1500 nucleótidos) hasta 28S (más de 4000 nucleótidos); (b) la subunidad pequeña 5.8S (de 160 nucleótidos); (c) la subunidad 18S (1800 nucleótidos); en algunos organismos (d) la subunidad 5S (con 120 nucleótidos). En eucariontes, dos espaciadores transcritos internos (ITS) separan las subunidades 18S, 5.8S y 28S (o sus homólogos), el ITS1 y el ITS2; estos han sido ampliamente utilizados para el esclarecimiento de las relaciones filogenéticas entre taxa a niveles inter e intragenéricos, así como intraespecíficos en algunos grupos (Baldwin *et al.*, 1995; Buckler y Holtsford 1996; Liston *et al.*, 1996).

Las copias de nrADN en el genoma de las plantas, están distribuidas en uno o varios loci cromosómicos denominados regiones organizadoras nucleolares (NORs). El número de NORs determina de alguna manera la velocidad de los procesos de homogenización. En angiospermas se encuentran entre uno y dos, mientras que el número de NORs en algunas gimnospermas es de 10 a 12 (Karvonen y Savolainen, 1993). La familia de genes repetidos experimenta una homogenización rápida en sus secuencias de bases, un proceso conocido como evolución en concierto (un mecanismo genético no mendeliano) y cuyos mecanismos principales lo constituyen el entrecruzamiento desigual y la conversión génica (Baldwin *et al.*, 1995, Wendel *et al.*, 1995). La evolución en concierto y la recombinación sexual tienden a promover la uniformidad de los ITS dentro de individuos y entre individuos de poblaciones (Soltis y Kuzoff, 1993), por lo que en teoría basta muestrear solo algunos individuos para establecer las relaciones filogenéticas entre distintas especies, debido a que la región de los ITS se encuentra relativamente homogénea dentro del genoma, por lo que puede decirse que una sola secuencia sirve para caracterizar a los individuos de una determinada especie (Baldwin *et al.*, 1995).

La variación en las secuencias de genes en familias multigénicas y su distribución entre y dentro de poblaciones es determinada por las tasas de mutación y el efecto de fuerzas evolutivas (flujo génico, selección natural, deriva génica y sistemas de apareamiento) que actúan a nivel poblacional (Charlesworth, *et al.*, 2001). Sin embargo, el proceso de evolución en concierto, afecta la variabilidad de las familias multigénicas a nivel molecular. La tasa de homogenización de las unidades repetidas del nrADN mediante evolución en concierto, depende del número de copias, el número de loci y cromosomas en los cuales se encuentran las copias de estos genes, la localización de los loci en los cromosomas y la tasa de intercambio dentro y entre cromosomas (Hillis *et al.*, 1991; Wendel *et al.*, y 1995; Lafontaine, 2000).

La región de los ITS ha sido considerada como una fuente muy útil de caracteres para estudios filogenéticos en angiospermas (Baldwin *et al.*, 1995), debido a que se encuentran

altamente representados en el genoma, se pueden amplificar con cantidades pequeñas de ADN y las secuencias altamente conservadas dentro de la mayoría de los genes del nrADN son muy útiles en el diseño de oligonucleótidos "universales", lo que facilita la amplificación de los ITS mediante el uso de la reacción en cadena de la polímerasa (PCR) (Liston, 1992).

Una limitación en la utilidad de los ITS en la sistemática de angiospermas, es que presenta una cantidad relativamente pequeña de nucleótidos. En angiospermas, los ITS tienen de 565 a 700 pares de bases (bp) en longitud (Baldwin *et al.*, 1995). Puesto que la subunidad 5.8S (163-164 bp) exhibe niveles muy bajos de variación en su secuencia, solamente los 400-535 bp del ITS1 y el ITS2 son útiles para la reconstrucción filogenética entre géneros y especies relacionadas. No obstante, se ha observado que en algunos grupos la cantidad de caracteres informativos es suficiente para realizar inferencias filogenéticas confiables.

Espaciador intergénico *trnT-L-F*

El ADN del cloroplasto es circular y de los tres genomas presentes en plantas (núcleo, mitocondria y cloroplasto) es el más corto (135 a 160 Kb). En él, los genes se encuentran en orden variable, y están separados por regiones de ADN no codificante (Campbell, 1999). Una de ellas es la *trnT-L-F*, una región altamente variable (Shaw *et al.*, 2005) que comprende tres genes de ARNt (*trnT*^{UGU}, *trnL*^{UAA}, y *trnF*^{GAA}). Las porciones no codificantes de la región incluyen un intron de Grupo I que interrumpe el gen *trnL*, así como los espaciadores intergénicos entre *trnT-trnL* and *trnL-trnF*. Taberlet *et al.* (1991) describió las secuencias de oligonucleótidos situadas en las regiones conservadas del ARNt para la amplificación de cada una de estas regiones y demostró dicha amplificación en plantas terrestres.

Esta región ha sido empleada exitosamente en briofitas, pteridofitas, gimnospermas y angiospermas. Y aunque generalmente, se usa en estudios filogenéticos de especies o géneros cercanamente relacionados, también, se ha demostrado su utilidad para evaluar relaciones entre angiospermas basales (Borsh *et al.*, 2003).

El espaciador intergénico *trnT-trnL* ha sido el menos usado de las regiones propuestas por Taberlet *et al* (1991) debido a las dificultades para su amplificación mediante PCR en algunos grupos de plantas. Aparentemente, debida al primer *trnT* (Taberlet, 1991). Sin embargo, un nuevo protocolo de amplificación, permitió su uso exitosamente, mostrando que dicha región provee mayor variación que otras regiones, incluyendo el intron *trnL*, y el espaciador *trnL-trnF* (Shaw *et al.*, 2005).



PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

A pesar del amplio estudio taxonómico que se ha realizado en el género *Bouteloua*, la delimitación de las especies pertenecientes al complejo *B. repens* frecuentemente es imprecisa y problemática por la similitud morfológica entre sus especies, causando confusión para identificarlas correctamente, especialmente entre *B. radicata* y *B. williamsii* en áreas donde estas especies son simpátricas, o incluso en poblaciones separadas. Así mismo, *B. repens* es morfológicamente muy variable, por lo que en ocasiones circunscribir la especie es complicado. Gould (1969, 1980) hace referencia a nueve formas morfológicas en base a criterios de distribución y nivel de ploidía, sin embargo, no les asigna una categoría taxonómica formal. También menciona que complejo *B. repens*, exhibe fenómenos de poliploidía e hibridación, y sugiere la relación de *B. americana* con *B. juncea*, ambas distribuidas en las Islas del Caribe y Yucatán hasta Centro América y con un gran parecido morfológico. Además, señala la posibilidad de que *B. radicata* y *B. williamsii* sean ecotipos de poblaciones diploides y tetraploides de *B. repens*, y sugiere la posible hibridación entre *B. alamosana*, *B. repens* y *B. williamsii*. Así mismo, la constante aparición de formas intermedias entre *B. radicata* y *B. williamsii*, soportan la hipótesis de hibridación e introgresión, aunque esto no se ha probado experimentalmente. Datos moleculares de núcleo y cloroplasto (Columbus *et al.*, 1998, 2000), apoyan la inclusión de las especies propuestas por Gould (1969) en el complejo, sin embargo, no resuelve las relaciones internas entre ellas y no apoya la relación entre *B. americana* y *B. juncea*.

Debido a la problemática presente dentro del complejo *B. repens*, la delimitación clara de las especies con una clasificación basada en relaciones filogenéticas, así como el conocimiento de los procesos que condujeron su evolución, son indispensables para determinar el valor biológico de cada especie y de sus especies hermanas. Las especies del complejo *Bouteloua repens* y en general la mayoría de *Bouteloua*, son especies forrajeras por excelencia y son de las especies más codiciadas y preservadas de los pastizales de América. Sin embargo, son especies muy difíciles de diferenciar por la similitud que presentan, por lo

que se hace necesario buscar otros criterios de delimitación de especies que permita una identificación clara y certera de las especies, y que sean congruentes con su filogenia.

OBJETIVOS

Objetivo general

Determinar las relaciones filogenéticas entre las especies del complejo *Bouteloua repens*, establecer su monofilia y los dilucidar algunos de los factores que condujeron a su evolución.

Objetivos específicos

- Estimar las relaciones filogenéticas entre las especies del complejo.
- Estimar la monofilia de las especies del complejo.
- Determinar las sinapomorfias morfológicas que caracterizan al clado y sus posibles subclados.

HIPÓTESIS DE INVESTIGACIÓN

El complejo *Bouteloua repens* es un grupo monofilético. Sin embargo, la monofilia de las especies del complejo es incierta.

CAPÍTULO I. FILOGENIA MOLECULAR

MATERIALES Y MÉTODOS

Muestras analizadas

En el análisis de filogenia molecular se incluyeron 62 individuos (mas tres clones *B. williamsii_4121_1-3, 4, 9*) de las especies actualmente reconocidas en el complejo *Bouteloua repens*, que representan el rango de distribución y de variación morfológica del grupo (Figura 1, Tabla 2). Como grupo externo se eligieron 4 especies del complejo *B. curtipendula*, el cual, de acuerdo a Columbus (1998) y Siqueiros *et al.* (2013) es el grupo hermano del CBR.

Las muestras incluidas en el análisis, corresponden a especímenes colectados durante el trabajo de campo; así como a ejemplares de las colecciones de los herbarios de la Universidad Autónoma de Aguascalientes (HUAA), del Instituto de Ecología de la región Bajío (IEB), del Herbario Nacional MEXU, y ejemplares de la colección privada del Dr. J Travis Columbus, profesor investigador del Rancho Santa Ana Botanic Garden, Claremont, CA. Además, se incluyeron en el análisis secuencias disponibles en Genbank con la finalidad de aumentar el número de muestras y buscar más resolución (Tabla 3). El tipo de análisis empleado para descargar las secuencias de Genbank fue el de búsqueda de similitud, que consiste en efectuar una comparación de una secuencia problema con la totalidad de secuencias existentes en una base de datos, utilizando el algoritmo BLAST.

Tabla 2. Muestras de las especies incluidas en el complejo *Bouteloua repens* analizadas en el presente estudio.

ESPECIE	LOCALIDAD	ID*
<i>B. alamosana</i>	Ca. 6 rd. mi. SSE of Alamos along rd. to Río Chuchujachi, 0.9 rd. mi. N of bridge over river, roadside, Alamos, Sonora.	Col_2301
<i>B. alamosana</i>	Hill above Playa Ocotal, at pass entering Ocotal community, in area being developed for housing, Provincia Guanacaste, Costa Rica.	Col_3393
<i>B. alamosana</i>	88 rd. mi. SE of Cd. Oaxaca between El Camarón and El Coyul, at large shrine and pullout along Hwy. 190, San Juan Lajarcia, Oaxaca.	Col_2418
<i>B. alamosana</i>	Río Cuchujaqui, 150 m sobre el cauce del río a partir del puente; a 9 km de la brecha a la mina Corner, Alamos, Sonora.	Siq_5463
<i>B. alamosana</i>	Río Cuchujaqui, 150 m sobre el cauce del río a partir del puente; a 9 km de la brecha a la mina Corner, Alamos, Sonora	Siq_5464
<i>B. americana</i>	Camaguey, Universidad Pedagógica, Camaguey, República de Cuba.	Siq_4686
<i>B. americana</i>	E edge of Puntarenas, where divided Ruta 17 ends, open area between Ruta and beach (S side of peninsula), Provincia Puntarenas, Costa Rica	Col_3382
<i>B. americana</i>	Venezuela	Col_4365
<i>B. radicata</i>	Sierra de San Marcos, Cañón Grande, Ejido Estanque de las Norias, aprox. 43 km al W de la carr. 57 rumbo a Ej. Reforma, Cuatro Ciénegas, Coahuila	Carr_1708
<i>B. radicata</i>	Agua Prieta, Sonora	Siq_5198
<i>B. radicata</i>	Along Hwy. 55 2.3 rd. mi. S of jct. with Hwy. 57, just S of Puente San Sebastian (railroad overpass), Estado de México.	Col_2341
<i>B. radicata</i>	Along Hwy. 80, 11.0 rd. mi. NE of jct. with Hwy. 191 in Douglas, low rocky hill just off S side of hwy., Cochise Co., Arizona, U.S.A.	Col_2462

<i>B. radicata</i>	Chihuahuan Desert, Peloncillo Mtns., Granite Gap, along Hwy. 80 ca. 11 rd. mi. S of Road Forks and jct. with Interstate Hwy. 10, S side of hwy. Hidalgo Co. Nuevo México, U.S.A.	Col_2212
<i>B. radicata</i>	along Redington Rd., ca. 6 rd. mi. NE of jct. with Wentworth Rd., Pima Co., Arizona, U.S.A.	Col_3244
<i>B. radicata</i>	Oaxaca, México	Col_3763
<i>B. repens</i>	Hidalgo, México.	Col_2567
<i>B. repens</i>	Ca. 34 (air) miles NE of San Luis Potosi. 1 km S of San Lorenzo, along Jwy 57-80 to El Huizache, San Luis Potosí.	Henr_6465
<i>B. repens</i>	km 202 de la carretera Durango-Sombrerete, a la orilla de la carretera, Durango, Durango.	Siq_5324
<i>B. repens</i>	km 202 de la carretera Durango-Sombrerete, a la orilla de la carretera, Durango, Durango.	Siq_5325
<i>B. repens</i>	Vegetación xerofítica de los alrededores de El Rodeo, aprox. 10 km al S de la ciudad de Yuscarán; a la orilla de la carretera de Yuscarán a Oropolí, Honduras.	Lin_1669
<i>B. repens</i>	Along Hwy. 289 (Ruby Rd.), 6.3 rd. mi. W of jct. with Interstate Hwy. 19, Santa Cruz Co., U.S.A.	Col_2450
<i>B. repens</i>	Venezuela	Col_4323
<i>B. repens</i>	Veracruz, México	Col_4619
<i>B. repens</i>	Along Hwy. 85 just E of and overlooking Jacala, hillside, Jacala, Hidalgo.	Col_2332
<i>B. repens</i>	Venezuela	Col_4366
<i>B. repens</i>	along rd. (Hwy. 428?) from Autlán de Navarro to Ciudad Guzman, 1.9 rd. mi. E of puente (Puente Tonaya) just W of Tonaya, slope along rd. Tonaya, Jalisco.	Col_2994
<i>B. repens</i>	along Hwy. 190, 1.4 rd. mi. N of Oaxaca border, ca. 4.1 rd. mi. S of Chila, just S of Yacunduchi, ca. 100 m E of hwy. Chila, Puebla.	Col_3031
<i>B. repens</i>	hwy. roadcut, across from entrance to Chaparral Wildlife Mgt. Area, along Farm Rd. 133, 7.7 rd. mi. W of jct. with Interstate Hwy. 35., Dimmit Co. Texas, U.S.A.	Col_3329

<i>B. repens</i>	along dirt rd. to Bajamar fov Ruta 34, ca. 6 rd. km from Ruta 34, [on] ridgetop. Prov. Puntarenas, Costa Rica.	Col_3381
<i>B. repens</i>	Guanajuato, México.	Col_5042
<i>B. repens</i>	Nuevo León, México.	Col_5058
<i>B. williamsii</i>	San Pedro Piedra Gorda, 15 km delante del pueblo, km 62 autopista Aguascalientes-Zacatecas, Cuauhtémoc, Zacatecas.	Her_s/n
<i>B. williamsii</i>	15 km al W del Cerro de La Plumas, San Pedro y San Pablo, Oaxaca.	Paz_344
<i>B. williamsii</i>	Oaxaca, México	Col_4121
<i>B. williamsii</i>	Sabana en el cerro de Noriega, Ixtepec, Oaxaca	Siq_5332
<i>B. williamsii</i>	Sabana en el cerro de Noriega, Ixtepec, Oaxaca	Siq_5327
<i>B. williamsii</i>	Sabana en el cerro de Noriega, Ixtepec, Oaxaca	Siq_5330
<i>B. williamsii</i>	Sabana en el cerro de Noriega, Ixtepec, Oaxaca	Siq_5333
<i>B. williamsii</i>	ca. 1.4 rd. mi. NE of Santa María del Oro, along rd. to El Buruato, Santa María del Oro, Nayarit.	Col_2977
<i>B. williamsii</i>	Zacatecas, México.	Col_5048
<i>B. williamsii</i>	Sonora, México.	Col_5333
<i>B. williamsii</i>	Along Hwy. 15 between La Primavera and jct. with hwy. to Ameca, slope above hwy. and railroad, Zapopan, Jalisco.	Col_2353
<i>B. williamsii</i>	Mpio. Santa María del Oro	Col_2977

*El ID de cada ejemplar corresponde a la abreviatura del nombre del colector (Col: Columbus; Siq: Siqueiros; Her: Herrera; Ort: Ortíz; Lin: Linares) y número de colecta de cada voucher.

Tabla 3. Secuencias en GenBank de las especies del complejo *Bouteloua repens* incluidas en el análisis filogenético.

ESPECE	VOUCHER	ORIGEN	No. ACCESION GENBANK
<i>B. alamosana</i>	Gould12674	México: Oaxaca	KR184829.1
<i>B. americana</i>	Worthington22775	Granada: St. George	EF060188.1
<i>B. americana</i>	Pohl11279	Costa Rica	KR184830.1
<i>B. repens</i>	Peterson21232	México: Durango	GU359271.1
<i>B. repens</i>	Peterson24630	México: San Luis Potosí	KR184937.1
<i>B. repens</i>	Peterson16738	México: Nuevo León	KR184936.1
<i>B. repens</i>	Herrera1474a	México: Jalisco	KR184935.1
<i>B. repens</i>	Gould9667	México: Hidalgo	KR184934.1
<i>B. repens</i>	Gould10027a	USA: Arizona	KR184933.1
<i>B. repens</i>	DeLaCerde5947	México: Aguascalientes	KR184932.1
<i>B. radicata</i>	Herrera1382	México: Aguascalientes	KR1849930.1
<i>B. radicata</i>	Gentry8353	México: Durango	KR184929.1
<i>B. williamsii</i>	Peterson8149	México: Chihuahua	KR184979.1
<i>B. williamsii</i>	Peterson8060	México: Chihuahua	KR184978.1
<i>B. williamsii</i>	Peterson15996	México: Zacatecas	KR184977.1
<i>B. williamsii</i>	Breedlove11868	México: Chiapas	KR184976.1

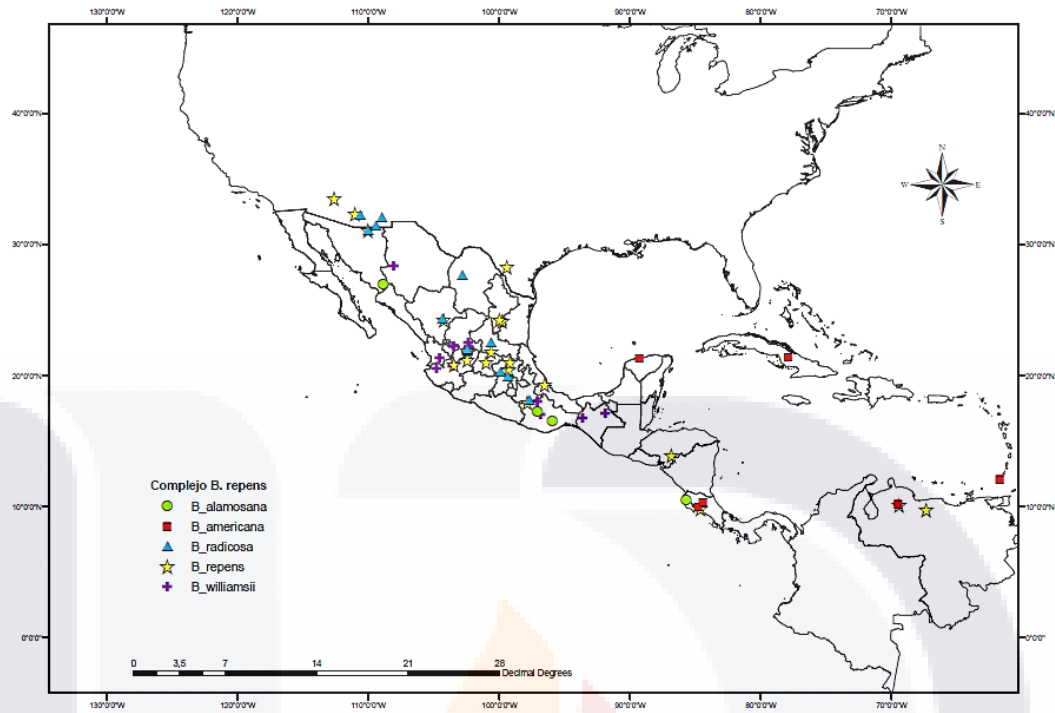


Figura. 1. Distribución de las muestras del complejo *Bouteloua repens* incluidas en los análisis filogenéticos.

Extracción de ADN

La extracción de ADN se realizó a partir de fragmentos foliares procedentes de los ejemplares colectados o de ejemplares de herbario, según la disponibilidad de muestra. Los trozos de hoja del material colectado fueron deshidratados con sílica-gel previamente a la extracción. El ADN se extrajo siguiendo el protocolo del CTAB (Doyle & Doyle, 1987) incorporando algunas modificaciones (ANEXOS 2 y 3). La cuantificación de ADN se realizó mediante el espectrofotómetro NanoVue Plus de General Electric, midiendo la absorbancia a 260 nm y el grado de pureza de las extracciones se determinó con el coeficiente de absorbancia 260/280nm. El ADN resultante fue conservado a -20°C.

Marcadores moleculares utilizados

Gen nuclear

La región de ADN ribosomal nuclear elegida para determinar las relaciones evolutivas de las especies del complejo *B. repens*, fue la ITS1-5.8S-ITS2 (Figura. 2). Los oligos utilizados para amplificar la secuencia de éste fragmento, fueron los 18SFgrass y 26SRgrass para las muestras procesadas en el Rancho Santa Ana Botanic Garden y 18SF y 26SR para las muestras procesadas en la Universidad Autónoma de Aguascalientes (Tabla 4).

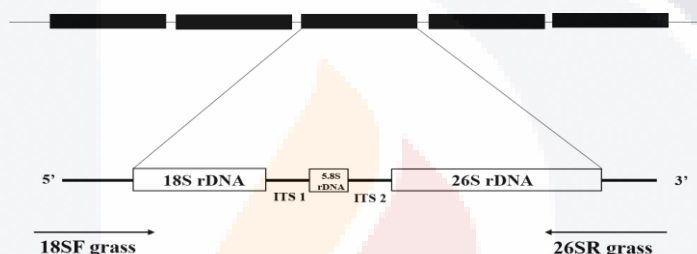


Figura. 2 Esquema del espaciador transcrito interno de ADN ribosoma nuclear (ITS) se muestran los dominios secuenciados (ITS1, 5.8S, e ITS2) y los oligonucleótidos para amplificación (Elaboración propia, 2016).

Gen de cloroplasto

La zona del genoma de cloroplasto elegida para hacer éste estudio fue la comprendida entre los genes *trnT* y *trnF* (Figura. 2). Esta zona, además de que los genes codifican para el tRNA de la treonina (*trnT*), el tRNA de la leucina (*trnL*) y el tRNA de la fenilalanina (*trnF*), cuenta con varios cientos de bases de ADN no codificante entre estos genes y dentro del intrón del gen *trnL* (Taberlet *et al.*, 1991).

Para diseñar las secuencias correspondientes a estos genes, la amplificación se realizó en dos fragmentos mediante el método de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y utilizando dos pares de oligos: *trnT* A3/ *trnLL* INT1R, para el fragmento *trnT-trnL*; y *trn* F3/ *trn* 5' BR para el fragmento *trnL-trnF* (Figura. 3) diseñados por Columbus (2010) (Tabla 4).

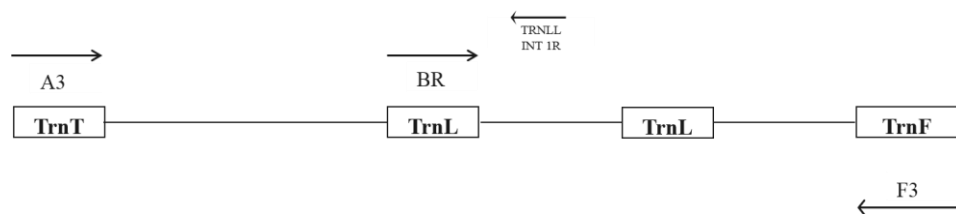


Figura. 3 Esquema de la región trnT-L-F y los cebadores utilizados en el presente trabajo para su amplificación (Cerros-Tlatilpa y Columbus, 2010, modificado).

Condiciones de amplificación del ADN

Gen nuclear

Para la amplificación se usaron dos tipos de mezclas de reacción de polimerasas: REDTaq® ReadyMix y Phusion® High-Fidelity. Las reacciones de PCR con REDTaq® ReadyMix se realizaron en volúmenes finales de 25 µl, de los cuales, 2 µl contenían ADN en suspensión, 12.5 µl de la solución “REDTaq® ReadyMix™ PCR Reaction Mix” (Sigma Aldrich), 1 µl de cada oligo (Tabla 4) y el resto del volumen de agua ultra pura. Los parámetros de la amplificación por PCR fueron establecidos para las muestras utilizando las siguientes condiciones: 1 ciclo de 94°C durante 4 min., 35 ciclos de 94°C durante 1 min, 52°C durante 1 min., y 72°C durante 1 min.; con un ciclo de extensión final de 72°C durante 7 min. Para las muestras en donde las reacciones de amplificación no fueron efectivas, se adicionó albúmina sérica bovina (BSA) (8µg/µl), utilizada para incrementar el rendimiento, la especificidad y la consistencia de las reacciones de PCR. Para corroborar la presencia de una única banda, los productos de PCR obtenidos fueron corridos en un gel de Agarosa 1.2% y teñido con Bromuro de Etidio (0.1 µg/ µl).

Las reacciones de PCR donde se usó Phusion® High-Fidelity DNA Polymerase se realizaron a volúmenes finales de 20 µl, de los cuales, 11.8 µl fueron de agua destilada estéril, 4.0 µl de buffer de reacción, 1.0 µl del cebador 18SF grass, 1.0 µl del cebador 26SR grass, 0.6 µl de dNTPs, 0.6 µl de DMSO y 0.15 µl de “Phusion® High-Fidelity DNA Polymerase” (New England BioLabs® Inc). Las condiciones de amplificación fueron las siguientes: 1

ciclo de 98°C durante 30 seg., 35 ciclos de 98°C durante 10 seg, 56°C durante 30 seg., y 72°C durante 30 seg.; con un ciclo de extensión final de 72°C durante 10 min.

Gen de cloroplasto

Las reacciones de amplificación se realizaron a volúmenes finales de 20 µl, de los cuales, 11.6 µl fueron de agua destilada estéril, 4.0 µl de buffer de reacción, 1.0 µl del cada uno de los oligos (trnT A3 y trnLL INT1R para la región trnT-L y trnF3 y trnL 5' BR para la región *trnL-F*) (Tabla 4), 0.6 µl de dNTPs, 0.6 µl de DMSO y 0.15 µl de “Phusion® High-Fidelity DNA Polymerase” (New England BioLabs® Inc). Las condiciones de amplificación fueron las siguientes: 1 ciclo de 98°C durante 2 min., 30 ciclos de 98°C durante 10 seg, 59°C durante 20 seg., y 72°C durante 20 seg.; con un ciclo de extensión final de 72°C durante 7 min.

Tabla 4. Secuencias de los oligonucleótidos utilizados para amplificar las diferentes regiones genómicas en este estudio.

PRIMER	SECUENCIA (5'-3')	REFERENCIA
ITS_18SF	CGATTGAATGGTCCGGTGAAG	Prince, 2010
ITS_26SR	AGGACGTTTCTACAGACTACAA	Prince, 2010
ITS_18SFgrass	ATTGAATGGTCCGGTGAAG	Columbus, J. T., sin publicar
ITS_26SRgrass	GACGCCTCTCCAGACTACAA	Columbus, J. T., sin publicar
trnT A3	GCCGACTATCGGATTTGAACCG	Columbus, J. T., sin publicar
trnLL INT 1R	CGTTAGAACAGCTTCCATTGAG	Columbus, J. T., sin publicar
trn F3	AGATTTGAACTGGTGACACGAG	Columbus, J. T., Feb 2010
trnL BR	GATATGGCGAAATCGGTAGA	Columbus, J. T., sin publicar

Secuenciación de ADN

Los amplicones obtenidos del trabajo de laboratorio realizado en la Universidad Autónoma de Aguascalientes, fueron enviados al laboratorio Macrogen Inc. (Maryland, EUA) donde fueron purificados y secuenciados de manera unidireccional.

Los productos de PCR obtenidos en el Rancho Santa Ana Botanic Garden, fueron purificados mediante el protocolo de precipitación PEG (Polietilenglicol) (ANEXO 4); una vez limpios, se sometieron a un ciclo de PCR de secuenciación, utilizando un volumen final de 15 μ l, usando 9.75 μ l de agua destilada estéril (dH₂O), 3.0 μ l de Big Dye Buffer, 0.50 μ l de Big Dye y 0.75 del cebador correspondiente. La reacción consistió de 35 ciclos de 96°C por 15 seg., 48°C por 10 seg., y 60°C por 4 min. Posterior al ciclo de secuenciación, las muestras fueron limpiadas mediante el protocolo de Sephadex (ANEXO 5) y cargadas en un secuenciador ABI Prism™ 3130xl de Applied Biosystems.

Caracterización de las secuencias

Las secuencias fueron interpretadas y editadas con el programa Geneious 9.1.2 (<http://www.geneious.com>, Kears *et al.*, 2012), alineadas con la aplicación “Align by Muscle” del software Mega v.6.06 (Tamura y col., 2013) y comprobadas visualmente con Bioedit v.7.2.5 (Hall,2013). Debido a la presencia de inserciones y deleciones (indels) en las secuencias fue necesario insertar espacios para poder alinearlas. Estos indels no suceden de forma aleatoria en las diferentes zonas dentro del genoma, sino que parecen estar asociados a motivos específicos de la secuencia de ADN (Kelchner, 2000). Estos motivos pueden ser: (i) regiones con repeticiones de mononucleótidos y microsatélites (Levinson & Gutman, 1987); (ii) regiones donde se generen bucles (loops) en la estructura secundaria (Kelchner, 2000); (iii) regiones con horquillas (hairpins) en la estructura secundaria (Kelchner & Wendell, 1996); (iv) regiones donde se favorezca la recombinación intramolecular (Kelchner, 2000).

Además del alineamiento de las secuencias de ADN nuclear y ADN de cloroplasto de manera individual, se realizó una matriz de datos combinados (ITS + *trnT-L-F*) para tratar de mejorar la resolución en los análisis filogenéticos. La edición de la matriz combinada se realizó en el software Bioedit v.7.2.5 (Hall,2013).

Análisis filogenético

Las matrices de datos de ITS, *trnT-L-F* y combinada, se analizaron mediante el método de inferencia Bayesiana utilizando el software MrBayes 3.1.1. (Ronquist y Huelsenbeck, 2005). El análisis se condujo usando el mejor modelo de sustitución para cada marcador molecular provisto por la aplicación de JModeltrest disponible en el portal CIPRES (Miller, *et al.*, 2010). Cada modelo se eligió utilizando el criterio de información de Akaike (AIC; Akaike, 19974); así, el modelo seleccionado para ITS y *trnT-L-F* fue el modelo general de tiempo reversible (GTR; Tavaré, 1986) y tasa de variación de distribución gamma (G; Yang, 1993).

Dos cadenas de Markov (MCMC= Markov chain Monte Carlo) fueron ejecutadas simultáneamente, cada uno se realizó durante 10 millones de generaciones. Los árboles se muestrearon cada 1000 generaciones. El burnin se verificó visualmente, fueron excluidos el 20% de los árboles, los restantes fueron utilizados para generar un árbol consenso de mayoría con las probabilidades posteriores sobre las ramas.

RESULTADOS

Los alineamientos de las secuencias correspondientes a los fragmentos ITS y *trnT-L-F*, se encuentran en los Anexos 6 y 7 respectivamente. Para ITS, la longitud total de las secuencias alineadas más los indeles codificados es de 617 caracteres; para la región *trnT-L-F*, la longitud total del alineamiento es de 1460 caracteres; y la matriz de datos combinados, tiene una longitud total de 2082 caracteres, incluyendo los indeles codificados.

Espaciador transcrito interno (ITS).

La hipótesis basada en ITS, reveló la monofilia del complejo *Bouteloua repens*, con altos niveles de probabilidad posterior (PP=100%). El clado presenta una politomía desde su primera ramificación, en la cual, el primer grupo en diversificar está formado por un par de clones de la accesión *williamsii* 4121 (4 y 9) de Oaxaca, con niveles bajos de soporte (51% PP). El siguiente grupo en diversificar, incluye una politomía formada por las accesiones *radicosa* 3244 y 2212 (de Estados Unidos y Nuevo León) y *williamsii* 8060 (Chihuahua) sin resolver; una asociación medianamente soportada (60%) formada por la accesión *radicosa* 2462 de Estados Unidos y una accesión sin identificar (*Bouteloua* sp. 4366) de Venezuela; finalmente, la rama más derivada de ésta politomía presenta una asociación de las accesiones *williamsii* 5333 y 8149 (de Sonora y Chihuahua) y *radicosa* 5198 (de Sonora) como hermana de éstas dos, con bajos niveles de soporte (59%).

En la agrupación más derivada del complejo, las accesiones *williamsii* 5330, 5332 y el clon 1-3 de la accesión *williamsii* 4121 forman un grado, que es grupo hermano de una politomía débilmente soportada (52%); en la cual, dos accesiones de *B. radicosa* (2341 y 1708) y tres de *B. williamsii* (15996, 11868 y 5327) permanecen sin resolver. Dicha politomía incluye una agrupación robusta (100% PP) que contiene a las accesiones *williamsii* 5333 y 344, y *radicosa* 3763; con 66% de probabilidad posterior se forma una politomía, que contiene un grupo que con 93% PP agrupa a las accesiones de *williamsii* 2353, 2977 y 5048 de Jalisco, Nayarit y Zacatecas y las ubica como hermanas de una politomía formada por *radicosa* 1382, 8353 y *williamsii* s/n (de Aguascalientes, Durango y Zacatecas). El siguiente

grupo en divergir, está formado por todas las accesiones de *B. alamosana*, *B. americana* y *B. repens* con altos niveles de soporte (82% PP); éste exhibe una politomía en la cual, el primer grupo en diversificarse está integrado por las accesiones *alamosana* 2301, 5463 y 5464, todas de Sonora, con altos niveles de apoyo (99% PP); y representa el grupo hermano de una agrupación medianamente soportada (70%) que incluye un clado formado por *alamosana* 12674, 2418 de Oaxaca y 5464 de Costa Rica (100%) y al clado monofilético que agrupa a todas las accesiones de *B. americana* con un alto valor de probabilidad posterior (100%). De acuerdo a ésta hipótesis, el clado más derivado del complejo, es el que incluye a todas las accesiones de la especie *B. repens*, presentándola como monofilética con altos niveles de probabilidad posterior (98%); éste clado incluye un grado formado por *repens* 4619 y 16738, y una politomía en la cual se distinguen tres subclados, el primero integrado por las accesiones *repens* 6465 y 5324 de San Luis Potosí y Durango con un alto nivel de apoyo (96% PP); el segundo compuesto por las accesiones *repens* 2450 y 10027a de Estados Unidos, y finalmente, el más derivado compuesto por una politomía en la cual, se agrupan *repens* de Costa Rica, Venezuela e Hidalgo (3381, 4323 y 2332) con altos niveles de soporte (100%), y *repens* de Jalisco y Honduras (2994, 1474a y 1669), con 97% de probabilidad posterior (Figura 4).

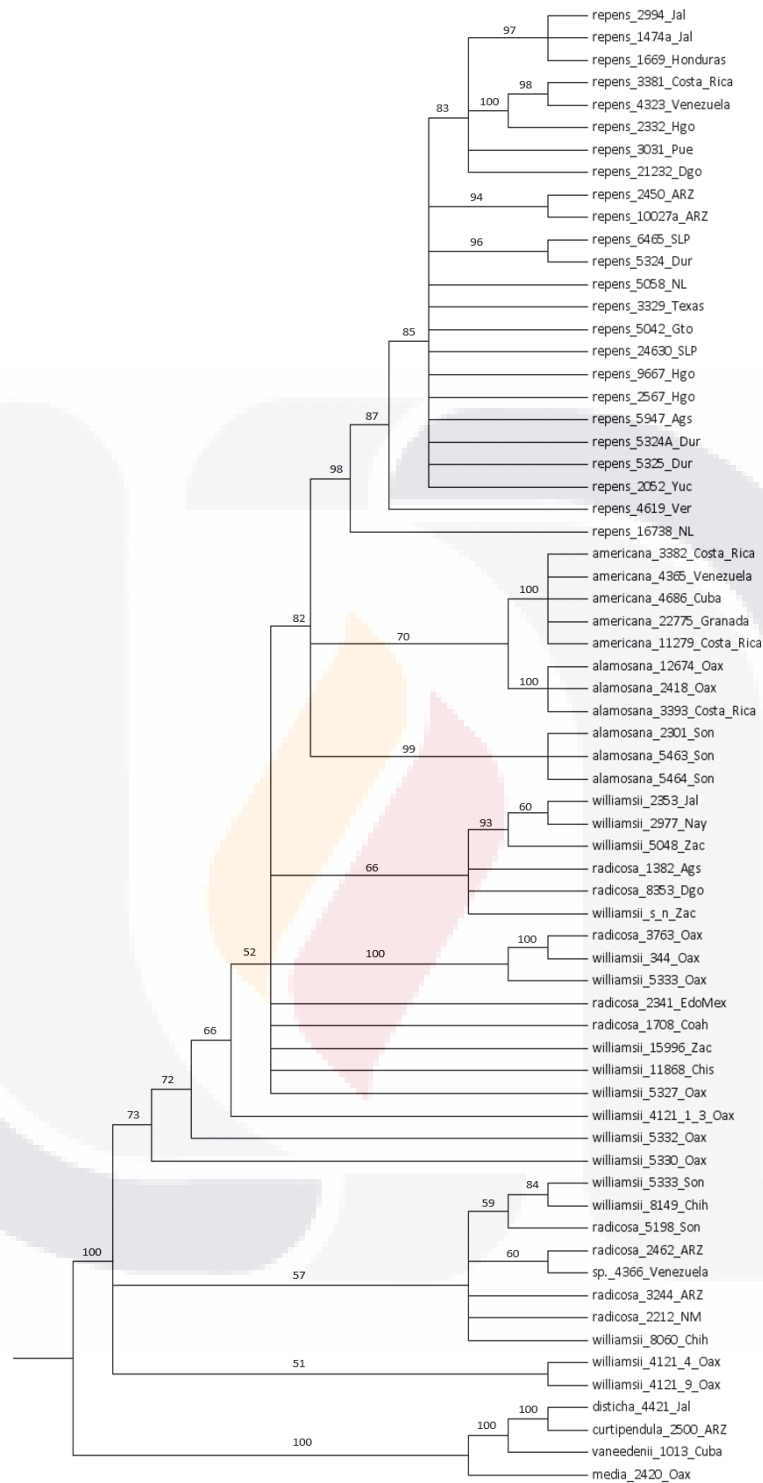
Plastidio (*trnT*- *trnL*- *trnF*).

La hipótesis inferida mediante datos de cloroplasto (*trnT-L-F*) confirmó la monofilia del complejo *B. repens* con altos niveles de soporte (100% PP), sin embargo, las relaciones intraespecíficas que muestra, son diferentes a las sugeridas por ITS. Éste clado también forma una politomía desde el primer nodo, en la cual, las relaciones de nueve accesiones de *B. radicata* y *B. williamsii* permanecen inciertas. La topología presenta una politomía medianamente soportada (70% PP) que incluye a las accesiones *radicata* 3244 y *williamsii* 5333 sin resolver y una asociación fuertemente soportada (100% PP) que contiene dos subgrupos con alta probabilidad posterior (100%), uno formado por *radicata* 1708 y *williamsii* s/n de Coahuila y Zacatecas; y otro formado por *williamsii* 5330, 5332 y 5333 de Oaxaca y *radicata* 5198. Al igual que en la filogenia inferida mediante ITS, el grupo más derivado del complejo, es el formado por las accesiones de las especies *B. alamosana*, *B.*

americana y *B. repens* (92% PP); dentro de él se incluye al ejemplar no identificado de Venezuela (*Bouteloua* sp. 4366) como hermano del clado de *B. americana* (99%); también se incluye un clado fuertemente soportado (99%) que agrupa a todas las accesiones de *B. alamosana*, sugiriendo su monofilia, e incluye un subclado formado por las accesiones de Costa Rica y Oaxaca, y una politomía formada por las accesiones de Sonora; finalmente, como el grupo más derivado del complejo, se muestra al clado fuertemente soportado (100%) de las accesiones de *B. repens* (Figura. 5).

Combinado (ITS + *trnT-L-F*)

La hipótesis de datos combinados muestra de manera general los mismos resultados que la hipótesis basada en ITS. Reafirmando la monofilia (100% PP) del complejo *B. repens* y la formación de una politomía que incluye como primer grupo en diversificar, a la asociación formada por los clones 4 y 9 de la accesión *williamsii* 4121 con bajos niveles de apoyo (61% PP); a una agrupación bien soportada (94% PP) entre las accesiones *radicosa* 3244 (Arizona) y *williamsii* 5333 (Sonora); y a las accesiones *radicosa* 4262 de Arizona y a un individuo sin identificar de Venezuela formando una asociación con mayor soporte (98% PP) que el que se muestra para ésta misma agrupación en la hipótesis de ITS (60%). El grupo más derivado de la politomía principal está formado por una politomía débilmente soportada (65% PP) que incluye sin resolver a las accesiones *radicosa* 2341 y a los clones 1-3 de *williamsii* 4121; un clado bien soportado (100% PP) de las accesiones *williamsii* 5330 y 5332 de Oaxaca; una asociación robusta (97% PP) entre las accesiones *radicosa* 3763 y *williamsii* 5333; un clado con 100% de probabilidad de incluye a *williamsii* 2353, 2977 y 5048. El grupo más derivado del complejo incluye con altos niveles de apoyo (93% PP) a todas las accesiones de las especies *B. alamosana*, *B. americana* y *B. repens*. Ésta politomía incluye a un clado que contiene a las accesiones *alamosana* 5463, 5464 y 2301 de Sonora (99% PP); asocia un grupo de *B. alamosana* del Sur (Costa Rica y Oaxaca) como grupo hermano del clado *B. americana* con bajos niveles de soporte (60% PP) y coloca al clado *B. repens* como el más derivado del complejo con altos niveles de soporte (100% PP).



1.83

Figura 4. Árbol filogenético realizado con inferencia Bayesiana analizando los datos de ADN nuclear (ITS) de los individuos del complejo *B. repens* y grupo hermano. Valores de robustez de probabilidad posterior (PP) situados sobre las ramas. Número de generaciones= 10 000 000; burnin=0.25.

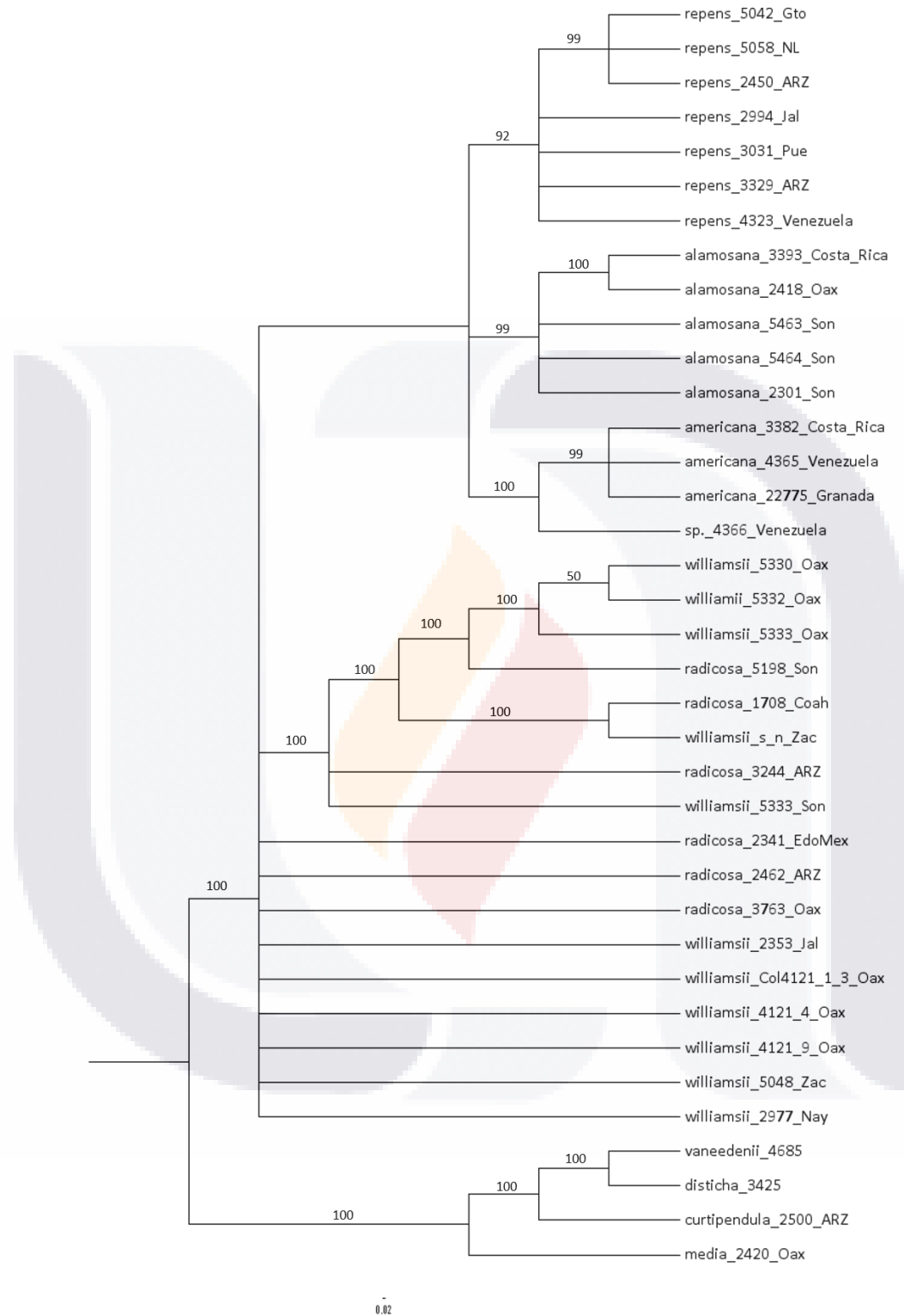


Figura. 5. Árbol filogenético realizado con inferencia Bayesiana analizando los datos de ADN de cloroplasto (trnT-L-F) de los individuos del complejo *B. repens* y grupo hermano. Valores de robustez de probabilidad posterior (PP) situados encima de las ramas. Número de generaciones= 10 000 000; burnin=0.25.

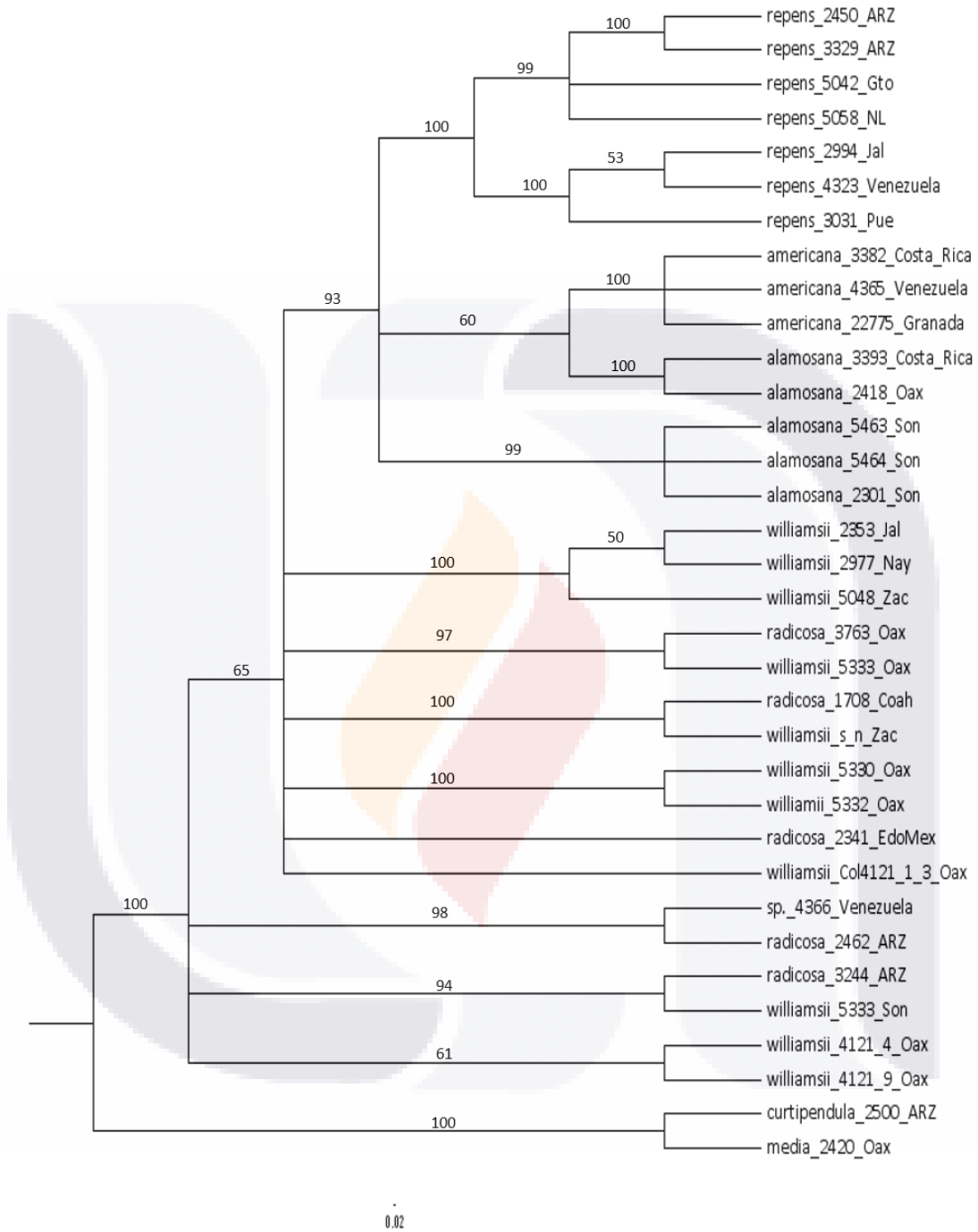


Figura. 6. Árbol filogenético realizado con inferencia Bayesiana analizando las secuencias de datos combinados (ITS + trnT-L-F) de los individuos del complejo *B. repens* y grupo hermano. Valores de robustez de probabilidad posterior (PP) situados encima de las ramas. Número de generaciones= 10 000 000; burnin=0.25.

DISCUSION

Los resultados de los marcadores moleculares analizados (ITS, *trnT-L-F* y datos combinados), muestran la monofilia del complejo *Bouteloua repens*, tal como había sido propuesto por Columbus (1998) y Peterson (2015) en filogenias del género *Bouteloua* que incluyen un número reducido de muestras del CBR. Los marcadores moleculares utilizados (ITS y *trnT-L-F*), mostraron tener una menor resolución con éste grupo de datos, que la obtenida por Columbus (1998, 2000, 2007, 2010) para accesiones pertenecientes a la subfamilia Chloridoideae y Siqueiros (2001) y Siqueiros *et al.* (2013, 2017) para el complejo *B. curtispindula* (grupo hermano del CBR). Sin embargo, aunque no proveen la información necesaria para determinar las relaciones intraespecíficas de cada uno de los taxones, proporcionan datos para discriminar los grupos naturales incluidos en el grupo de estudio.

Las hipótesis filogenéticas inferidas mediante datos nucleares y combinados (ITS+*trnT-L-F*), resuelven a la especie *Bouteloua alamosana* como un grupo parafilético, sin embargo, la filogenia inferida mediante ADN de cloroplasto (*trnT-L-F*), la soportan como un grupo natural. Las discrepancias mostradas por ambas filogenias, pueden explicarse en gran medida por el origen parental de los datos analizados; así, la monofilia de la especie sugerida por los datos de *trnT-L-F*, se debe a que el genoma de cloroplasto en angiospermas es típicamente de herencia materna (Eguiarte, 2003), lo que significa que todos los descendientes del parental transmisor son idénticos entre sí y con su progenitor, en cuanto a los genomas citoplásmicos. Por ello, podemos inferir que las poblaciones de *B. alamosana* del Norte y del Sur comparten un ancestro que heredó su genoma de cloroplasto, pero el aislamiento geográfico de ambas poblaciones permitió la recombinación genética con otras especies del complejo (*B. americana*) que comparten su área de distribución, originando variaciones en su genoma nuclear que se reflejan en la parafilia mostrada por la hipótesis de ITS.

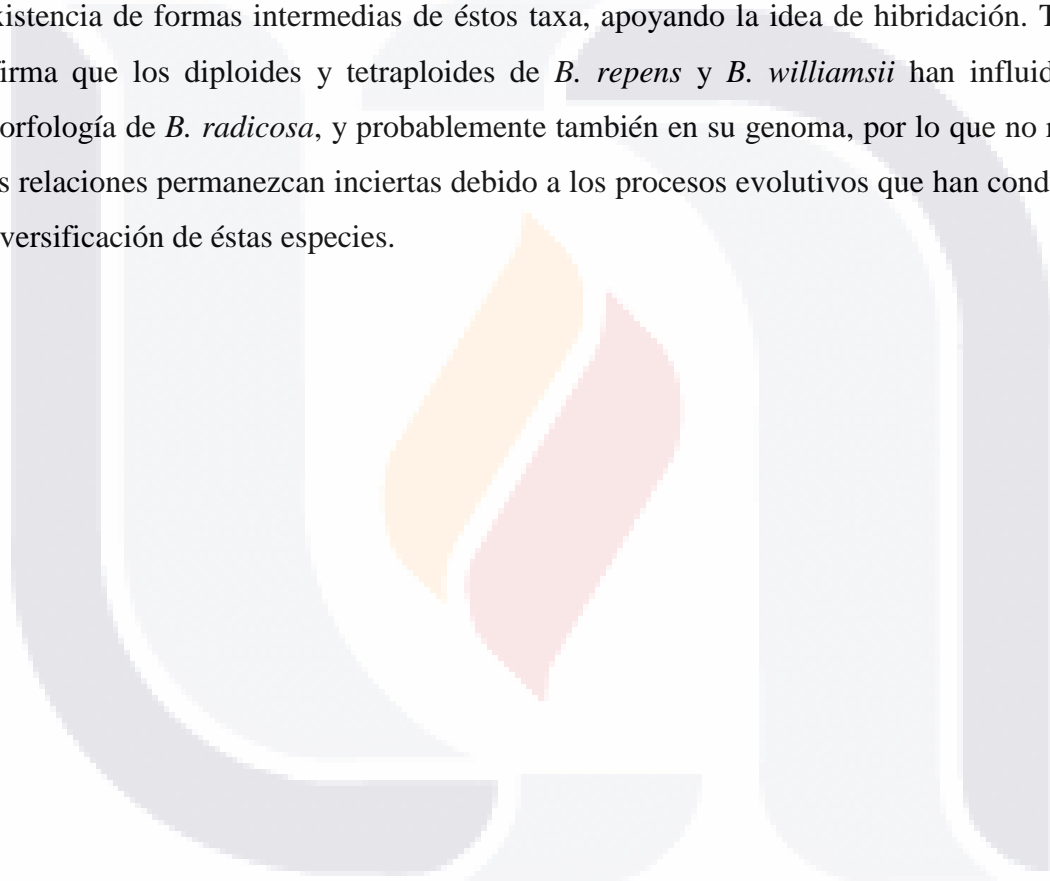
Por otro lado, *B. americana* se resuelve en todas las hipótesis como grupo monofilético (Figuras. 4, 6, 9), y apoya lo mencionado por Peterson *et al.* (2015). Sin

embargo, existen discordancias en cuanto a sus relaciones interespecíficas, pues la filogenia de ITS y la combinada la sitúan como grupo hermano de los individuos de *B. alamosana* de Costa Rica y Oaxaca con altos niveles de soporte, pero la filogenia de *trnT-L-F* la ubica como grupo hermano de un ejemplar sin identificar (*Bouteloua sp. 4366*) distribuido en Venezuela, el cual no pudo ser identificado morfológicamente bajo ninguna de las especies actualmente reconocidas del complejo, pero sí como perteneciente al grupo de estudio. La filogenia de cloroplasto de éste individuo (*Bouteloua sp._4366*), sugiere que comparte ancestría directa con los individuos de la especie *B. americana* (100% PP), mientras su filogenia nuclear, la ubica en los clados más basales de la hipótesis asociada a *B. radicata* y *B. williamsii*, aunque con muy bajo soporte (60% PP). Dado que su morfología es distinta a la que exhiben las especies con las se asocia molecularmente y a que la combinación de sus caracteres morfológicos no permitió identificarla como ninguna de las especies actualmente reconocidas en el CBR es posible que éste sea un taxón no descrito originado por procesos de hibridación entre *B. radicata* y *B. americana*.

En todas la hipótesis, *B. repens* representa un grupo monofilético con 98% de soporte de PP, lo que concuerda con los resultados de Columbus (1998) y Peterson *et al.* (2015). *Bouteloua repens* es la especie más ampliamente distribuida a lo largo de todo el rango de distribución del complejo, por lo tanto, esperaríamos variación entre los individuos muestreados. No obstante, la poca sensibilidad de los marcadores utilizados a este nivel no permitió la resolución intraespecífica. Sin embargo, la presencia de muestras con morfologías intermedias como *repens 2567* y *repens 2332* de Hidalgo, que presentan flores rudimentarias típicas de *B. radicata* y *B. williamsii* respectivamente, apoya la hipótesis de que la superposición en la variación morfológica asociada con la adaptación al hábitat, son características adquiridas mediante procesos de introgresión con *B. williamsii* y posiblemente *B. alamosana* y *B. americana* (Gould, 1969).

Nuestros resultados muestran que *B. radicata* y *B. williamsii* son los taxa más basales, y muestran la no diferenciación molecular entre estas dos especies. Las dos especies se resuelven como politomías poco soportadas a excepción de las muestras *radicata_3763*,

williamsii_344 y *williamsii_5333*, las cuales forman un clado con un soporte de 100% de probabilidad posterior. Las relaciones inter e intraespecíficas de estas especies permanecen inciertas en las hipótesis inferidas con los datos analizados en éste trabajo. Además, las múltiples formas intermedias entre las dos especies encontradas en el campo, nos hacen suponer que puede haber un proceso de hibridación entre ellas. Adicionalmente, la presencia de distintas copias (clones) del fragmento ITS del individuo *williamsii_4121* en distintos clados, sugiere un posible origen híbrido de ésta especie. Gould (1969), menciona la existencia de formas intermedias de éstos taxa, apoyando la idea de hibridación. También afirma que los diploides y tetraploides de *B. repens* y *B. williamsii* han influido en la morfología de *B. radicata*, y probablemente también en su genoma, por lo que no raro que las relaciones permanezcan inciertas debido a los procesos evolutivos que han conducido la diversificación de éstas especies.



CAPÍTULO II. EVOLUCIÓN DE CARACTERES MORFOLÓGICOS

Un árbol filogenético refleja las relaciones entre individuos basándose en caracteres específicos (secuencias de nucleótidos, de aminoácidos o incluso observaciones sobre la morfología de diferentes organismos), los cuales, de acuerdo a su aparición dentro de una hipótesis, pueden ser ancestrales o derivados. Así, los caracteres ancestrales (o primitivos) son aquellos que se presentan en los organismos actuales pero son similares a los de sus ancestros lejanos; y los caracteres derivados se presentan en los organismos actuales como una versión modificada de los que tenían sus ancestros (caracteres derivados).

Por ejemplo, si una macromolécula tiene en una posición dada el mismo nucleótido o el mismo aminoácido que el ancestro común de todas las otras macromoléculas con las que se está comparando, entonces diríamos que ese carácter se encuentra en un estado ancestral o plesiomórfico. En cambio, si en esa posición hay un nucleótido o un aminoácido diferente del que tenía el ancestro, el estado de ese carácter para esa secuencia sería derivado o apomórfico. Los caracteres apomórficos que sólo están presentes en una de las secuencias estudiadas se denominan autoapomorfías (formas derivadas aisladas) mientras que los estados de carácter derivados que estén presentes en varias secuencias se llaman sinapomorfías (formas derivadas compartidas).

Además, cuando dos o más secuencias tienen un estado de carácter idéntico (por ejemplo el mismo nucleótido en la misma posición), la similitud puede explicarse porque las secuencias heredaron ese estado para ese carácter de su ancestro común, en cuyo caso se trataría de una homología. Pero, también es posible que la similitud se deba a que cada secuencia adquirió independientemente ese estado de carácter, sin que el carácter tuviera ese estado en el ancestro común, en cuyo caso se trataría de una homoplasia. Por lo que sólo la homología refleja adecuadamente la ancestría común de los organismos; y la homoplasia no es un buen indicador de las relaciones filogenéticas porque no refleja la ancestría común (Page y Holmes, 1998; Morrone, 2000).

Los caracteres morfológicos se comportan de la misma manera, y considerarlos en los estudios de filogenia molecular es de suma importancia porque juegan un papel fundamental en la inferencia de relaciones de parentesco (Martínez, *et al.*, 2013), pues como se mencionó anteriormente, las similitudes y homologías entre estructuras pueden ser vistas como el resultado de ascendencia a partir de un ancestro común (Pérez-García y Mendoza, 2002); y además, debido a su facilidad de observación, éste tipo de caracteres son utilizados en la taxonomía tradicional para la mayoría de las clasificaciones, por lo que deben ser elegidos cuidadosamente para que reflejen la historia natural de un grupo en particular. Sin embargo, uno de los problemas más comunes en la observación superficial de los aspectos morfológicos de las plantas, es que es un método poco fiable para separarlas en grupos naturales (Pérez-García y Mendoza, 2002). Pues éstas, al ser organismos inmóviles han desarrollado mecanismos que les permiten tolerar y superar las condiciones ambientales adversas, tales como la plasticidad fenotípica, que favorece a las especies ante condiciones heterogéneas, generando diferencias morfológicas en individuos de la misma especie de acuerdo al hábitat donde se desarrollan.

Por lo anterior, es de suma importancia integrar datos morfológicos y moleculares, en la inferencia de relaciones ancestro-descendiente, pues mediante el uso de herramientas computacionales es posible inferir los estados de carácter plesiomórfico y apomórfico dentro de un grupo de estudio en particular, y corroborar que la clasificación tradicional de cada taxa, así como sus caracteres diagnósticos (sinapomorfias) sean congruentes con su historia evolutiva. Respecto a esto, algunos autores han relacionado caracteres morfológicos con filogenia molecular para establecer si las características diagnósticas de sus grupos de estudio reflejan las relaciones reales que existen entre ellos, así, tenemos que Columbus *et al.* (2007), infirieron la filogenia de la subfamilia Chloridoideae, y evaluó el nivel de homoplasia de caracteres morfológicos (tipo de inflorescencia, número de flores por espiguilla, y número de nervios en la lema), con la finalidad de encontrar evidencias que apoyaran cambios en la clasificación de la subfamilia; sus resultados mostraron homoplasia en todos los caracteres tradicionalmente usados en la clasificación de los chloridoideos y la filogenia molecular les permitió proponer una nueva clasificación de los miembros de la subfamilia. Columbus *et al.*

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

(1998) estimaron la filogenia de *Bouteloua* y géneros relacionados con él, e incluyeron datos morfológicos y anatómicos con la finalidad de entender su evolución, así como determinar la monofilia de géneros, taxones intragenéricos y grupos informales (e.g. complejo *B. curtipendula* y complejo *B. repens*) y determinar la distribución filogenética de distintos fenotipos sexuales. Sus resultados mostraron homoplasia en los caracteres morfológicos, anatómicos y rasgos del sistema reproductivo evaluados.

Por otro lado, Siqueiros *et al.* (2013) proponen la primera hipótesis filogenética a partir de datos moleculares de núcleo y cloroplasto, para un grupo de especies cercanamente relacionadas como es complejo *Bouteloua curtipendula* y evalúan cuatro de los caracteres más usados en la circunscripción de sus especies. Sus resultados muestran la artificialidad de la clasificación de las especies del complejo, pues de 11 especies, sólo dos son monofiléticas (*B. triaena* y *B. reflexa*), y el resto son agrupaciones artificiales basadas en caracteres homoplásicos como número de espiguillas por rama, presencia de estolones o rizomas y color de las anteras. Respecto a éste complejo, un estudio acerca de la diversidad genética de las poblaciones de *B. curtipendula*, sugiere que no existen caracteres morfológicos que ayuden a circunscribir a la especie, y que *Bouteloua curtipendula* es un conjunto de linajes independientes que han convergido a la misma morfología por cuestiones adaptativas (homoplasias) (Palomeque, 2011).

Debido a la homoplasia que exhiben los caracteres utilizados para la circunscripción de especies a nivel de subfamilia, género y complejos hermanos, se estimó la evolución de los caracteres tradicionalmente utilizados en la delimitación de las especies del complejo *B. repens*, con la finalidad de establecer si alguno de ellos puede considerarse diagnóstico para algún taxón, e inferir la posible morfología que dio origen a las especies del complejo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para estimar la evolución de los caracteres, se observaron al microscopio estereoscópico 40 individuos de las especies actualmente reconocidas en el complejo *B. repens*, se midieron y analizaron 16 caracteres morfológicos importantes en la identificación de ellas (5 cuantitativos y 11 cualitativos) y solo cinco caracteres fueron seleccionados para su posterior análisis debido a su grado de variación inter e intraespecifica (Tabla 5).

Los datos morfológicos seleccionados, fueron optimizados y procesados mediante la herramienta “Trace Character History” del software Mesquite 3.02 (Maddison & Maddison, 2015) sobre una hipótesis filogenética obtenida mediante inferencia bayesiana (ver metodología en Capítulo I) de los individuos de los que se poseían tanto datos moleculares combinados (ITS + *trnT-L-F*) como datos morfológicos (27 accesiones), para estimar la evolución de los caracteres seleccionados e inferir la posible morfología de los ancestros del grupo.

Tabla 5. Caracteres y estados de carácter utilizados para estimar la evolución de la morfología del CBR.

Caracter	Estado de caracter
Presencia/ausencia de rizoma	(0) Ausente (1) Presente
Forma de la flor rudimentaria*	(0) Cuerpo de la lema reducido a una columna (1) Cuerpo de la lema bien desarrollado, con tres aristas, la central más larga, y dos aristas pequeñas entre las laterales y la central (2) Cuerpo de la lema bien desarrollado, con tres aristas, pero sin aristas entre las laterales y la central (3) Cuerpo de la lema bien desarrollado, con tres aristas, y un mechón de pelos en la base.
Número de ramas por inflorescencia	(0) 3-10

	(1) 11-17
	(2) 18-60
	(3) >60
Número de espiguillas por rama	(0) 1-6
	(1) 7-12
	(2) 13-17
Longitud de la arista media de la flor rudimentaria (mm)	(0) 1.8-4.6
	(1) 4.7-7.5
	(2) 7.6-10.3
	(3) 10.4-13

*En la figura 4 se muestran los distintos rudimentos presentes en las especies del complejo *B. repens*.

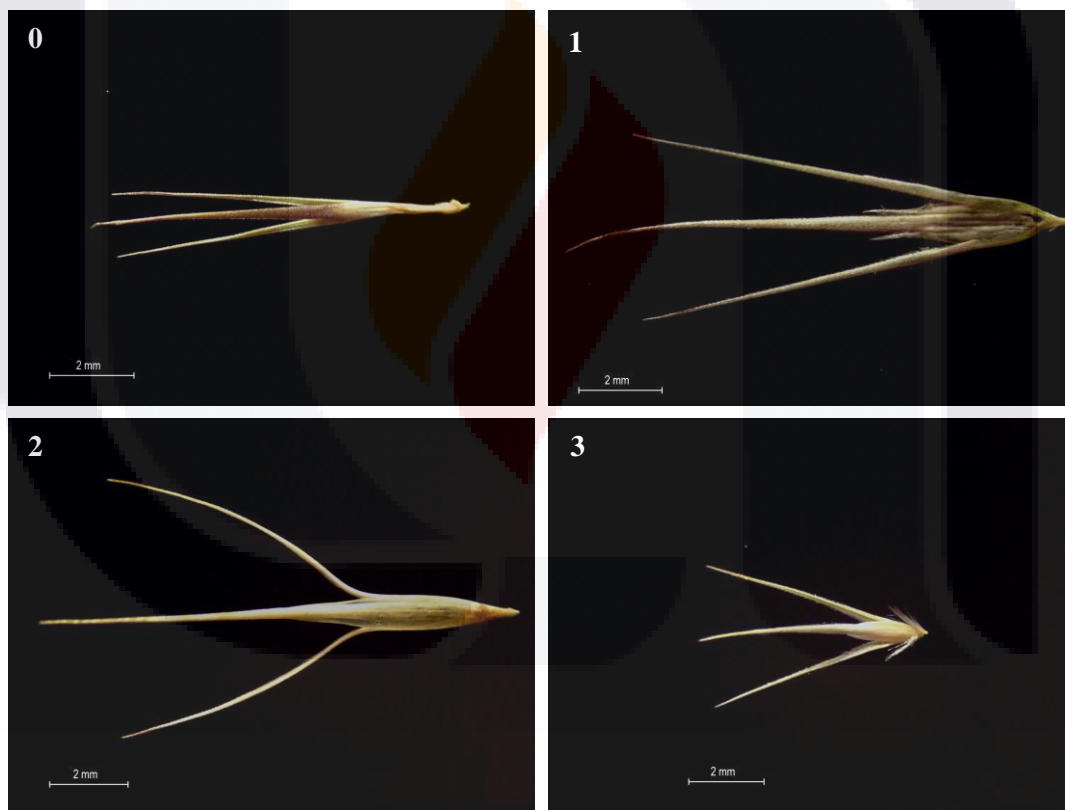


Figura 7. Tipos de rudimento en el CBR. (0) Cuerpo de la lema reducido a una columna. (1) Cuerpo de la lema bien desarrollado, con tres aristas, la central más larga, y dos aristas pequeñas entre las laterales y la central. (2) Cuerpo de la lema bien desarrollado, con tres aristas, sin aristas entre las laterales y la central. (3) Cuerpo de la lema bien desarrollado, con tres aristas y un mechón de pelos en la base.

RESULTADOS

La reconstrucción de la evolución de los caracteres morfológicos, muestra que la mayoría de ellos son homoplásicos, excepto la forma de la flor rudimentaria, la cual representa la sinapomorfia morfológica para el clado *B. americana*.

Presencia/Ausencia de rizoma.

Tradicionalmente, la presencia de un rizoma fuerte y robusto ha sido considerada como el carácter diagnóstico de *B. radicata*. Sin embargo, los resultados muestran que es un carácter homoplásico compartido con *B. williamsii* y *B. repens* (Figura. 8). El estado de carácter plesiomórfico dentro del complejo *B. repens* y su grupo hermano (complejo *B. curtispindula*) es carecer de rizoma. Y por tanto, el carácter apomórfico es presentar dicha estructura. De todos los individuos evaluados, tres accesiones de *B. williamsii* (5333, 5048 y 277), dos de *B. radicata* (3763 y 2341) y uno de *B. repens* (2567), desarrollan rizoma; de los cuales, únicamente las accesiones de *B. williamsii* descienden de un ancestro que también posee rizoma. Los demás, desarrollan su condición rizomatosa independientemente de sus ancestros sin rizoma, por lo que se le puede considerar un carácter autapomórfico.

Forma de la flor rudimentaria

La reconstrucción de la evolución de la forma de la flor rudimentaria, muestra la homoplasia de este carácter en el CBR; y sugiere que el estado de carácter plesiomórfico, es la flor rudimentaria con el cuerpo de la lema bien desarrollado, tres aristada; y el carácter apomórfico es una flor rudimentaria con el cuerpo de la lema bien desarrollado, tres aristada, con dos aristas más cortas entre las laterales y la media (Figura 9).

De acuerdo a los resultados, el rudimento reducido a una columna, se encuentra restringido a las colecciones de *B. americana*, pero desciende junto con todas las accesiones de *B. alamosana* de un ancestro con rudimento con el cuerpo de la lema bien desarrollado, tres aristado con aristas cortas entre las laterales y la media; el cual se conserva en todas las colecciones analizadas de *B. alamosana*.

El estado de carácter ancestral, se presenta por lo general en los especímenes de *B. radicata*, pero de acuerdo a la hipótesis obtenida, puede presentarse en individuos de *B. repens* y el individuo sin identificar (*Bouteloua* sp. 4366) también presenta éste tipo de rudimento, por lo que no se puede considerar diagnóstico para *B. radicata*. Por otro lado todas las accesiones de *B. williamsii* presentan un mechón de pelos en la base de la lema de su flor rudimentaria, sin embargo, no se puede considerar diagnóstico para la especie debido a que un ejemplar de *B. repens* (2332) también exhibe este tipo de rudimento.

Mientras tanto, *B. repens* exhibe una alta variación en la morfología de su flor rudimentaria, pero de acuerdo a la hipótesis de la evolución de los caracteres, el estado de carácter plesiomórfico para éste taxón es la flor rudimentaria con el cuerpo de la lema bien desarrollado, tres aristada, y con dos aristas cortas entre las laterales y la media, pero algunos ejemplares exhiben los tipos de rudimento comúnmente presentes en *B. radicata* (*repens* 2567) y *B. williamsii* (*repens* 2332).

Número de ramas por inflorescencia

El número de ramas por inflorescencia es un carácter homoplásico, y de acuerdo a los resultados obtenidos, el estado de carácter plesiomórfico dentro del complejo *B. repens*, es poseer 11-17 ramas por inflorescencia y el estado de carácter apomórfico es presentar de 3-10 ramas (Figura. 9). Los grupos más derivados (*B. alamosana*, *B. americana* y *B. repens*) descienden de un ancestro con tres a 10 ramas por inflorescencia, pero algunos individuos de Centroamérica (*alamosana_3393* y *americana_4365*) desarrollan un aumento en el número de ramas por inflorescencia (11-17).

En relación con en *B. radicata* y *B. williamsii*, no existe un patrón en el número de ramas por inflorescencia, sin embargo, se observa de manera general que la agrupación *radicata* 5198-*B. sp.* 4366, presenta el mismo rango de ramas por inflorescencia, entre sus integrantes y su ancestro común más cercano. Además, las accesiones de *Bouteloua williamsii* de Jalisco (2353), Nayarit (2977) y Zacatecas (5048), presentan 11-17 ramas por inflorescencia, pero descienden de un ancestro que posee menos ramas (3-10). En el grupo hermano del CBR, el

mayor número de ramas por inflorescencia en mucho mayor, llegando a presentar hasta más de 60 ramas por inflorescencia.

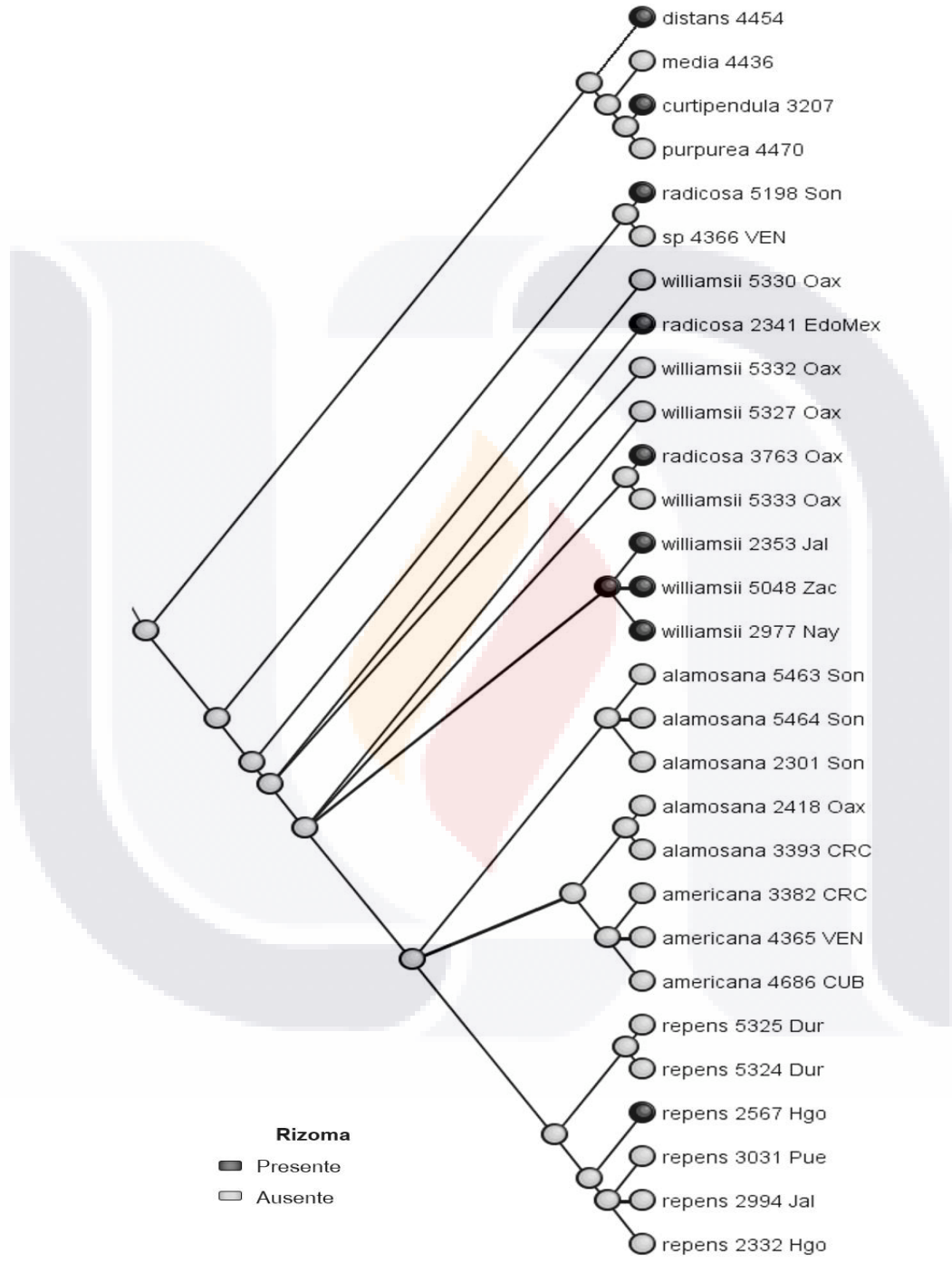


Figura. 8. Reconstrucción de la evolución de la presencia/ausencia de rizoma en las especies del complejo *Bouteloua repens*, inferida sobre una hipótesis filogenética obtenida mediante métodos Bayesianos. Los datos fueron procesados mediante Máxima Parsimonia en la herramienta "Trace Character History" del software Mesquite v. 3.02.

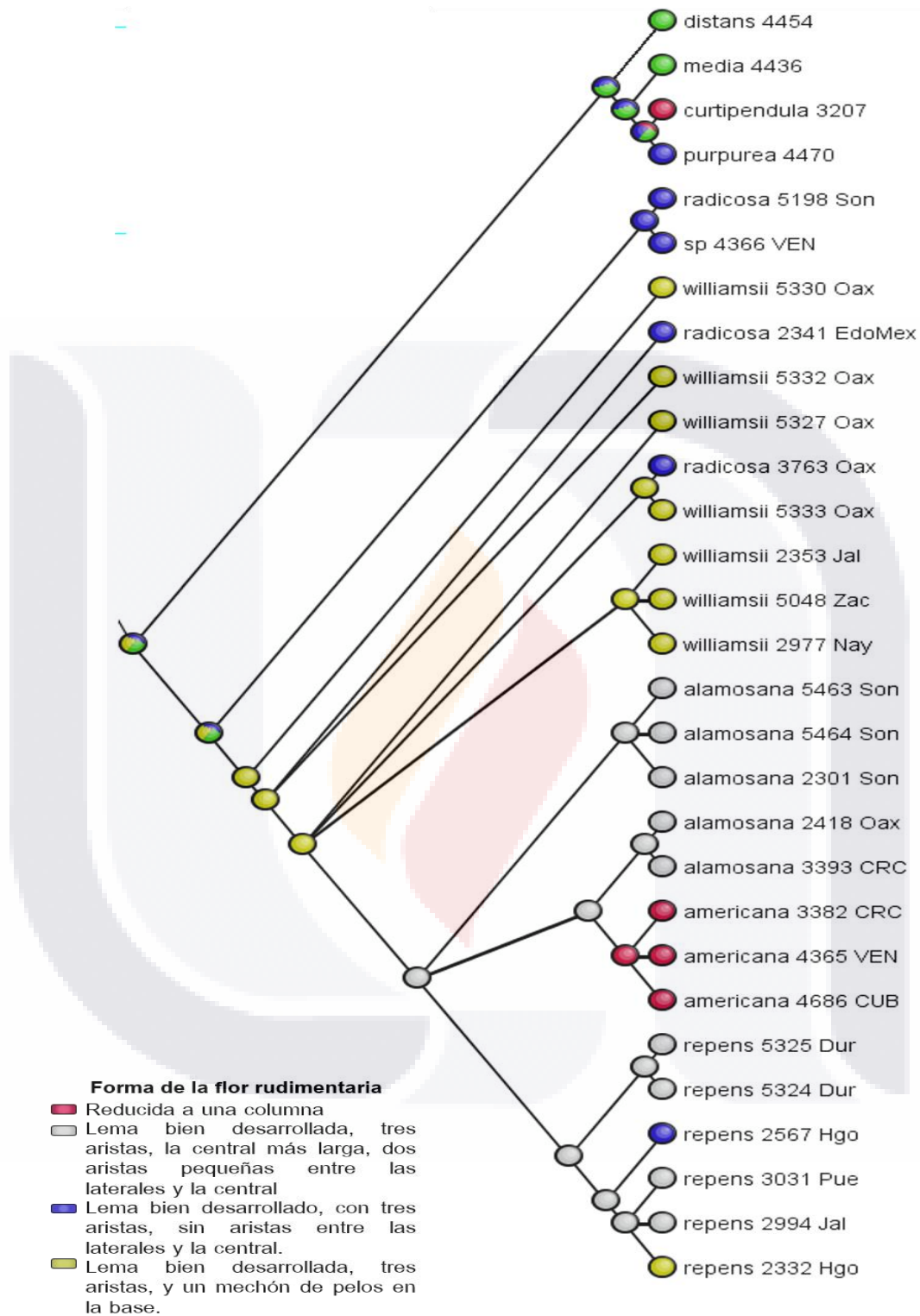


Figura. 9. Reconstrucción de la evolución de la forma de la flor rudimentaria en las especies del complejo *Bouteloua repens*, inferida sobre una hipótesis filogenética obtenida mediante métodos Bayesianos. Los datos fueron procesados mediante Máxima Parsimonia en la herramienta "Trace Character History" del software Mesquite v. 3.02.

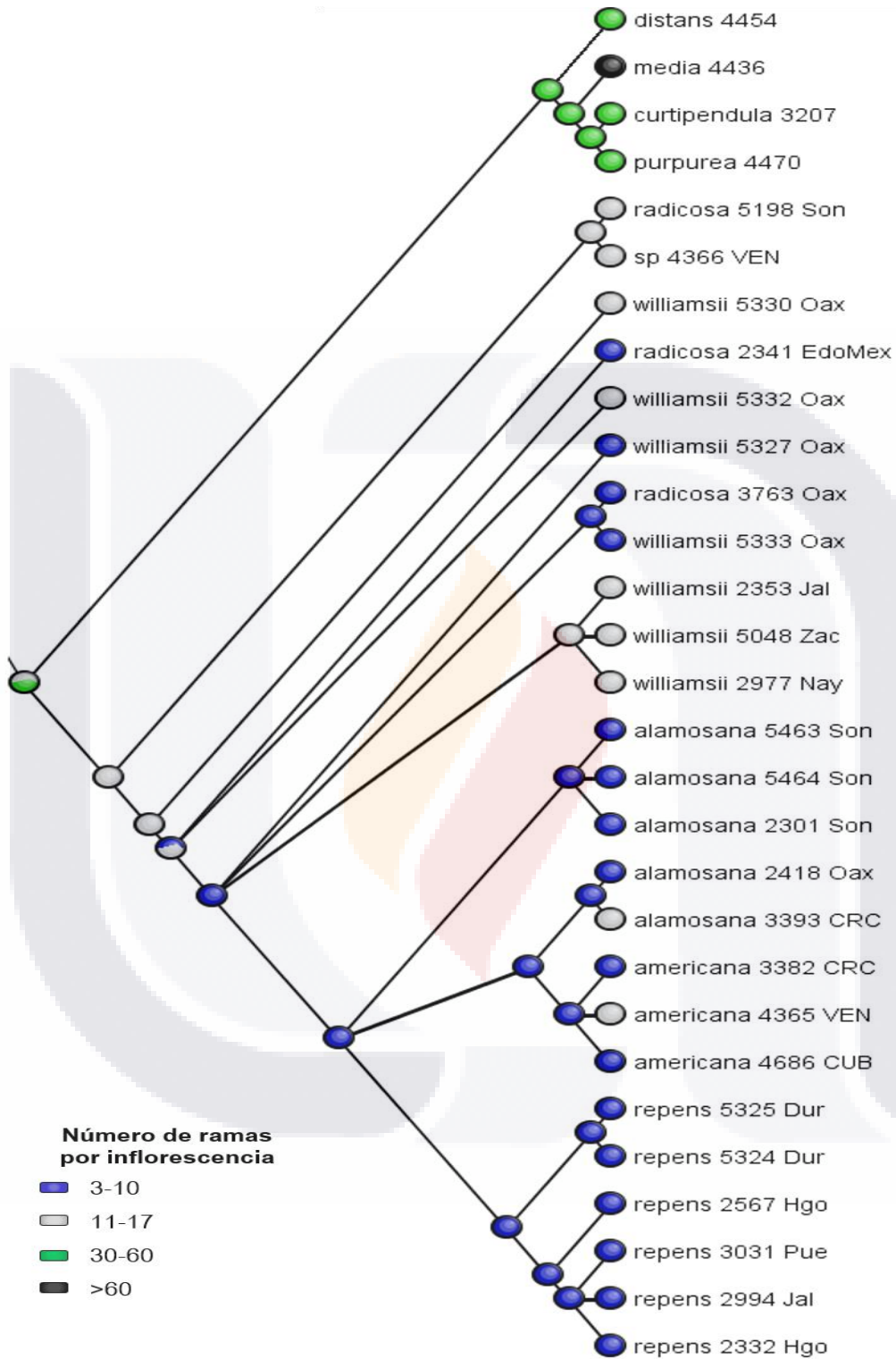


Figura. 10. Reconstrucción de la evolución del número de ramas por inflorescencia en las especies del complejo *Bouteloua repens*, inferida sobre una hipótesis filogenética obtenida mediante métodos Bayesianos. Los datos fueron procesados mediante Máxima Parsimonia en la herramienta "Trace Character History" del software Mesquite v. 3.02.

Número de espiguillas por rama

La reconstrucción de los estados de carácter muestra la homoplasia del número de espiguillas por rama en las especies del complejo *B. repens*; y establece que el estado de carácter plesiomórfico para el grupo de estudio, es tener de siete a 12 espiguillas por rama; que de acuerdo a la hipótesis obtenida, éste caracteriza a las especies *B. radicata* y *B. williamsii*. Más tarde, en la historia evolutiva del grupo se presenta una reducción en el número de espiguillas por rama a un rango de 1-6, el cual es el estado de carácter apomórfico y se presenta en las colecciones de *B. alamosana*, *B. americana* y *B. repens* (Figura 10).

Longitud de la arista media de la lema de la flor rudimentaria

Los resultados revelan homoplasia en la longitud de la arista media de la flor rudimentaria, y sugieren como estado de carácter plesiomórfico, la presencia de una arista media de 1.8 a 4.6 mm de longitud, y como carácter apomórfico una arista media de 10.4 a 13 mm (Figura. 11). De acuerdo a ésta hipótesis, tanto los especímenes de *B. radicata*, como los de *B. williamsii* pueden presentar desde aristas medias muy cortas (1.8-4.6 mm) hasta muy largas (10.4-13 mm), pero únicamente la asociación *radicata* 5198 - *Bouteloua* sp. 4366, conserva el estado de carácter que presenta su ancestro común más cercano. También se observa que la asociación *B. alamosana*-*B. americana* desciende de un ancestro cuya arista media mide 4.7-7.5 mm de longitud, pero ésta condición solo se conserva en el clado *B. americana*, y aumenta en los individuos de *B. alamosana*, además, dentro de las colecciones de *B. alamosana*, los individuos del Sur (Costa Rica y Oaxaca) poseen aristas más largas (hasta 13 mm) que los de Sonora, cuyas aristas solo llegan a medir 10 mm .

Por otro lado, la especie *B. repens* manifestó una gran variación en la longitud de la arista media de su flor rudimentaria, presentando individuos con aristas cortas (*repens* 5325), de longitud media (*repens* 5324, 2567, 2994) y muy largas (*repens* 3031, 2332); pero todas descienden de un ancestro común de aristas de longitud media (4.7-7.5 mm), el cual representa el carácter plesiomórfico para éste clado.

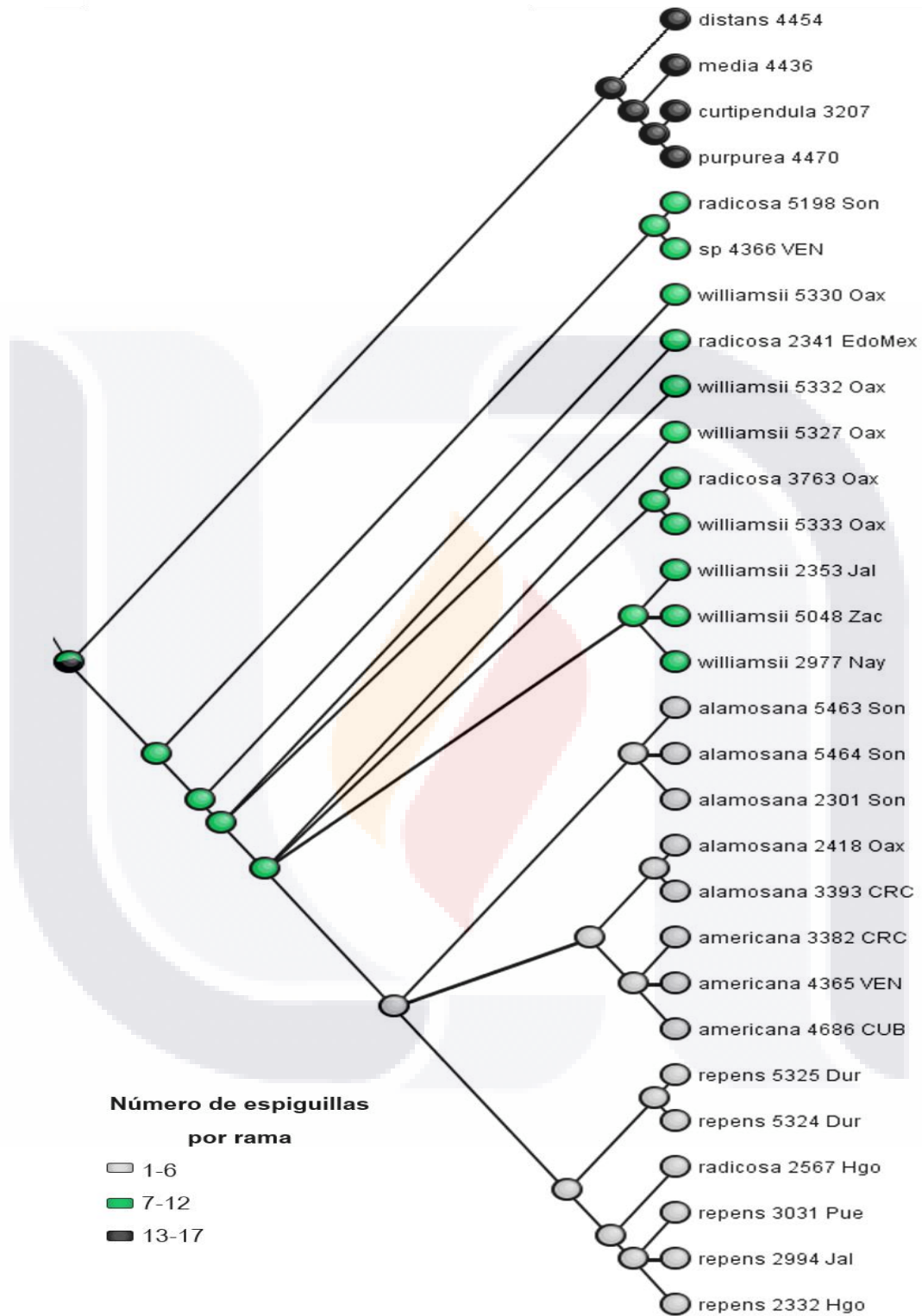


Figura. 11. Reconstrucción de la evolución del número de espiguillas por rama en las especies del complejo *Bouteloua repens*, inferida sobre una hipótesis filogenética obtenida mediante métodos Bayesianos. Los datos fueron procesados mediante Máxima Parsimonia en la herramienta "Trace Character History" del software Mesquite v. 3.02.

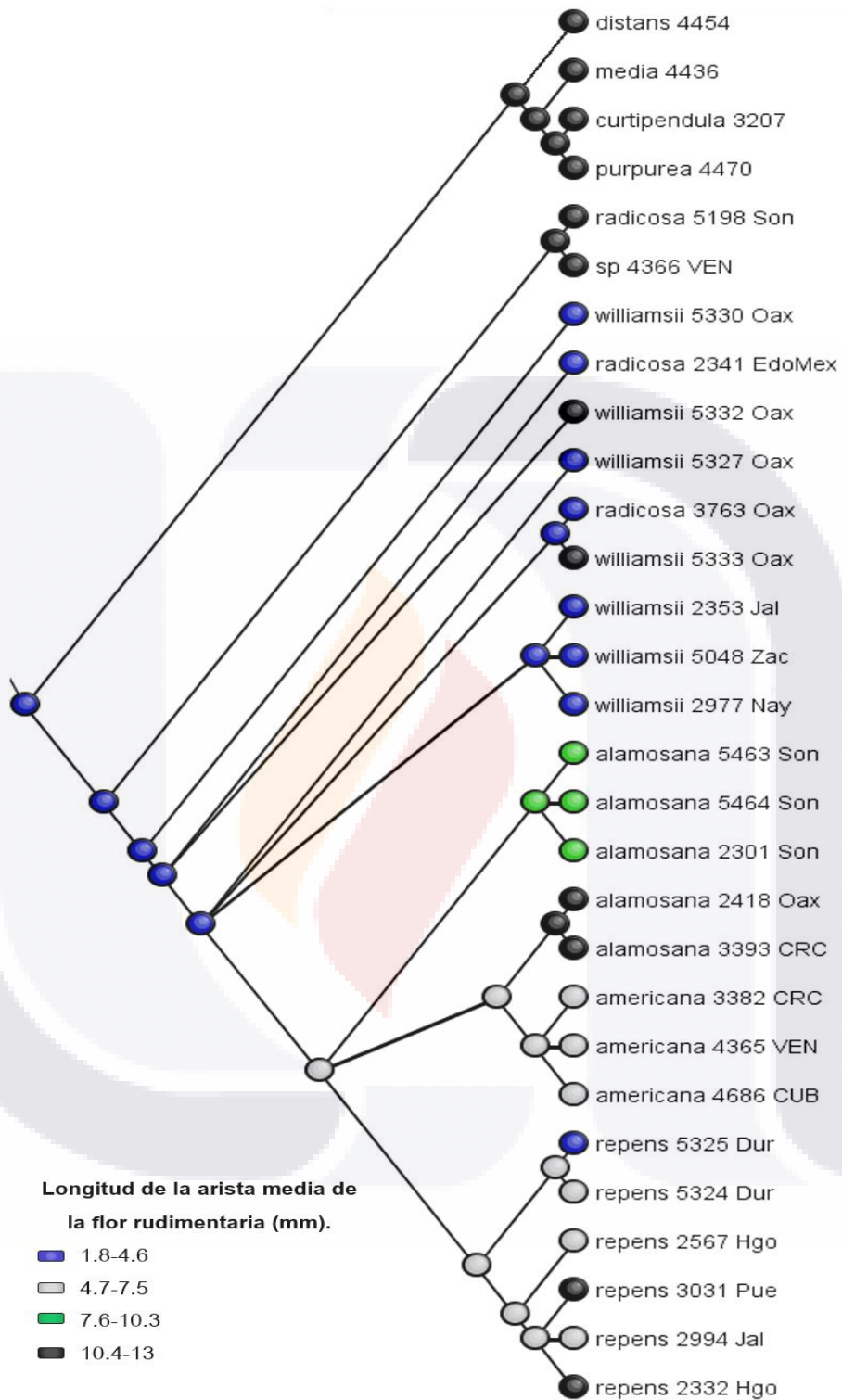


Figura. 12. Reconstrucción de la evolución en la longitud de la arista media de la lema de la flor rudimentaria de las especies del complejo *Bouteloua repens*, inferida sobre una hipótesis filogenética obtenida mediante métodos Bayesianos. Los datos fueron procesados mediante Máxima Parsimonia en la herramienta “Trace Character History” del software Mesquite v. 3.02.

DISCUSION

Presencia/Ausencia de Rizoma

La reconstrucción de los estados de carácter, muestra homoplasia en la presencia de rizoma, pues a pesar de que tradicionalmente ha sido considerada como carácter diagnóstico *B. radicata* (Herrera *et al.* 2004 y Gould, 1969), es un carácter compartido con *B. williamsii* y ocasionalmente con *B. repens*. Nuestros resultados muestran que el estado de carácter plesiomórfico es la ausencia de rizoma, tal como ya había sido establecido por Siqueiros (2001) en una estimación de caracteres que incluye un par de colecciones del CBR; y por lo tanto, el estado de carácter apomórfico es la presencia de rizoma.

La homoplasia éste carácter ha sido fuente de confusión en su uso para diferenciar las especies del CBR, especialmente entre *B. radicata* y *B. williamsii*, en las que el hábito, forma y tamaño de la inflorescencia y coloración de las glumas, son algunos de los caracteres que se solapan a lo largo de todo su rango de distribución. Y la presencia de un rizoma conspicuo, había sido la principal característica tomada en cuenta para separarlas, sin embargo de acuerdo a nuestros resultados, no se puede considerar que éste carácter sea confiable para la delimitación de ambas especies.

Forma de la flor rudimentaria

La flor rudimentaria ha sido un caracter importante en la identificación de las especies del CBR desde que fueron agrupadas en base a datos morfológicos. Gould (1969) reporta dos tipos de rudimento en el grupo; uno neutro y reducido a una columna cilíndrica aristada, y uno bien desarrollado, perfecto, estaminado o neutro, también con aristas. Sin embargo, en el presente trabajo, la forma bien desarrollada descrita por Gould (1969), fue subdividida en tres formas, de acuerdo al número de aristas y la presencia de pubescencia basal (Fig. 7). La estimación de los caracteres, muestra homoplasia en la forma del rudimento, y sugieren que el estado de carácter plesiomórfico es la flor rudimentaria con el cuerpo de la lema bien desarrollado, con tres aristas, y la media más larga que las laterales; y el estado de caracter

apomórfico es una flor rudimentaria con el cuerpo de la lema bien desarrollado, tres aristado, con la arista media más larga y con dos aristas más cortas entre las laterales y la media

Nuestros resultados muestran que la flor rudimentaria reducida a una columna está restringida a los individuos de la especie *B. americana* (Figuras. 4-6), y debido a la monofilia sugerida por su filogenia molecular, éste carácter representa la sinapomorfia morfológica del clado. También se observa, que todos los individuos de *B. alamosana* evaluados, presentan la flor rudimentaria con cuerpo de la lema bien desarrollado, con tres aristas, la central más larga, y dos aristas pequeñas entre las laterales y la central; pero no puede representar su sinapomorfia morfológica porque de acuerdo a los resultados moleculares, *B. alamosana* no representa un grupo natural, y además este tipo de rudimento es un carácter compartido con *B. repens*, lo que impide su catalogación como carácter diagnóstico para cualquiera de las dos especies. Asimismo, el rudimento que posee un cuerpo de la lema bien desarrollado, con tres aristas, y carece de aristas entre las laterales y la central, no puede reconocerse como diagnóstico de *B. radicata*, porque de acuerdo a los análisis moleculares, ésta especie es un grupo artificial y porque el ejemplar sin identificar (*Bouteloua* sp. 4366) de Venezuela, presenta el mismo tipo de rudimento, lo que apoya la hipótesis de hibridación con *B. radicata* propuesta por la filogenia molecular de ITS y datos combinados, pero descarta la forma de rudimento para la diagnosis de cualquiera de las dos especies. Finalmente, la flor rudimentaria con cuerpo de la lema bien desarrollado, con tres aristas, y un mechón de pelos en la base, es considerado por la literatura como uno de los caracteres concluyentes en la separación de *B. williamsii* y *B. radicata*, sin embargo, de acuerdo a nuestros resultados, esto no es posible debido a que es un carácter homoplásico que en ocasiones está presente en individuos de la especie *B. repens*.

Número de ramas por inflorescencia

De acuerdo con Gould (1969), una de las características que distinguen al CBR es el número de ramas por inflorescencia, el cual puede variar de 4 a 14, o de 5 a 12 según Herrera *et al.* (2004). No obstante, los ejemplares evaluados morfológicamente en éste trabajo, no coinciden con lo que mencionan éstos autores, pues presentan de 3 a 17 ramas por

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

inflorescencia; siendo el estado de carácter plesiomórfico 11 a 17 ramas y de 3 a 10 ramas el estado de carácter apomórfico.

Según la literatura, *B. williamsii* es la especie del complejo que presenta un mayor número de ramas inflorescencia (Gould, 1969 y Herrera *et al.*, 2004), lo que concuerda con nuestros resultados, pues algunos individuos evaluados llegan a presentar hasta 17 ramas. La especie *Bouteloua alamosana* presenta por lo general de 4 a 7 ramas por inflorescencia, sin embargo, la colección *alamosana_3393* de Costa Rica, presenta un número mayor (8-11), lo que coincide con lo mencionado por Gould (1969) para la especie *B. logiseta* (= *B. alamosana*) reportada para el Sur de México, Honduras y El Salvador. Cabe mencionar que las poblaciones de *B. alamosana* del Norte y del Sur, presentan historias evolutivas diferentes, debido al intercambio génico de material nuclear, pero conservación de la integridad de ADN de plastidio, por lo que el aumento en el número de ramas por inflorescencia de las poblaciones del sur, puede ser evidencia de la recombinación genética entre las poblaciones del sur y las poblaciones geográficamente cercanas de *B. americana*. Por otra parte *Bouteloua repens* es fácilmente reconocible de las demás especies del complejo por sus inflorescencias, ya que presenta un número reducido de ramas cortas y muy espaciadas entre sí (Gould, 1969). De acuerdo a la hipótesis obtenida, los individuos evaluados presentan de 5 a 10 ramas, tal como lo menciona Herrera *et al.* (2004), misma condición que posee su ancestro más cercano, sin embargo, no puede considerarse sinapomorfia morfológica para el clado debido a que el estado de carácter se presenta en todas las demás especies del complejo.

Número de espiguillas por rama

De acuerdo a la reconstrucción de caracteres, el número de espiguillas por rama es un carácter homoplásico; siendo el estado de carácter plesiomórfico presentar de 7 a 12 espiguillas por rama, y el estado de carácter apomórfico, poseer de 1 a 6. Acorde la hipótesis el estado de carácter plesiomórfico se restringe a las colecciones de *B. radicata* y *B. williamsii*, tal como lo sugieren Gould (1969) y Herrera *et al.* (2006), quienes afirman que éstas, son las especies del complejo con más espiguillas por rama. Éstos autores, también

señalan que *B. radicata* presenta menos espiguillas (6 -12) que *B. williamsii* (12-22), lo que confirma nuestros resultados, en los cuales las colecciones de *B. radicata* analizadas solo alcanzan 12 espiguillas por rama, mientras las de *B. williamsii*, llegan a tener hasta 17 espiguillas.

Esto es de suma importancia debido a que como se mencionó anteriormente, la presencia de rizoma ha sido el carácter definitivo en la delimitación de *B. radicata* y *B. williamsii*, por el solapamiento de muchos de sus caracteres, pero su homoplasia impide catalogarlo como diagnóstico para alguna de ellas. Sin embargo, el número de espiguillas, combinado con la forma de la flor rudimentaria, podría ayudar a determinar cada taxón.

Asimismo, la estimación de caracteres, apoya la idea de hibridación del ejemplar no identificado (*B. sp. 4366*) de Venezuela, con *B. radicata*, pues presenta el mismo número de espiguillas ella (8-12). Lo que proporciona evidencia morfológica a lo sugerido por la filogenia de ITS y datos combinados.

Aunque el estado de carácter apomórfico define a *B. alamosana*, *B. americana* y *B. repens*; éste no es fuente de confusión entre ellas, debido a que el número de espiguillas por rama no se sobrepone; y a que existen caracteres bien definidos que separan a éstas tres especies. Como el hábito anual de *B. alamosana*, la condición adpresa de las ramas en la inflorescencia de *B. americana* y la amplia separación que existe entre las ramas de *B. repens*.

Longitud de la arista media del rudimento

Todas las especies del género *Bouteloua* poseen aristas (Gould, 1980 y Herrera *et al.*, 2004), sin embargo, en la mayoría de ellas no presentan diferencias significativas para considerarlas en la circunscripción de las especies. No obstante, en algunos miembros del complejo *Bouteloua curtispindula* (*B. curtispindula*, *B. distans*, *B. disticha*, *B. media*, *B. reflexa* y *B. warnokii*) y en todas las especies circunscritas actualmente al complejo *B. repens*, la arista central es más larga que las laterales; lo que apoya las relaciones entre ambos grupos sugerida por Columbus (1998) y Siqueiros (2001).

Debido a que todos los taxones actualmente reconocidos en el complejo *B. repens* presentan una arista central más larga (con respecto a sus aristas laterales) y a que de acuerdo a la filogenia molecular, éste es un grupo monofilético, se puede considerar que la longitud de la arista media es la sinapomorfia morfológica del clado. No obstante, la estimación de los estados de carácter sugiere que éste, es homoplásico dentro del grupo de estudio, y que el estado de carácter plesiomórfico es presentar una arista media corta (de 1.8-4.6 mm), y el estado de carácter apomórfico tener una arista larga (10.4-13 mm).

De acuerdo a nuestros resultados, la asociación *B. radicata* 5198- *B. sp.* 4366 presentan aristas de la misma longitud (10.4-13 mm), lo que apoya la idea de hibridación entre ambas accesiones sugerida por la filogenia de ITS y datos combinados. A su vez, las poblaciones de *B. alamosana* del Norte y del Sur exhiben diferencias en la longitud de sus aristas centrales; de acuerdo a la hipótesis obtenida, ambas poblaciones descienden de un ancestro con arista central de 4.7 a 7 mm de largo, sin embargo, el estado plesiomórfico no se mantiene en ninguna de las poblaciones. Sino que en ambas, la arista media sufre un aumento de longitud, pero incluso, en las poblaciones del Sur dicho aumento es mayor, llegando a presentar aristas de hasta 13 mm de largo; lo que puede ser consecuencia del aislamiento geográfico y por lo tanto génico de ambas poblaciones, tal como lo sugieren los análisis moleculares de ITS y datos combinados.

En *B. americana*, el rango de la longitud de la arista media es el mismo en los organismos actuales que en su ancestro más cercano (4.7-7 mm), sin embargo, no se puede considerar sinapomorfia para el clado, debido a que es una condición compartida con *B. repens*. Esta última, exhibe una gran variación en la longitud de sus aristas, lo que posiblemente se deba a su amplio rango de distribución.

Aunque ninguno de los caracteres morfológicos analizados representa por sí mismo un carácter diagnóstico para la especie *B. repens*, una combinación de ellos podría ayudar en la diferenciación del taxón con respecto a los demás miembros del complejo. Así, su número

reducido de ramas por inflorescencia (3-10), la longitud de la arista media de su flor rudimentaria (3-4.5 mm) y la distancia entre las ramas de la inflorescencia, pueden ser importantes en la identificación de la especie.

Un caso particular encontrado en la estimación de la evolución de caracteres morfológicos, es el del ejemplar *Bouteloua sp.* 4366 (Figura. 13a) de Venezuela; colectado en el mismo sitio que una accesión reconocida de *B. americana* (4365) (Tabla. 2), con la que comparte semejanzas morfológicas como la disposición de las espiguillas en las ramas y tamaño de la inflorescencia (Figura. 13b). Sin embargo, la forma de su rudimento, la longitud de su arista media, el número de ramas por inflorescencia, y el número de espiguillas por rama difieren entre ambas plantas, y sugieren que éste ejemplar está más emparentada con *B. radicata* (Fig. 13c), apoyando la idea de hibridación con ella propuesta los datos de ITS y datos combinados (Figuras. 4 y 6). No obstante, la filogenia de cloroplasto, la sitúa como hermana de *B. americana* (Figura. 5), y la descripción de *B. radicata* no describe por completo a éste ejemplar, por lo que es posible que sea un taxón del complejo *B. repens* nunca antes descrito. Pero debido a la poca resolución mostrada por los marcadores utilizados, no es posible establecerla un taxón diferente; por lo que se sugiere seguir explorando con la filogenia de éste ejemplar así como de las demás especies reconocidas del complejo *B. repens*.

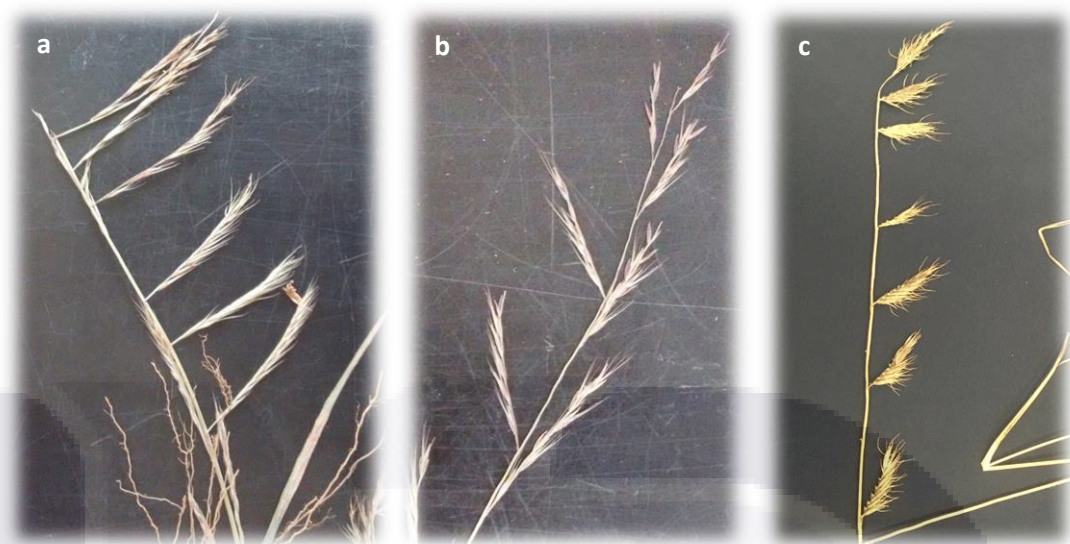


Figura. 13. (a) *Bouteloua* sp. 4366 (Venezuela), al centro *B. americana* 4365 (Venezuela), a la derecha, *B. radicata* 5198 (Sonora).

CAPITULO III. BIOGEOGRAFÍA HISTÓRICA

La distribución actual de los seres vivos es resultado de la evolución y dispersión de las especies y de los cambios que han sufrido a lo largo del tiempo tanto el clima como la localización de tierras y mares. Por esta razón, la biogeografía tiene un gran interés en los análisis diacrónicos y en el conocimiento de los ambientes del pasado adquiriendo una dimensión histórica. La distribución de los seres vivos a través de la biosfera no es uniforme ni en el tiempo ni en el espacio y cada taxón ocupa una superficie determinada, continua o discontinua que constituye su área de distribución. Que no es casual, y evoluciona a lo largo del tiempo; como consecuencia de la capacidad de adaptación y dispersión de cada taxón, su historia evolutiva y su relación con taxones cercanos (Espinosa, *et al.*, 2008).

Uno de los conceptos más importantes para entender la distribución actual de los taxones, ha sido el centro de origen, pues desde Linneo y Cuvier, este concepto ya suponía que todas las especies ocuparon inicialmente un área restringida (su lugar o centro de origen) y se extendieron posteriormente utilizando diversos medios de dispersión hasta expandirse por un área más extensa. Este concepto, ha sido ilustrado con muchos ejemplos de diásporas (gérmenes resistentes) capaces de diseminarse a grandes distancias, pero son conceptos distintos. El centro de origen va ligado al concepto de especiación o formación de una nueva especie a partir de una pequeña población diferenciada que ha quedado reproductivamente aislada, ya sea en una pequeña área marginal (modelo alopátrico) o dentro del área de la especie ancestral (modelo simpátrico). Tras la divergencia, la nueva especie invadiría un área más extensa y puede reemplazar a la especie ancestral y/o coexistir con la especie hermana (López, 2003).

Respecto a ello, existen diversos criterios utilizados para la localización del centro de origen; el primero incluye el área de máxima diversidad. Menciona que el centro de origen de un grupo, se localiza en la zona en la que presente mayor número de variantes (taxones, morfos, alelos, etc.). Este criterio antiguamente propuesto por Willis se usa actualmente en Filogeografía, donde la teoría del centro génico localiza el centro de origen en el área de

mayor diversidad génica de un taxón (Avice, 2000). Y se basa en la suposición de que en dicha área, el taxón habría permanecido más tiempo y por tanto sufrido allí más eventos de modificación. Este criterio implica en primer lugar, que el taxón ocupa permanentemente su área de origen; en segundo lugar, que los procesos de modificación serían esencialmente simpátricos; y en tercer lugar, que la mayoría de las poblaciones sucesivamente modificadas permanecerían en el área ancestral cada vez más rica en variantes, en vez de dispersarse. Aunque ninguna de estas implicaciones ha sido observada, el criterio sigue siendo ampliamente utilizado aun cuando produce evidencias contradictorias (por ejemplo, la existencia de más de un centro; o la discrepancia entre el centro de mayor riqueza de especies y el de mayor polimorfismo). Alternativamente, se ha observado que un mayor polimorfismo está ligado a una mayor heterogeneidad ambiental, no al área origina (López, 2003).

El segundo criterio es el del área de mayor antigüedad paleontológica del grupo. De acuerdo a éste criterio, el centro de origen de un grupo se localizaría en la zona en la que se encuentren sus fósiles más antiguos. Sin embargo, los sesgos de conservación de los restos de organismos y de accesibilidad de los fósiles para su estudio afectan al uso de este criterio. Y finalmente, el tercer criterio propone que el centro de origen se localizaría en el área del taxón que presenta las características más primitivas del grupo (regla de progresión de Hennig). Este criterio implica que los taxones de rasgos más primitivos permanecerían en su área de origen, lo que no ha sido observado. Además, la regla de progresión de Hennig es opuesta a la regla de dispersión de Darlington, Simpson, Brundin y Willis, según la cual los taxones primitivos se verían expulsados a áreas marginales por los taxones derivados, mientras que éstos se concentrarían en el área original (Figura 1). La regla de dispersión es más compatible con el criterio 1, aunque tampoco está apoyada en datos de observación concluyentes (Morrone & Crisi, 1995)

México es un país megadiverso, y los patrones que han conducido a su composición biótica actual, es de suma importancia y especialmente compleja debido a que el territorio nacional forma parte de dos regiones biogeográficas: la Neártica y la Neotropical, y refleja los contactos entre estas dos grandes regiones con las consiguientes posibilidades de

expansión de biotas, así como de evolución en aislamiento durante los periodos geológicos en que no ha habido contacto (Angarita, 2010). Por ello, diversos autores han tratado de entender el origen y las causas que han llevado a la flora mexicana a adquirir su composición actual, Oyama, *et al.* (2006) encontraron los centros de origen de taxones individuales y se propusieron historias de dispersión. Representado por corrientes como la filogeografía, reloj molecular y fechación. Delgadillo (1987), determinó que ha habido intercambio florístico entre las áreas alpinas de la Faja Volcánica Transmexicana, lo que se puede demostrar por las especies que comparten, encontró también que existen especies de distribución restringida; y opina que la Faja ha sido barrera efectiva para la dispersión de musgos de norte a sur, pero no de sur a norte. Por lo que concluye que los musgos del sur debieron migrar al norte antes del levantamiento de las montañas; y que el intercambio entre norte y sur debe haberse llevarse a cabo mediante corredores biológicos. Delgadillo (1986) estableció que los musgos de las zonas bajas de México migraron de América del Sur a América del Norte y viceversa desde el Cretácico, conforme fueron emergiendo las tierras; determinó que los musgos de zonas altas lo hicieron más tarde, en el Plio-Pleistoceno, y concluyó que las disyunciones entre México y América del Sur se deben a eventos de dispersión a larga distancia. Gentry (1982) encontró que el intercambio de especies de plantas entre América del Norte y Sur ha sido el factor más importante en la determinación de los patrones fitogeográficos neotropicales actuales.

De acuerdo a Rzedowski (1978), el centro de origen del género *Bouteloua* se localiza en México, sin embargo no se ha propuesto el centro de origen de ninguno de los complejos que incluye, por ello en el presente trabajo se llevó a cabo la estimación biogeografía histórica del complejo *B. repens* y se analizan los posibles factores que condujeron a su distribución actual.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizó la clasificación biogeográfica de América latina y el Caribe propuesta por Morone (2001) (Tabla. 6) para estimar la distribución histórica del grupo de estudio, e inferir los posibles factores que condujeron a su distribución actual. Los datos de distribución fueron optimizados y procesados mediante la herramienta “Trace Character History” del software Mesquite 3.02 (Maddison & Maddison, 2015) sobre una hipótesis filogenética obtenida mediante inferencia bayesiana (ver metodología en Capítulo I) de los individuos de los que se poseían tanto datos moleculares combinados (ITS + *trnT-L-F*) como datos de distribución (27 accesiones).

Tabla 6. Clasificación biogeográfica de América Latina y el Caribe* (Morrone, 2001).

Regiones	Subregiones	Provincias
Neártica		California
		Baja California
		Sonora
		Altiplano Mexicano
		Tamaulipas
Neotropical	Caribeña	Sierra Madre Occidental
		Sierra Madre Oriental
		Eje Volcánico Transmexicano
		Depresión del Balsas
		Sierra Madre del Sur
		Costa Pacífica Mexicana
		Golfo de México
		Península de Yucatán
		Chiapas
		Oriente de América Central
	Occidente del Istmo de Panamá	
		Cuba
		Costa Venezolana
		Trinidad y Tobago

*Mapa de la clasificación biogeográfica en Anexo 6.

RESULTADOS

De acuerdo a la reconstrucción de la biogeografía histórica, el complejo *B. repens* se originó en la Sierra Madre del Sur, que incluye el centro-sur de México, desde el sur de Michoacán hasta Guerrero y Oaxaca. De ahí, las especies se dispersaron primero hacia la provincia del eje volcánico transmexicano y después hacia el norte de México y Centroamérica; hasta adquirir su distribución actual.

Asimismo, la hipótesis muestra que todas las poblaciones de *B. alamosana* tienen su centro de origen en el Sur de México, lo que sugiere que las poblaciones de Costa Rica y Oaxaca son más ancestrales que las de Sonora. En cuanto a *B. americana*, ésta se originó en el oriente de América central, y su distribución permaneció restringida a su área ancestral (centroamérica) y al sur de México. *B. repens*, es la especie del complejo que presenta una distribución actual más amplia, pero su centro de origen se encuentra en la Sierra Madre del Sur.

Acorde la hipótesis, *B. radicata* y *B. williamsii* tienen su origen en la Sierra Madre del Sur, y se dispersaron hacia el norte hasta llegar al altiplano mexicano.

Y, la asociación *radicata* 5198- *B. sp* 4366 ésta fuertemente soportada por los análisis moleculares, pero la estimación de la biogeografía histórica no aporta datos acerca del centro de origen de éste grupo.

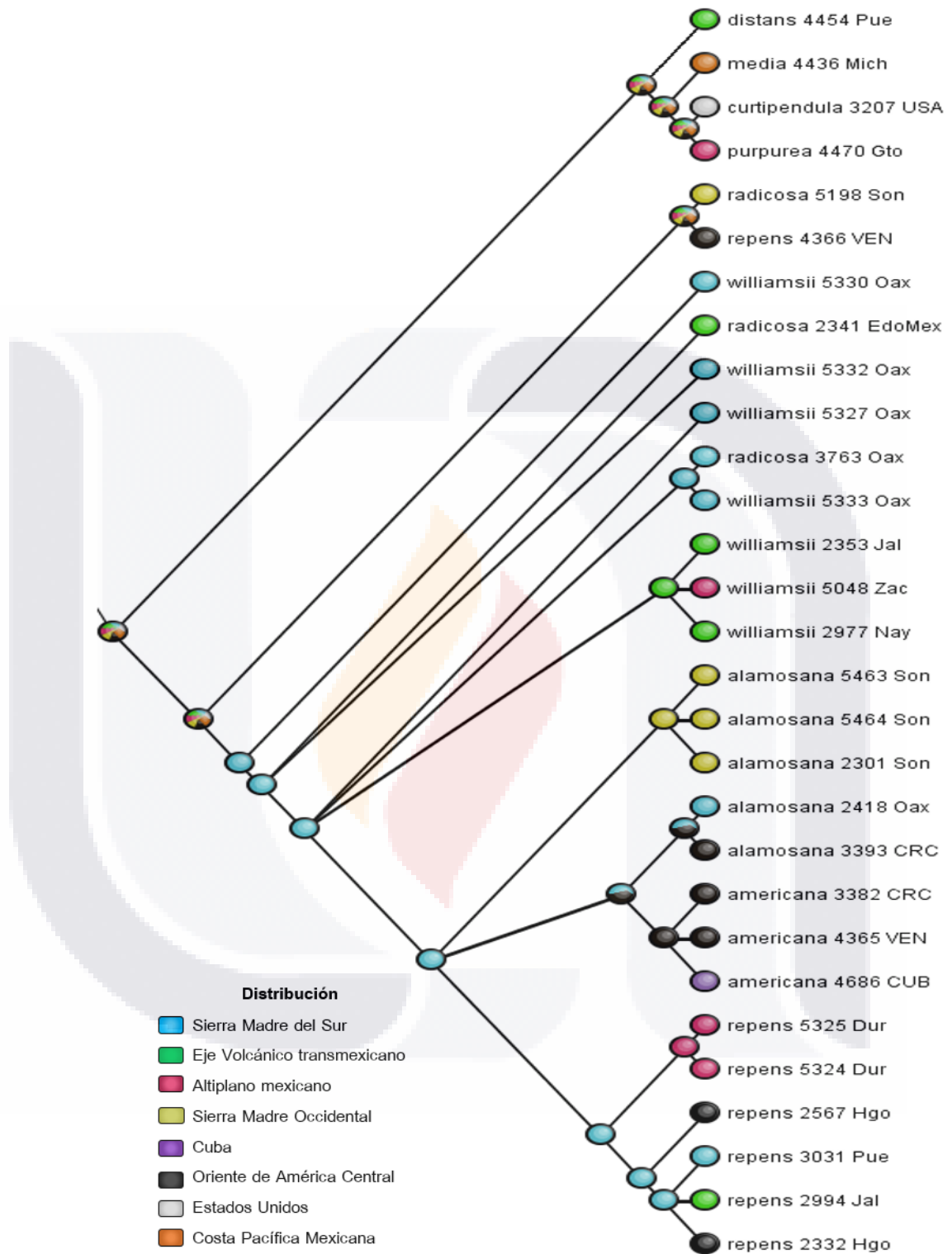


Figura. 14. Biogeografía historia del complejo *Bouteloua repens* inferida sobre una hipótesis de consenso bayesiano (50%). Los datos fueron procesados mediante el método de Máxima Parsimonia en la herramienta “Trace Character History” del software Mesquite v. 3.02.

DISCUSION

El género *Bouteloua* se distribuye ampliamente a lo largo del continente americano y de acuerdo a Rzedowski (1978), su centro de origen y diversidad se encuentra en México. Algunas especies del género se distribuyen como un continuo a lo largo de todo el continente desde el sur de Canadá hasta Argentina, sin embargo hay otras especies con distribución muy restringida o endémica. Las especies del complejo *B. repens* se distribuyen principalmente en México, pero se pueden extender hacia el norte hasta Texas y Arizona (*B. repens*) y hacia el sur hasta Bolivia y norte de Brasil (*B. americana*) (Figura. 1).

Conforme al criterio de área máxima de diversidad (Avice, 2000), el complejo *B. repens* debería tener su centro de origen en el Altiplano Mexicano (Anexo 7), sin embargo, la hipótesis acerca de la biogeografía histórica del grupo, sugiere que el complejo *B. repens* se originó en la Sierra Madre del Sur (que abarca el Centro sur de México, desde el sur de Michoacán hasta Guerrero y Oaxaca), y de ahí se dispersó hasta adquirir su distribución actual. Lo que concuerda con lo que menciona Rzedowski (1993), quien afirma que la flora fanerogámica de México tiene cuatro veces más afinidades con la flora de América del Sur que con la de América del Norte; tales afinidades colocan una parte de México en el reino florístico Neotropical y sugieren que una porción importante de la flora mexicana se ha originado en América Central y del Sur.

Actualmente, las especies del CBR, se distribuyen más o menos homogéneamente desde el Sur de Estados Unidos hasta Brasil, a excepción de *B. americana* que está restringida a Centroamérica y el Sur de México; y *B. alamosana*, que presenta una distribución disjunta con poblaciones en Sonora y en Chiapas, Oaxaca, Costa Rica, Honduras y Nicaragua; esto resulta especialmente interesante, porque es la única planta anual que incluye el complejo y de acuerdo a la filogenia molecular, las poblaciones del Norte son genéticamente diferentes a las del Sur en su genoma nuclear, pero similares en cuanto al contenido genómico de sus cloroplastos. Esto sugiere que los alelos de cloroplasto que comparten ambas poblaciones, debieron dispersarse mediante semilla. Probablemente transportadas por la gran cantidad de aves migratorias que llegan desde el Sur hacia el río Cuchujaqui en Álamos, Sonora, un área

de protección de flora y fauna que se caracteriza por poseer los límites más al norte de selva baja caducifolia y una mezcla de tipos de vegetación y climas adecuados para el desarrollo de *B. alamosana*, condiciones semejantes a las que posee el centro de origen de ésta especie de acuerdo a los análisis de biogeografía histórica.

El aislamiento geográfico entre las poblaciones de *B. alamosana* del Norte y del Sur, y la evidencia de intercambio génico entre las poblaciones del Sur con las poblaciones cercanas de *B. americana*, plantean la posibilidad de que éste taxón se diversifique mediante especiación alopátrica, pues de acuerdo a nuestros resultados, las poblaciones de Costa Rica y Oaxaca son genéticamente más cercanas a *B. americana* que a *B. alamosana* de Sonora.

En el caso de *B. americana*, su centro de origen se localiza en el oriente de América central, y actualmente ocupa solo su área de distribución ancestral, por lo que es posible que su distribución tan restringida haya contribuido a limitar el flujo génico con las demás especies del complejo, con la consiguiente conservación de la integridad de su genoma nuclear, y la monofilia sugerida por los análisis moleculares.

Bouteloua repens es la especie del complejo más ampliamente distribuida, con su centro de origen en la Sierra Madre del Sur, pero abarcando un área de distribución actual que va desde el sur de Estados Unidos hasta Venezuela y las Antillas. Lo que puede deberse en gran medida a su alto rendimiento forrajero (2136 kg/ha), resistencia a la sequía y buena tolerancia al sobrepastoreo (Espinoza, 1991); y por tanto, a la dispersión de sus semillas por medio de zoocoria. Asimismo, la presencia de aristas en su estructura floral pudo permitirle dispersarse por el viento o a través de animales; así como contribuir a la formación de cariopsis de fácil implantación en el suelo.

CONCLUSIONES

- El complejo *Bouteloua repens* es un grupo monofilético, sin embargo, sólo *B. americana* y *B. repens* representan grupos naturales.
- La presencia de formas intermedias entre *B. radicata* y *B. williamsii*, así como la separación de clones de una accesión en las hipótesis sugieren que los procesos de hibridación han sido un factor importante en la diversificación del grupo.
- Las diferencias en el ADN de núcleo entre las poblaciones de *B. alamosana* del Norte con las del Sur, así como las diferencias morfológicas que exhiben, sugieren que las ambas poblaciones derivar en diferentes taxones.
- La mezcla de caracteres morfológicos y la ambigüedad en las relaciones interespecíficas que exhibe la filogenia molecular del individuo *Bouteloua sp 4366*, plantean la posibilidad que de que sea un taxón no descrito originado por procesos de hibridación entre *B. radicata* y *B. americana*. Sin embargo, debido a la falta de muestreo de las poblaciones a las que pertenece éste individuo y a la poca resolución mostrada por los marcadores utilizados, no es posible establecerla como una especie diferente.
- La estimación de la evolución de caracteres morfológicos selectos sugiere que todos son homoplásicos, a excepción del rudimento reducido a una columna, el cual se presenta únicamente en la especie *B. americana* y representa la sinapomorfia morfológica de dicho clado.
- A pesar de que la presencia de rizoma no es un carácter que permita la diferenciación entre las especies *B. radicata* y *B. williamsii*, es probable que el número de ramas por inflorescencia y el número de espiguillas por rama sí.
- El origen del complejo *B. repens* se ha situado en el Sur de México, y de ahí las especies se dispersaron hasta adquirir su distribución actual.
- Debido a la complejidad en los procesos de diversificación del CBR y a que la información proporcionada de los marcadores moleculares utilizados (ITS y *trnT-L-F*) es muy limitada, y no resuelve las relaciones intraespecíficas de las especies del complejo; se sugiere seguir explorando la filogenia del grupo con marcadores moleculares adicionales a los incluidos en el presente trabajo, así como la utilización de

técnicas que permitan la secuenciación de una gran cantidad de marcadores en un corto tiempo.



GLOSARIO

ADN (Ácido desoxirribonucleico). Molécula compleja, integrante de los cromosomas, que almacena la información hereditaria en forma de variaciones en la secuencia de las bases de purina y pirimidina; esta información se traduce en la síntesis de las proteínas, por lo que es determinante de todas las características físicas y funcionales de las células y del organismo.

Algoritmo: Conjunto ordenado de operaciones sistemáticas que permite hacer un cálculo y hallar la solución de un tipo de problemas.

Apomixis: forma de reproducción clonal a partir de la formación de semillas que portan un embrión genéticamente idéntico a la planta materna.

Apomorfia: Carácter derivado de un estado ancestral. Por ejemplo, la presencia de alas en los insectos es apomorfo ya que deriva de un estado anterior sin alas.

Árbol filogenético: Gráfico que representa las relaciones filogenéticas entre los diferentes taxones tal como son entendidas por un investigador particular. Es una hipótesis sobre las relaciones filogenéticas de un taxón.

Caracter: Un rasgo que es una parte observable o un atributo de un organismo (puede ser anatómico, etológico, genómico, bioquímico, etc.).

Centrípeta: que tiende a acercarse al centro.

Clado: un grupo monofilético en un cladograma. Los clados no aparecen los fenogramas, árboles de distancia, son exclusivos de los cladogramas.

Cladograma: Esquema dicotómico que muestra una hipótesis sobre las relaciones filogenéticas de varios taxones. Se construye en los supuestos del análisis cladista. No refleja el grado de divergencia. Cada nodo está definido por una o varias sinapomorfías. Los cladogramas son dirigidos ya que de otro modo no se pueden identificar los clados (si no está dirigido se está en presencia de una red o red de Wagner). Las redes preceden a los cladogramas cuando la polarización del árbol se realiza a posteriori.

Complejo: Grupo de especies cercanamente relacionadas que comparten el mismo ancestro.

Consenso estricto: (Árbol de consenso) es el más conservativo de todos los métodos. Únicamente se mantienen aquellas porciones del árbol que son idénticas en todos los árboles de origen. Lo demás queda transformado en politomías. na forma sencilla de construcción

consiste en representar los árboles por medio de diagramas de Venn y superponerlos todos, se eliminan todos los subconjuntos con intersecciones.

Derivado: describe un carácter o grupo de caracteres que ha cambiado de su estado primitivo; avanzado.

Ecotipo: subpoblación genéticamente diferenciada, la cual está restringida a un ambiente específico, a un ecosistema establecido o a un habitat particular y que trabaja con límites de tolerancia a los factores ambientales.

Espiguilla: Pequeña espiga típica de las gramíneas. Consta de dos brácteas basales (glumas), además de una escama exterior (lema) y una interior (pálea) alrededor de cada flor.

Estado de carácter: el valor específico tomado por un carácter en un taxón determinado o en una secuencia.

Estolón: Brote lateral, basal, con entrenudos largos que desarrolla raíces para formar una nueva planta en la punta.

Heurístico: manera de buscar la solución de un problema mediante métodos no rigurosos, como por tanteo, reglas empíricas, etc.

Hibridación: Cruzamiento de dos individuos de distintas especies.

Homólogo: Dos caracteres son homólogos si se cumple alguna de estas dos condiciones: a) Son el mismo carácter que es encontrado en el ancestro común de los dos taxones. b) Son caracteres diferentes que tienen una relación ancestral descrita como preexistente (uno deriva del otro).

Homoplasia: Similitud en una o varias especies de órganos o de partes de órganos de los que se puede presumir que esta correspondencia no proviene de un antecesor común. Incongruencia en la transformación evolutiva de un carácter. Puede ser una analogía (convergencia y paralelismo) o una reversión.

Grupo externo (outgroup): Es cualquier grupo usado en el análisis que no es incluido en el taxón bajo estudio. Se utiliza para fines comparativos y debe ser lo más cercano posible al grupo interno, preferentemente su grupo hermano.

Grupo hermano (sister group): Es el taxón filogenéticamente más próximo al grupo interno.

Grupo interno (ingroup): Es el grupo actualmente estudiado por el investigador.

Monofilético, grupo: (=clado, monofilia estricta) Grupo que comprende una especie ancestral y todos sus descendientes. Están definidos por, al menos, una sinapomorfía. En el evolucionismo es llamado grupo holofilético. Monofilético

Nodo: el punto donde cada rama se bifurca o termina.

Oligo: secuencia corta de ADN o ARN, con cincuenta pares de bases o menos; utilizadas como cebadores en reacciones de amplificación.

Parafilético: Grupo que comprende una especie ancestral y sólo una parte de sus descendientes. Están definidos por al menos una simplesiomorfía. Véase polifilético.

Plesiomorfia: Estado primitivo (ancestral) de un carácter

Polietilenglicol:

Polifilético: Grupo que deriva de dos o varias especies ancestrales. Está definido por al menos una convergencia. Grupo en el cual el antecesor más reciente es asignado a otro grupo y no al mismo grupo. Véase parafilético.

Polimerasa:

Poliploidía: Variación o cambio en el número cromosómico característico de una especie.

Primitivo: describe un estado de un carácter en el ancestro común de un clado.

Sílica gel: es una forma granular y porosa de dióxido de silicio fabricado sintéticamente a partir de silicato sódico. A pesar del nombre, el gel de sílice es sólido.

Simpátrica: Poblaciones de especies que viven en la misma área geográfica, que habitan en áreas geográficas traslapadas o tienen una distribución geográfica común.

Sinapomorfia: Carácter apomorfo compartido por dos o más taxa. Se usan para definir grupos naturales (monofiléticos).

Taxón: grupo de organismos a los que se da un nombre. En principio cualquier rango taxonómico es un taxón. Hay dos tipos de taxones: Naturales y Artificiales (Véase)

Taxonomía: el método de clasificar objetos en grupos. En Biología la clasificación de organismos vivos en taxones.

Tetraploide: Célula u organismo que contiene el doble de cromosomas que contiene una célula somática u organismo diploide.

Voucher: Ejemplar

BIBLIOGRAFÍA

- Angarita, A. R. A. 2010. Biogeografía histórica de la zona de transición mexicana. Universidad Industrial de Santander.
- Akaike H. 1974. A new look at the statistical model identification. *IEEE Trans. Autom. Control.* 19 (6): 716-723.
- Avise, J. C., 2000. *Phylogeography: the history and formation of species.* Harvard University Press. Cambridge & London. 447 pp
- Baldwin BG, Sanderson MJ, Porter JM Wojciechowski MF, Campbell CS y Donoghue MJ. 1995. The ITS region of nuclear ribosomal DNA: a valuable source of evidence on angiosperm phylogeny. *Annal Miss Bot Gard.*82: 247-277.
- Bashaw EC, Hanna WW. Apomictic reproduction. In: Chapman GP editor. *Reproductive versatility in the grasses.* Cambridge, UK: Cambridge Univ Press; 1990:100-130.
- Beetle A. 1983. Noteworthy grasses from Mexico XI. *Phytologia* 54: 1-5
- Beetle A. 1981. Noteworthy grasses from Mexico VIII. *Phytologia* 48: 189-193
- Beetle A. 1982. Noteworthy grasses from Mexico X. *Phytologia* 52: 11-17
- Beetle A. 1986. Noteworthy grasses from Mexico XII. *Phytologia* 59: 287-289
- Beetle, A. A., E. Manrique F., V. Jaramillo L., P. Guerrero S., J. A. Miranda S., I. Núñez T. y A. Chimal H., 1987. *Las Gramíneas de México, Tomo II.* Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos. Comisión Técnico Consultiva de Coeficientes de Agostadero. México, D. F.
- Breymeyer A. I., R. Noble, S. Deets, N. Brand, K. Robbin, S. Vandivere, R. D. Noble. 1996. *Biodiversity Conservation in Transboundary Protected Areas: Proceedings of an International Workshop Bieszczady and Tatra National Parks, Poland May 15-25.*
- Borsch, T., K. W. Hilu, D. Quandt, V. Wilde, C. Neinhuis, and W. Barthlott. 2003. Noncoding plastid trnT-trnF sequences reveal a well resolved phylogeny of Buckler ES y Holtsford TP. *Zea systematics: ribosomal ITS evidence.* *Mol Biol Evol* 1996; 13:612-622.
- Bult CJ, Zimmer EA. Nuclear ribosomal RNA sequences for inferring tribal relationships within Onagraceae. *Syst Bot* 1993; 18:48-63.

- Charlesworth D, Charlesworth B, Mcvean GAT. 2001. Genome sequences and evolutionary biology, a two-way interaction. *Trend Ecol Evol*.6: 5: 235-241.
- Clayton W. D. & Renvoize. 1986. *Genera Graminum: Grasses of the World*. Kew Bull. , Addit., Ser. 13: 1-389.
- Clayton W. D. 1982. Notes on subfamily Chloridoideae (Gramineae). *Kew. Boll.* 37: 417-420.
- Columbus, J. T. 1993. The affinities of *Bouteloua aristidoides* and *B. (Chondrosium) eriopoda* and the *Bouteloua- Chondrosium* generic delimitation problema (Gramineae: Cynodontidae) *American J. Bot.* 80 (6; suppl.): 138.
- Columbus, J. T. 1996. Lemma micromorphology, leaf anatomy, and phylogenetics of *Bouteloua*, *Hilaria*, and relatives (Gramineae: Chloridoideae: Boutelouinae). Ph. D dissertation. University of California. Berkeley. 258 pp
- Columbus, J. T. 1999. An expanded circumscription of *Bouteloua* (Gramineae: Chloridoideae): New combinations and names. *Aliso* 18: 61–65.
- Columbus, J. T., M. S. Kinney, M. E. Siqueiros, and J. M. Porter. 2000. Phylogenetics of *Bouteloua* and relatives (Gramineae: Chloridoideae): cladistic parsimony analysis of internal transcribed spacer (nrDNA) and trnL-F (cpDNA) sequences. Pp. 189–194 in *Grasses: systematics and evolution*, eds. S. W. L. Jacobs and J. Everett. Victoria, Australia: CASIRO Publishing.
- Columbus, J. T., M. S. Kinney, R. Pant, and M. E. Siqueiros D. 1998. Cladistic parsimony analysis of internal transcribed spacer region (nrDNA) sequences of *Bouteloua* and relatives (Gramineae: Chloridoideae). *Aliso* 17: 99–130.
- Columbus, J. T., R. Cerros-Tlatilpa, M. S. Kinney, M. E. Siqueiros D., H. L. Bell, M. P. Griffith, and N. F. Refulio-Rodriguez. 2007. Phylogenetics of Chloridoideae (Gramineae): a preliminary study based on nuclear ribosomal internal transcribed spacer and chloroplast trnL–F sequences. Pp. 565–579 in *Monocots: comparative biology and evolution—Poales*, eds. J. T. Columbus, E. A. Friar, J. M. Porter, L. M. Prince, and M. G. Simpson. Claremont, California, USA: Rancho Santa Ana Botanic Garden.

- CONABIO. 1998. La Diversidad Biológica de México: Estudio de País. CONABIO. México. 341 p.
- CONABIO. 2008. La Biodiversidad en Aguascalientes: Estudio de Estado. 2008. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO), Instituto del Medio Ambiente del Estado de Aguascalientes (IMAE), Universidad Autónoma de Aguascalientes (UAA). México. 389 p.
- Correll, D.S. and M.C. Johnston. 1970. Manual of the Vascular Plants of Texas. Texas Research. Foundation, Renner.
- Davidse, G. & R. W. Pohl. 1992. New taxa and nomenclatural combinations of Mesoamerican grasses (Poaceae). *Novon* 2(2): 81–110.
- Delgadillo, C. 1986. The Meso-American element in the moss flora of Mexico. *Lindbergia* 12:121-124.
- Delgadillo, C. 1987. Moss distribution and the phytogeographical significance of the Neovolcanic belt of Mexico. *Journal of Biogeography* 14:69-78.
- Dinerstein, E., D. M. Olson, D. J. Graham, A. L. Webster, S. A. Primm, M. P. Bookbinder y G. Ledec. 1995. Conservation assessment of the terrestrial ecoregions of Latin America and the Caribbean. The World Bank/The World Wildlife Fund. Washington, D.C.
- Do Valle C, Y. H. Savidan. Genetics, cytogenetics, and reproductive biology of *Brachiaria*. *Brachiaria: Biology, agronomy, and improvement*. CIAT-EMBRAPA 1996:147-163.
- Dragon F, Filipowics W. snoRNAs: 2001. Biogenesis, structure and function. *Encyclopedia of Life Sciences/www.els.net*.
- Eguiarte, Luis E, Castillo, Amanda, & Souza, Valeria. 2003. Evolución molecular y genómica en angiospermas. *Interciencia*, 28(3), 141-147.
- Ellis, R. P. 1976. A procedure for standardizing comparative leaf anatomy in the Poaceae. I. The leaf-blade as a viewed in transverse section, *Bothalia*, 12(1), 65-109.
- Esparza S. S. y Y. Herrera A. 1996. Revisión de *Bouteloua barbata* (Poaceae: Eragrostoideae). *Phytologia* 80: (2)73-81.
- Espinosa, O. D, Aguilar, Z. C., Ocegueda, S., Flores, V. F. 2008. El conocimiento científico sobre la diversidad biológica en México. CONABIO. México.

- Espinoza, A. J. 1991. Vegetative and reproductive development and impact of defoliation in *Bouteloua repens* (H.B.K.) Scribn. and Merr. in the grazing lands of Apatzingan valley. INIFAP.
- Felsenstein, J. 1985. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution* 39: 783-791.
- Field KG, Olsen GJ, Lane DJ, Giovannoni SJ, Ghishelin MT, Raff EC, Pace NR, y Raff RA. 1988. Molecular phylogeny of the animal kingdom. *Science*. 239: 748-753.
- Finley W.F. 1977. Species Delimitation Within the *Bouteloua gracilis*-*B. hirsuta*-*B. pectinata* Complex. Texas Tech University. 108.
- Fults, J.L. 1942. Somatic chromosome complements in *Bouteloua*. *Amer. J. Bot.* 29: 45-55.
- García- Winder, M. 2011. La Ganadería en México: su contribución a la seguridad alimentaria. Resumen de la presentación hecha en la Reunión de la Academia Mexicana de Ciencias: "Ciencia y Humanismo". Enero de 2011. México DF, México.
- Gentry, A. H. 1982. Neotropical floristic diversity: Phytogeographical connections between Central and South America, Pleistocene climatic fluctuations, or an accident of the Andeanorogeny? *Annals of the Missouri Botanical Garden* 69:557-593.
- Giannasi DE, Zurawski G, Learn G y Clegg MT.. Evolutionary relationships of the Caryophyllidae based on comparative rbcL sequences. *Syst Bot* 1992; 17:1-15.
- Giannasi DE, Zurawski G, Learn G y Clegg MT.. Evolutionary relationships of the Caryophyllidae based on comparative rbcL sequences. *Syst Bot* 1992; 17:1-15.
- Gould & Shaw 1983. *Grass systematics*. 2ª. Ed. Texas A & M. Univ. Press. Collge Station. 397 p.
- Gould, F. W. 1949. A new species of *Bouteloua* from México. *Leafl. W. Bot.* 5: 199.
- Gould, F. W. 1980. The Genus *Bouteloua* (Poaceae). *Annals of the Missouri Botanical Garden* 66: 348-416.
- Gould, F. W. and Z. J. Kapadia. 1962. Biosystematic studies in the *Bouteloua curtispindula* complex. I. The aneuploid rhizomatous *B. curtispindula* of Texas. *American Journal of Botany* 49: 887-891.
- Gould, F. W. and Z. J. Kapadia. 1964. Biosystematic studies in the *Bouteloua curtispindula* complex. II. Taxonomy. *Brittonia* 16: 182-207

- Gould, F.W. 1959. Notes on apomixis in sideoats grama. *J. Range Mgmt.* 12: 25–28
- Gould, F.W. 1968. *Grass systematics*. McGraw-Hill. New York. 382 p.
- Gould, F.W. 1969. Taxonomy of the *Bouteloua repens* complex. *Brittonia* 21: 261-274.
- Griffiths, D. 1912. The grama grasses: *Bouteloua* and related genera. *Contribution U. S. National Herbarium* 14: 343–428.
- Groombridge, B. y M. D. Jenkins. *World Atlas of Biodiversity 2002*. UNEP-WCMC. University of California Press. USA.
- Halbrook A. Kandres. 2012. *Bouteloua curtispindula* (Poaceae): reproductive biology, phenotypic plasticity, and the origins of an apomictic species complex. Ph. D. Dissertation, School of Natural Resources and the Environment. University of Arizona. 177 pp.
- Hall, T.A. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucl. Acids. Symp. Ser.* 41:95-98.
- Henning, W., [eds.]. 1966. *Phylogenetic Systematics*. University of Illinois Press, Urbana.
- Herrera A. Y., P. M. Peterson y J. Valdés Reyna. 2008. *Bouteloua* (Poaceae: Chloridoideae: Cynodonteae: Boutelouinae) del noreste de México. *Journal of the Botanical Research Institute of Texas* 2: 917–981.
- Herrera Arrieta Y., De la Cerda Lemus M. 1997. Morfometría del género *Bouteloua* Lag. (Poaceae) de México. *Phytologia* 83. (2): 113-124.
- Herrera Arrieta, Y., P. M. Peterson y M. de la Cerda L. 2004. Revisión de *Bouteloua* (Poaceae). Instituto Politécnico Nacional- Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México, D.F., México. 290 pp.
- Hillis DM y Dixon MT. Ribosomal DNA: molecular evolution and phylogenetic inference. *Quart Rev Biol* 1991; 66:4 1 1-453.
- Hillis DM, Mable BK, Larson A, Davis SK., Zimmer EA. *Nucleic Acids IV: Sequencing and cloning*. 1996; 321-378. En: Hillis D.M., Moritz C., Mable B.K. Eds. *Mol Syst. Segunda Edición*. Sinauer Associates Inc. Massachusetts.
- Hilu, L.A. Alice. 2001. A phylogeny of Chloridoideae (Poaceae) based on matK sequences. *Syst. Bot.*, 26 (2001), pp. 386–405

- Hitchcock, S. S. 1951. Manual of grasses of the United States. 2nd. Ed. U. S. D. A. Misc. Publ. 200: 1-1051.
- Huelsenbeck, J. P. and F. Ronquist. 2001. MRBAYES: Bayesian inference of phylogenetic trees. *Bioinformatics* 17: 754-755.
- Jacobs, S.W.L. 1987. Systematics of the Chloridoid grasses. Pp. 871-903 in T.R. Soderstrom, K.W. Hilu, C.S. Campbell, and M.E. Barkworth (eds.) *Grass Systematics and Evolution*. Smithsonian Institution Press, Washington, D.C., U.S.A. 473 pp.
- Johnston, M. C. 1982. *Bouteloua rigideseta* var. *chihuahuana* (Poaceae), new variety from the chihuahuan desert region. *Southwestern Naturalist* 27(1):29-31.
- Jones, R.N. 1997. The biogeography of the grasses and lowland grasslands of south-eastern Australia. In R.N. Jones (ed.) *The Great Plains Crash: Proceedings of a Conference on Victorian Lowland Grasslands and Grassy Woodlands, Advances in Nature Conservation*, 2, 11–18.
- Kapadia, Z. J., and F. W. Gould. 1964. Biosystematic studies in the *Bouteloua curtipendula* complex. IV. Dynamics of variation in *B. curtipendula* var. *caespitosa*. *Bulletin Torrey Botanical Club* 91: 465–478.
- Karvonen P. y Savolainen O. 1993 Variation and inheritance of ribosomal DNA in *Pinus sylvestris* L. (Scots pine). *Heredity*. 71:614-622.
- Kearse, M., Moir, R., Wilson, A., Stones-Havas, S., Cheung, M., Sturrock, S., Buxton, S., Cooper, A., Markowitz, S., Duran, C., Thierer, T., Ashton, B., Mentjies, P., & Drummond, A. (2012). Geneious Basic: an integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data. *Bioinformatics*, 28(12), 1647-1649.
- Kinney M S, T Columbus, E A Friar. 2007. Dicliny in *Bouteloua* (Poaceae: Chloridoideae): implications for evolution of dioecy. *Aliso* 23:605–614.
- Kinney M. S., J. T., Columbus, E. A. Friar. 2003. Molecular evolution of the maize sex-determining gene *TASSELSEED 2* in *Bouteloua* (Poaceae). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 29: 519– 528. 2003. Molecular evolution of the maize sex-determining gene *TASSELSEED 2* in *Bouteloua* (Poaceae). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 29: 519– 528.

- Kumar S, Filipski AJ. 2001. Molecular phylogeny reconstruction. Encyclopedia of Life Sciences/www.els.net.
- Lafontaine DLJ, Tollervey D. 2000. Ribosomal RNA. Encyclopedia of Life Sciences/www.els.net.
- Liston A, Robinson WA, Oliphant JM, y Álvarez-Buyila ER. 1996. Length variation in the nuclear ribosomal DNA internal transcribed spacers of non-flowering seed plants. Syst Bot. 21:1-12.
- Liu Q., N. X. Zhao, G. Hao. 2005a. Phylogenetic relationships of the Chloridoideae (Gramineae): a cladistic analysis. Chloridoideae). Smithsonian Contributions to Botany 87: 1-50.
- López, M. 2003. Biogeografía histórica. Graellsia, 59(2-3): 503-522.
- Lot A. y F. Chiang. 1990. Manual del Herbario. Administración y manejo de colecciones, técnicas de recolección y preparación de ejemplares botánicos. Consejo Nacional de la Flora de México, A. C. México. 1-142.
- Maddison, W. P. and D.R. Maddison. 2015. Mesquite: a modular system for evolutionary analysis. Version 3.02 <<http://mesquiteproject.org>>.
- Martínez, M. L., Di Sapio, O., Mc. Cargo, J., Scandizzi, A. L., Taleb, L., Campagna, M. N., 2013. Principios de Botánica Sistemática. Universidad Nacional de Rosario. Argentina.
- Miller M, Holder MT, CVos R, Midford P, Liebowitz T, *et al.* 2010 The CIPRES Portals. CIPRES. pp 2009–08-04.
- McVaugh, R., 1983. Gramineae. En: W. R. Anderson (ed.). Flora Novo-Galiciana. A descriptive account of the vascular plants of Western Mexico, Vol. 14. The University of Michigan Press, Ann Arbor, Michigan.
- Mohamed, A. H., and F. W. Gould. 1966. Biosystematic studies in the *Bouteloua curtipendula* complex. V. Megasporogenesis and embryo sac development. American Journal of Botany 53: 166–169.
- Morales Nieto Carlos Raúl, A. R. Quero Carrillo, C. H. Avendaño Arrazate. 2007. Caracterización de la diversidad nativa del zacate banderita [*Bouteloua curtipendula* (Michx.) Torr.], mediante su nivel de ploidía Técnica Pecuaria en México, vol. 45,

- núm. 3, septiembre-diciembre, pp. 263-278, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias.
- Morrone, J. J. and Crisci, J. V., 1995. Historical biogeography: Introduction to methods. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 26: 373-401.
- Oyama K, S Hernández-Verdugo, C Sánchez, A González-Rodríguez, P Sánchez-Peña, J A Garzón-Tiznado, A Casas (2006) Genetic structure of wild and domesticated populations of *Capsicum annum* (Solanaceae) from northwestern Mexico analyzed by RAPDs. *Gen. Res. Crop Evol.* 53:553-562
- Pérez-García, Blanca, & Mendoza, Aniceto. 2002. Morfología vegetal neotropical. *Revista de Biología Tropical*, 50(3-4), 893-902.
- Peterson P. M. R. J. Soreng, G. Davidse, T. S. Filgueiras, F. O. Zuloaga, E. J. Judziewicz. 2001. Catalogue of New World grasses (Poaceae). II. Subfamily Chloridoideae. *Contributions from the United States National Herbarium* 41: 1-255.
- Peterson P.M., K. Romaschenko y G. Johnson. 2010. A classification of the Chloridoideae (Poaceae) based on multi-gene phylogenetics trees. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 55:580-598
- Peterson, P. M., R. D. Webster, and J. Valdés Reyna. 1997. Genera of New World Eragrostideae (Poaceae: Chloridoideae). *Smithsonian Contributions to Botany* 87:1–50.
- Prince, L. M. 2010. Phylogenetic relationships and species delimitation in *Canna* (Cannaceae), pp307-331. In: O Seberg, G Petersen, AS Barfod, and JI Davis [eds.]. *Diversity, Phylogeny, And Evolution In The Monocotyledons*. Aarhus University Press, Denmark.
- Pohl, R. W. 1994. 100. *Bouteloua Lagasca*, nom. cons. 6: 293–295. In G. Davidse, M. Sousa Sánchez & A.O. Chater (eds.) *Fl. Mesoamer.* Universidad Nacional Autónoma de México, México, D. F.
- Quero Carrillo Adrián R., J. Enríquez Quiroz, F., Morales Nieto, C. R., Miranda, L. Jiménez. 2010. Apomixis y su importancia en la selección y mejoramiento de gramíneas forrajeras tropicales. *Revisión. Rev. mex. de cienc. pecuarias* vol.1 no.1.

- Reeder J. R. & C. G. Reeder 1963. Notes on Mexican grasses II. *Cyclostachya* a new dioicous genus. *Bull. TorreyBot. Club.* 90: 193-191.
- Reeder J. R. & C. G. Reeder 1969. Cytología y distribución de *Bouteloua karwinskii* y *B. chasei*. *Bol. Soc. Bot. Mex.* 30: 113-120.
- Reeder, J. R. 1969. Las gramíneas dioicas de México. *Bol. Soc. Bot. México* 30: 121-126.
- Reeder, J.R. and C.G. Reeder. 1980. Systematics of *Bouteloua breviseta* and *B. ramosa* (Gramineae). *Syst. Bot.* 5: 312-321.
- Reeder, J.R. and C.G. Reeder. 1990. *Bouteloua eludens*: Elusive indeed, but not rare. *Desert Pl.* 10:19-22, 31-32.
- Ritland K y Clegg MT. 1987 Evolutionary analysis of plant DNA sequences. *The American Naturalist.* 130: 874-8100.
- Ronquist, F., J. P. Huelsenbeck, and P. van der Mark. 2005. MrBayes 3.1 manual. http://mrbayes.csit.fsu.edu/mb3.1_manual.pdf.
- Roy, G. P. 1970. Biosystematic investigations of *Bouteloua hirsuta* and *B. pectinata*. 2. Cytology and reproduction. *Portugaliae Acta Biologica*, B. 11: 274-282
- Roy, G. P., 1973: Geographical distribution and population differentiation of *Bouteloua hirsuta* - *B. pectinata* complex. *Tropical Ecology* 14(2): 160-166
- Roy, G.P., and F.W. Gould. 1971. Biosystematic investigations of *Bouteloua hirsuta* and *B. pectinata*. I. Gross morphology. *Southwestern Nat.* 15(3): 377-387.
- Roy, Girija P. 1968. A systematic study of the *Bouteloua hirsuta*-*Bouteloua pectinata* complex. College Station, TX: Texas A&M University. 73 p. p. Dissertation.
- Rzedowski, J. 1978. *La vegetación de México*. Editorial Limusa. México, D. F.
- Rzedowski, J. 1993. Diversity and origins of the Phanerogamic Flora of Mexico. En: Ramamoorthy, T.P., R.
- Bye, A. Lot y J. Fa (eds.). *Biological diversity of Mexico. Origins and distribution*. Oxford University Press. Nueva York.
- Shantz, H .L. 1954. The place of grasslands un the earth's cover of vegetation. *Ecology*, 35 (2), pp. 143-145.

- Siqueiros-Delgado M. E., M. Ainouche, J.T. Columbus, A. Ainouche. 2013. Phylogeny of the *Bouteloua curtipendula* complex (Poaceae: Chloridoideae) based on nuclear ribosomal and plastid DNA sequences from diploid taxa. *Syst. Bot.*, 38 (2013), pp. 379–389.
- Siqueiros–Delgado, M. E. 2001. Phylogenetics of the *Bouteloua curtipendula* complex (Gramineae: Chloridoideae). Ph.D dissertation, Claremont Graduate University and Rancho Santa Ana Botanic Garden, California. 140 p.
- Snyder, L.A. and J.R. Harlan. 1953. A cytological study of *Bouteloua gracilis* from western Texas and eastern New Mexico. *Amer. J. Bot.* 40: 702-707.
- Soltis ED, Soltis PS. Contributions of plant molecular systematics to studies of molecular evolution. *Plant Mol Biol.* 2000; 42(1): 45-75
- Swallen, J. R. 1939. The genus *Bouteloua* in North America. *Flora* 17: 617-634.
- Tamura Koichiro, Stecher Glen, Peterson Daniel, Filipiski Alan, and Kumar Sudhir. 2013. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. *Molecular Biology and Evolution*: 30 2725-2729.
- Taberlet, P., L. Gielly, G. Pautou, and J. Bouvet. 1991. Universal primers for amplification of three non-coding regions of chloroplast DNA. *Plant Molecular Biology* 17: 1105–1109.
- Vasey, G. 1891. Contributions from the United States National Herbarium 1(4): 115.
- Villers R. L. y I. Trejo V. 2000. El cambio climático y la vegetación en México. En: México: Una visión hacia el siglo XXI. El cambio climático en México. Capítulo IV. (V. Magaña, Ed.) México, D.F. Págs. 63-82.
- Walker B., y W. Steffen. 1997. An Overview of the Implications of Global Change for Natural and Managed Terrestrial Ecosystem Biology, agronomy, and improvement. CIAT-EMBRAPA 1996:147-163.
- Watson, L., and Dallwitz, M.J. 1992. The grass genera of the world. 1038 pp. CAB International, Wallingford.
- Wendel JF, Schnabei A. y Seelanen T. 1995. Bi-directional interlocus concerted evolution following allopolyploid speciation in cotton (*Gossypium*). *Proc Nat Acad Sci USA.* 92:280-284.

White, T. J., T. Bruns, S. Lee, and J. Taylor. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. Pp. 315–322 in PCR protocols: A guide to methods and applications, eds. M. A. Innis, D. H. Gelfand, J. J. Sninsky, and T. J. White. San Diego: Academic Press.



ANEXOS

ANEXO 1. Protocolo CTAB 2% de extracción de ADN (MINIPREP).

* Precalentar baño María a 60°C.

* Todas las agitaciones son suaves.

* Preparar solo la cantidad requerida para la extracción del Buffer CTAB antes de iniciar el protocolo y agregar el β-mercaptoetanol hasta el momento en que se vaya a utilizar.

* Buffer CTAB: Tris-HCl 100mM pH 8; NaCl 1.4M; EDTA 20mM, CTAB 2%; β-mercaptoetanol 0.3%. Agregar reactivos en el siguiente orden: Agua (esteril), TrisHCl, EDTA, Cloruro de sodio y CTAB.

1. Pulverizar las muestras en mortero con nitrógeno líquido (máximo 0.3gr de peso).
2. Agregar 1.6ml Buffer CTAB. Mezclar por agitación suave. (1.4 para que no se tire)
3. Centrifugar el lisado durante 8min a 10,000 rpm
4. Incubar en baño maría 15min a 60°C.
5. Agregar 600μl Cloroformo-Alcohol Isoamílico 24:1, agitando suavemente hasta homogeneizar.
6. Centrifugar durante 15min a 7,000 rpm.
7. Transferir el sobrenadante a un tubo nuevo.
 - * Importante calcular el volumen recuperado, es recomendable extraer de 100μl en 100μl.
8. Repetir pasos 5 y 6 (solo para material fresco, omitir este paso para material de herbario).
9. Agregar 2/3 del volumen final de Isopropanol frío y mezclar por agitación suave, para precipitar ADN.
 - * Si se recuperan 400ul se agregan 270μl de isopropanol.
 - * Si se recuperan 450ul se agregan 300μl de isopropanol.
10. Dejar reposar 12hr a -20°C (Si es material de herbario y/o muy antiguo, dejar en precipitación hasta dos o tres semanas).
11. Centrifugar 5min a 12,000 rpm y descartar el sobrenadante, cuidando de no perder la pastilla.
12. Agregar 1ml Etanol al 70%, para limpiar la pastilla.
13. Centrifugar 5min a 12,000 rpm y descartar el sobrenadante, cuidando de no dañar la pastilla.
14. Agregar 200μl H₂O destilada para re-suspender la pastilla (si se trata de material de herbario resuspender en 25μl H₂O, de ser necesario posteriormente se puede diluir mas).

LA SOLUCION RESULTANTE CONTIENE EL ADN, CONSERVARLO A -20°C.

ANEXO 2. 2X CTAB TOTAL GENOMIC DNA EXTRACTION

Modification of DOYLE, J.J. and J. L. DOYLE. 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. Phytochemical Bulletin 19: 11-15.]

Modifications: addition of proteinase K, RNase.

ALWAYS USE FILTER BARRIER TIPS WHEN HANDLING STOCK SOLUTIONS, DNA EXTRACTIONS, OR OTHER SOLUTIONS YOU ABSOLUTELY DO NOT WANT CONTAMINATED. DON'T SHARE YOUR EXTRACTION SOLUTIONS WITH OTHERS IF YOU WANT TO AVOID CONTAMINATION.

Equipment Needs:

Centrifuge, vacuum (bench top or refrigerated)
Freezer (-20°C)
Fume hood
Pipettors and vapor barrier tips
Mortar and pestle (pre-chill in -20°C freezer)
Vortex
Water baths (preheat 37°C, 50°C, and 65°C)

□-mercaptoethanol
Centrifuge tubes (2 ml screw cap sterile)
Chloroform
CTAB (2X)
Conical tube (sterile 15 or 50 ml)
Ethanol (95%, cold) or isopropanol (100%, cold)
Proteinase K
RNase (optional)
TE buffer (sterile 1X)

Supply Needs:

EXTRACT

- 1) Grind 1 x 2 cm fresh leaf material in a mortar with pestle using liquid Nitrogen until a fine powder.
- 2) Transfer to 2.0 mL screw cap microfuge tube [and store in -80° freezer if necessary].
- 3) IN FUME HOOD
 - a) Prepare a master mix of your extraction buffer for the number of samples to extract plus 1. Each sample should contain 500 µL of 2X CTAB*, 2 µL of proteinase K, 2 µL of □-mercaptoethanol*
 - b) Close caps tightly.
 - c) Vortex gently until well mixed.
 - d) Discard any excess CTAB (with or without □-mercaptoethanol) in the hazardous waste.
- Incubate 20-30 minutes in 50°C water bath, invert every 5 min.
- Transfer to 65°C water bath and incubate another 15 minutes, inverting every 5 min.
- Remove from water bath and allow samples to cool slightly.
- IN FUME HOOD, add 500 µL cold chloroform and shake vigorously to mix. Degas once. Recap tightly.
- IN FUME HOOD, gently shake or rock for 15 minutes at room temperature.
- Spin 10 minutes at 12,500 rpm in room temp centrifuge.
- IN FUME HOOD, transfer 400 µL of supernate to fresh 2.0 mL screw-cap microfuge tube, discard residue in HAZARDOUS WASTE. Do not remove any of the lower layer! If you do, recentrifuge the sample and try again.

PRECIPITATE

- 1) Add 800-1000 µL cold 95% ethanol (or 400 µl cold isopropanol) to supernate tube and invert gently to precipitate DNA – allow to precipitate 1 hour in -20°C freezer [can hold longer at -20°C if necessary; precipitate 2-3 weeks for herbarium material!].

*****THIS IS AN EXCELLENT PLACE TO STOP IF NECESSARY*****
SAMPLES CAN HOLD IN ALCOHOL AT -20°C INDEFINITELY

- 2) Spin 10 minutes at 12,500 in room temp or refrigerated (4°C) centrifuge to pellet precipitate.
- 3) Pipette off supernate using vapor barrier tips and discard liquid in hazardous waste.
- 4) [Optional] Wash pellet
Add 500µL wash buffer or 80% Ethanol
Rock gently for 10 minutes.

Remove supernate and discard in hazardous waste.

Spin 5 minutes at 12,500 and discard supernate.

- 5) Speed-vac 20-30 minutes (with 15-25 minutes of heat) to dry (longer if necessary).
- 6) Resuspend DNA in 100 μ L sterile 1X TE buffer (incubate 10 minutes in 37°C dry incubator, vortex, spin gently).

CLEAN [optional]

[PEG portion of this method not recommended, you lose too much of your sample!]

1. Transfer 50 μ L aliquot of sample to fresh 1.5 mL microfuge tube.
2. Add 50 μ L TE to sample [to ease PEG precipitation procedure].
3. Add 2 μ L RNase and incubate in 37°C waterbath for 20-30 minutes.
4. Add 100 μ L PEG solution - follow PEG precipitation procedure for PCR product.
5. Resuspend dried DNA in 50 μ L TE.

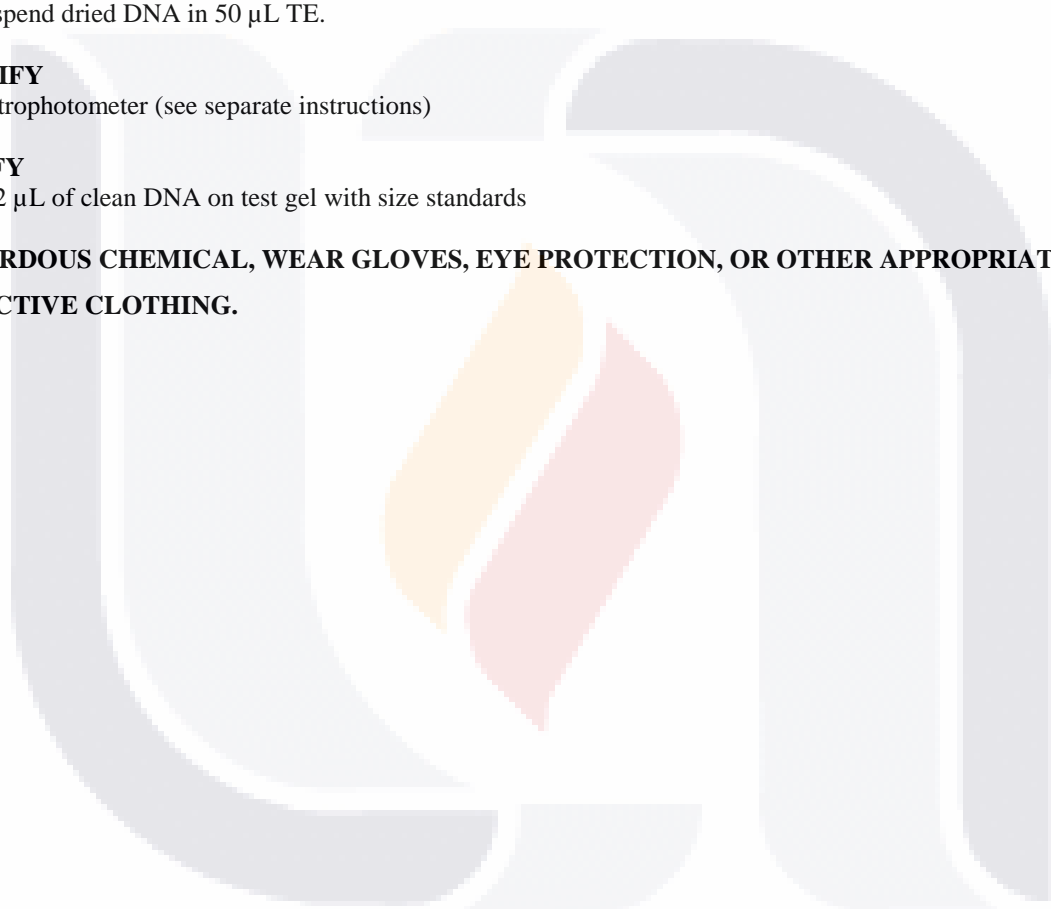
QUANTIFY

Use spectrophotometer (see separate instructions)

QUALIFY

Run out 2 μ L of clean DNA on test gel with size standards

*** HAZARDOUS CHEMICAL, WEAR GLOVES, EYE PROTECTION, OR OTHER APPROPRIATE PROTECTIVE CLOTHING.**



ANEXO 3. PCR PURIFICATION USING PEG PRECIPITATION

Based on protocols used at the Smithsonian Institution's Laboratory of Molecular Systematics; see also Johnson and Soltis paper. Slightly modified by DDJ and SMN.

Reagent/Supply Needs:

ice cold 80% EtOH
 20% w/v PEG 8000 in 2.5 M NaCl
 1.5 ml Eppendorf tubes

Equipment Needs:

37°C incubator
 centrifuge

Note: Volumes are for 25 µl reactions. Adjust for smaller or larger volumes.

1. Label 1.5 ml Eppendorf tubes, one for each reaction with DNA name, genetic locus, and date.
2. Into each tube, pipette 100 µl of 20% PEG 8000 in 2.5 M NaCl.
3. Add 80 µl sterile dH₂O to your PCR product, and add this to the PEG. Either gently vortex or pipette mix.
4. Incubate at room temperature or in 37°C incubator/ water bath for 15 minutes, or place in fridge overnight to precipitate DNA. 37 °C option will likely result in greater loss of product.
5. Microcentrifuge for 10 minutes @ maximum rpm (14000 rpm).
6. Carefully pipette off (~185 µl of) supernatant being careful not to touch the bottom of the tube where the pellet is located (You may not be able to see it). Discard supernatant.
7. Add 500 µl cold 80% (75%) EtOH to each tube and invert once or twice. DO NOT VORTEX. Try to keep tubes very cold, perhaps by storing on ice.
8. Microcentrifuge chilled tubes for 7 minutes @ maximum rpm (14000 rpm).
9. Carefully decant supernatant and allow tubes to partially dry upside-down (lids open) on sterile Kim-Wipes.
10. Further dry samples in vacuum centrifuge with high heat for 5-10 minutes or until dry, or place in drying oven for about 15 minutes with the lids open.
11. When dry, resuspend DNA in sterile water. Water volume depends on the band brightness during the initial PCR visualization compared with DNA. Ideally you want between 5 and 20 ng of clean PCR added to the cycle sequencing reaction.
12. You may want to run 1-2 µl of resuspended DNA on agarose gel with λ DNA (5 ng and 20 ng recommended) to determine concentration.
13. You can use the Nanovue or the Gel Doc to determine your concentrations.

ANEXO 4. SEPHADEX 96-WELL PLATE CLEAN-UP OF CYCLE SEQUENCING PRODUCTS

This method is best reserved for FULL PLATE sequencing!

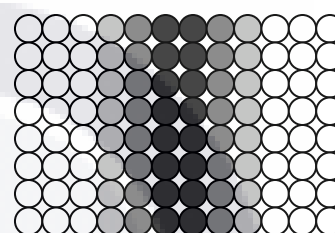
Plates can be purchased from Phenix Research Products (MPF-002) or Fisher (Millipore; PF77001804)

Materials needed:

Hydrated Sephadex G50 Medium
2 1-mL 96-well plates
2 800- μ L 96-well plates
2 96-well collection plates
2 deep-well rotor buckets
clean, semi-skirted plate for sequencing product

Procedure:

1. Stack each sephadex plate on each waste plate. Starting from the center rows on the use plate, load 750 μ L of well-stirred Sephadex suspension into the wells. Use water as a balance for the non-use plate.
2. Load the stacked plates onto the deep-well rotor buckets. Balance to within 0.1 g, adding dH₂O to balance plate wells as necessary. **Spin at 750 RCF for 2:30.**
- 3.
4. Remove from the centrifuge. Load your samples onto the columns, being careful not to disrupt the top of the columns with the pipet tip. Use a waste plate for balance. Place sephadex plate on top of a clean semi-skirted 96-well plate.
5. Load the stacked plates onto the deep-well rotor buckets, remembering to balance them with dH₂O as necessary. **Spin them at 750 RCF for 4:00.**
6. Remove the buckets from the centrifuge. Each well should contain between 10-30 μ L of sample. If necessary, transfer samples into the correct row of a sequencing plate (if less than 96 samples).



Load the dark rows first, proceeding to the lighter ones in a balanced fashion.

Clean the plates immediately after use!

1. Shake the water out of the waste plates.
2. Shake the used sephadex columns out of the sephadex plate into the regular trash. Stack them onto the empty waste plates.
3. Load 600 μ L of dH₂O into all the wells of the sephadex plates. Balance the plates and spin them down in the centrifuge for 30 seconds. Shake out the water from the waste plates.

Repeat step 3 two more times.

ANEXO 5. Provincias biogeográficas de América Latina y el Caribe (Morrone, 2001).



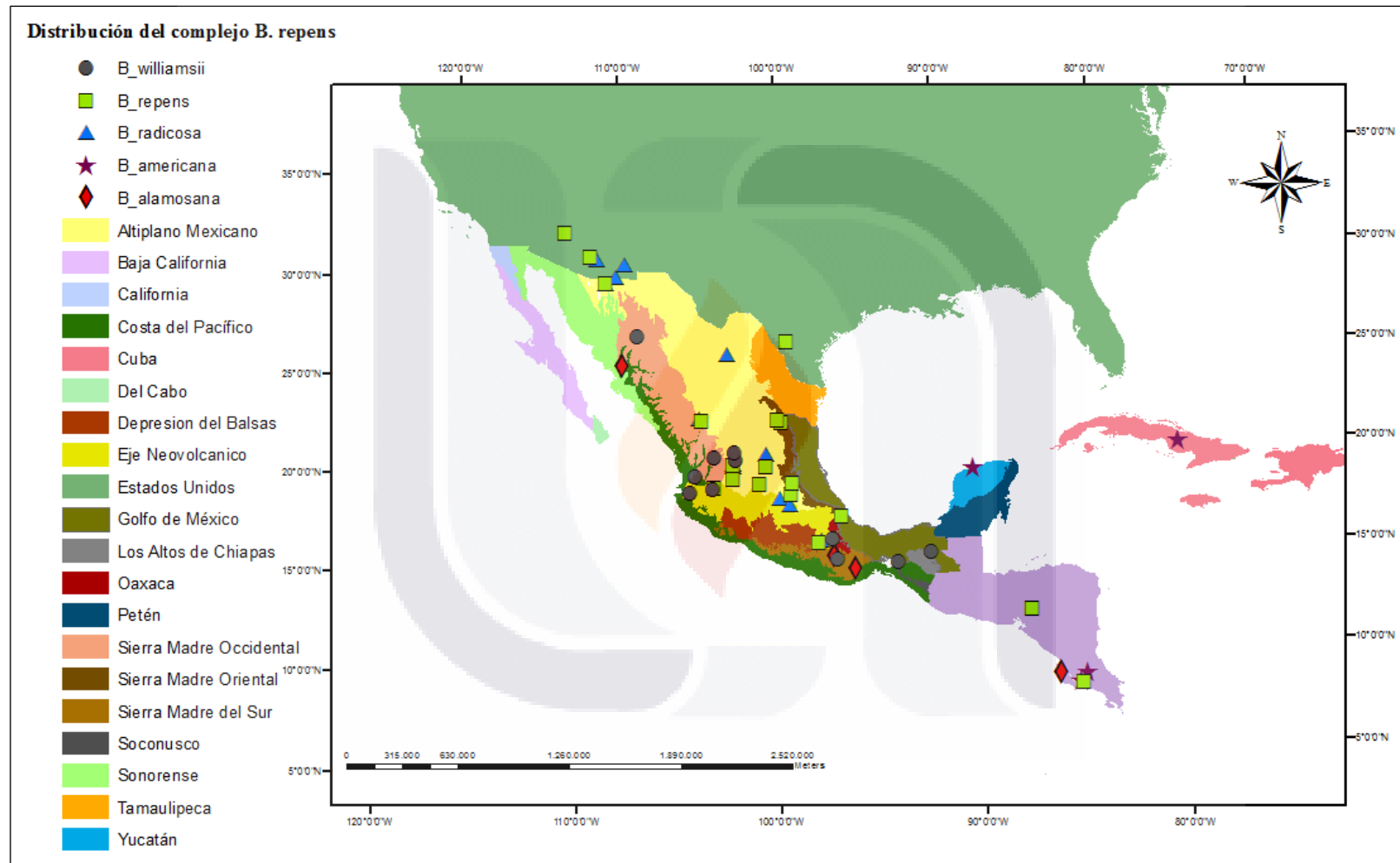
Clasificación biogeográfica de América Latina y el Caribe.

Regiones	Subregiones	Provincias	Número en Anexo 6.	
Neártica		California	1	
		Baja California	2	
		Sonora	3	
		Altiplano Mexicano	4	
		Tamaulipas	5	
Neotropical	Caribeña	Sierra Madre Occidental	6	
		Sierra Madre Oriental	7	
		Eje Volcánico Transmexicano	8	
		Depresión del Balsas	9	
		Sierra Madre del Sur	10	
		Costa Pacífica Mexicana	11	
		Golfo de México	12	
		Península de Yucatán	13	
		Chiapas	14	
		Oriente de América Central	15	
		Occidente del Istmo de Panamá	16	
		Bahamas	17	
		Cuba	18	
		Islas Caimán	19	
		Jamaica	20	
		Española	21	
		Puerto Rico	22	
		Antillas Menores	23	
		Chocó	24	
		Maracaibo	25	
		Costa Venezolana	26	
		Trinidad y Tobago	27	
		Magdalena	28	
		Llanos Venezolanos	29	
		Cauca	30	
		Islas Galápagos	31	
		Occidente de Ecuador	32	
		Ecuador Árido	33	
		Tumbes-Piura	34	
		Amazónica	Napo	35
			Imerí	36
			Guyana	37
			Guyana Húmeda	38
	Roraima		39	
	Amapá		40	
	Varzea		41	
	Ucayali		42	
	Madeira		43	
	Tapajós-Xingú		44	
	Pará		45	
	Pantanal		46	
	Chaqueña	Yungas	47	
		Caatinga	48	
		Cerrado	49	
		Chaco	50	
		Pampa	51	
		Monte	52	
		Paranaense	Bosque Atlántico Brasileño	53
	Bosque Paranaense		54	
	Bosque de <i>Araucaria angustifolia</i>		55	
	Andina	Páramo	56	
		Puneña	57	
			Desierto Peruano Costero	57

		Puna	58
		Atacama	59
		Prepuna	60
		Coquimbo	61
		Santiago	62
		Islas Juan Fernández	63
		Maule	64
		Bosque Valdiviano	65
		Bosque Magallánico	66
		Páramo Magallánico	67
		Islas Malvinas	68
	Patagónica	Patagonia Central	69
		Patagonia Subandina	70



ANEXO 6. Adaptación del mapa del muestreo final a las provincias biogeográficas de Morrone (2001).



ANEXO 7. Alineamiento de las secuencias de la región ITS de los especímenes del complejo *Bouteloua repens* y grupo externo incluidos en los análisis filogenéticos. Los nucleótidos están numerados en dirección 5'-3'. Los polimorfismos están codificados de la siguiente manera: R=A/G, S=G/C, K=G/T, B=C/G/T, H=A/C/T, Y=C/T, W=A/T, M=A/C, D=A/G/T, V=A/C/G. Los guiones representan gaps.

	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100	110
alamosana_12674											
alamosana_2418											
alamosana_2301											
alamosana_3393											
americana_3382											
americana_4365											
americana_4686											
americana_2052											
americana_22775											
americana_11279											
radicosa_2341											
radicosa_3763											
radicosa_3244											
radicosa_2567											
radicosa_2212											
radicosa_2462											
radicosa_5198											
radicosa_1708											
radicosa_6465											
radicosa_1382											
radicosa_8353											
repens_5058											
repens_4619											
repens_3031											
repens_3329											
repens_2994											
repens_5042											
repens_2332											
repens_3381											
repens_2450											
repens_4323											
repens_21232											
repens_24630											
repens_16738											
repens_1474a											
repens_9667											
repens_10027a											
repens_5947											
repens_1669											
repens_5322											

Anexo 7. Continuación

repens_4366	TCGTGACCCTGACCAAAACAGACCGTGAACATGTTATCCATTCTGCCGG-TTGAAATGGTCTTGCACCTTTCATATCGGAACAGGGGTGTCAACCTCTTTG-CAGGGG-AGGTG
williamsii_2353	TCGTGACCCTGACCAAAATAGACCGTGAACATGTTATCCATTCTGCCGG-TTGATTGGTCTTGCACCTTTCATATCGGAACAGGGGTGTCAACTCTCTTAC-CAGGGG-AGGTG
williamsii_5333	TCGAGACCCTGACCAAAACAGACCGTGAACATGTTATCCATTCTGCCGG-TTGATTGGTCTTGCACCTTTCATATCGGAACAGGGGTGTCAACCTCTTTG-CAGGGG-AGGTG
williamsii_5048	TCGTGACCCTGACCAAAATAGACCGTGAACATGTTATCCATTCTGCCGG-TTGATTGGTCTTGCACCTTTCATATCGGAACAGGGGTGTCAACCTCTTTAC-CAGGGG-AGGTG
williamsii_977	TCGTGACCCTGACCAAAATAGACCGTGAACATGTTATCCATTCTGCCGG-TTGATTGGTCTTGCACCTTTCATATCGGAACAGGGGTGTCAACTCTCTTAC-CAGGGG-AGGTG
williamsii_4121_clones1_3	TCGTGACCCTGACCAAAATAGACCGTGAACATGTTATCCATTCTGCCGG-TTGATTGGTCTTGCACCTTTCATATCGGAACAGGGGTGTCAACCTCTTTAC-CAGGGG-AGGTG
williamsii_4121_clone4	TCGTGACCCTGACCAAAACAGACCGTGAACATGTTATCCATTCTGCCGG-TTGATTGGTCTTGCACCTTTCATATCGGAACAGGGGTGTCAACTCTCTTTG-CAGGGG-AGGTG
williamsii_4121_clone5	TCGTGACCCTGACCAAAACAGACCGTGAACATGTTATCCATTCTGCCGG-TTGATTGGTCTTGCACCTTTCATATCGGAACAGGGGTGTCAACTCTCTTTG-CAGGGG-AGGTG
williamsii_4121_clone6	TCGTGACCCTGACCAAAACAGACCGTGAACATGTTATCCATTCTGCCGG-TTGATTGGTCTTGCACCTTTCATATCGGAACAGGGGTGTCAACTCTCTTTG-CAGGGG-AGGTG
williamsii_4121_clone7	TCGTGACCCTGACCAAAACAGACCGTGAACATGTTATCCATTCTGCCGG-TTGATTGGTCTTGCACCTTTCATATCGGAACAGGGGTGTCAACTCTCTTTG-CAGGGG-AGGTG
williamsii_4121_clone8	TCGTGACCCTGACCAAAATAGACCGTGAACATGTTATCCATTCTGCCGG-TTGATTGGTCTTGCACCTTTCATATCGGAACAGGGGTGTCAACCTCTTTAC-CAGGGG-AGGTG
williamsii_4121_clone9	TCGTGACCCTGACCAAAACAGACCGTGAACATGTTATCCATTCTGCCGG-TTGATTGGTCTTGCACCTTTCATATCGGAACAGGGGTGTCAACTCTCTTTG-CAGGGG-AGGTG
williamsii_8149	TCGAGACCCTGACCAAAACAGACCGTGAACATGTTATCCATTCTGCCGG-TTGATTGGTCTTGCACCTTTCATATCGGAACAGGGGTGTCAACCTCTTTG-CAGGGG-AGGTG
williamsii_8060	TCGTGACCCTGACCAAAACAGACCGTGAACATGTTATCCATTCTGCCGG-TTGATTGGTCTTGCACCTTTCATATCGGAACAGGGGTGTCAACCTCTTTG-CAGGGG-AGGTG
williamsii_15996	TCGTGACCCTGACCAAAATAGACCGTGAACATGTTATCCATTCTGCCGG-TTGATTGGTCTTGCACCTTTCATATCGGAACAGGGGTGTCAACCTCTTTAC-CAGGGG-AGGTG
williamsii_11868	TCGTGACCCTGACCAAAAYAGACCGTGAACATGTTATCCATTCTGCCGG-TTGATTGGTCTTGCACCTTTCATATCGGAACAGGGGTGTCAACCTCTTTAC-CAGGGG-AGGTG
williamsii_344	TCGTGACCCTGACCAAAATAGACCGTGAACATGTTATCCATTCTGCCGG-TTGATTGGTCTTGCACCTTTCATATCGGAACAGGGGTGTCAACCTCTTTAC-CAGGGG-AGGTG
williamsii_s/n	TCGTGACCCTGACCAAAATAGACCGTGAACATGTTATCCATTCTGCCGG-TTGATTGGTCTTGCACCTTTCATATCGGAACAGGGGTGTCAACCTCTTTAC-CAGGGG-AGGTG
williamsii_5330	TCGTGACCCTGACCAAAATAGACCGTGAACATGTTATCCATTCTGCCGG-TTGATTGGTCTTGCACCTTTCATATCGGAACAGGGGTGTCAACCTCTTTG-CAGGGG-AGGTG
williamsii_5327	TCGTGACCCTGACCAAAATAGACCGTGAACATGTTATCCATTCTGCCGG-TTGATTGGTCTTGCACCTTTCATATCGGAACAGGGGTGTCAACCTCTTTAC-CAGGGG-AGGTG
williamsii_5332	TCGTGACCCTGACCAAAATAGACCGTGAACATGTTATCCATTCTGCCGG-TTGATTGGTCTTGCACCTTTCATATCGGAACAGGGGTGTCAACCTCTTTAC-CAGGGG-AGGTG
williamsii_5333	TCGTGACCCTGACCAAAATAGACCGTGAACATGTTATCCATTCTGCCGG-TTGATTGGTCTTGCACCTTTCATATCGGAACAGGGGTGTCAACCTCTTTAC-CAGGGG-AGGTG

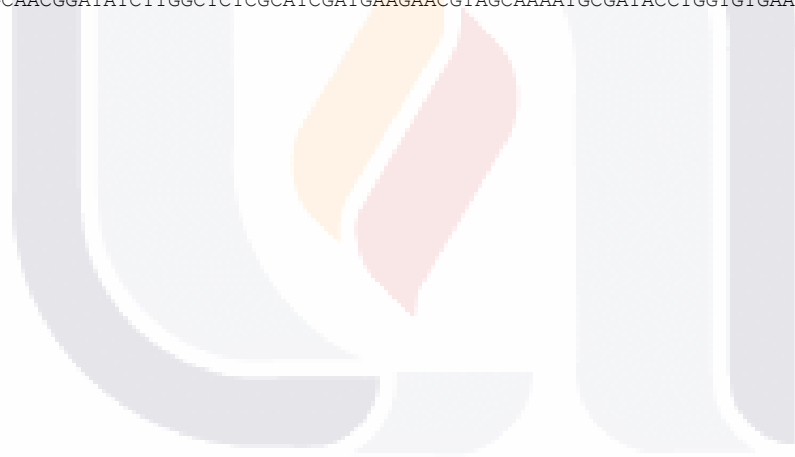


Anexo 7. Continuación

williamsii_5333	CCCTAAAAGAA-CCCACGGCGCCGTATGGCGTCAAGGAACACTGA-TGCTGTCATGCACATGTGTTGACCGGCTTGCCGGAGCCAACCTTGTGCATCGATTATCTTATAATC
williamsii_5048	CCCTAAAAGAA-CCCACGGCGCCGTATGGCGTCAAGGAACACTGA-TGCTRTCATGCACATGTGTTGACCGGCTTGCCGGAGCCAACCTCGTGCATCGATTATTTGATAATC
williamsii_977	CCCTAAAAGAA-CCCACGGCGCCGTATGGCGTCAAGGAACACTGA-TGCTATCATGCACATGTGTTGACCGGCTTGCCGGAGCCAACCTCGTGCATCGATTATTTGATAATC
williamsii_4121_clones1_3	CCCTAAAAGAA-CCCACGGCGCCGTATGGCGTCAAGGAACACTGA-TGCTGTCATGCACATGTGTTGACCGGCTTGCCGGAGCCAACCTCGTGCATCGATTATCTGATAATC
williamsii_4121_clone4	CCCTAAAAGAA-CCCACGGCGCCGTATGGCGTCAAGGAACACTGA-TGCTGTCATGCACATGTGTTGACCGGCTTGCCGGGGCCAACCTTGTGCATCGATTATCTGATAATC
williamsii_4121_clone5	CCCTAAAAGAA-CCCACGGCGCCGTATGGCGTCAAGGAACACTGA-TGCTGTCATGCACATGTGTTGACCGGCTTGCCGGAGCCAACCTTGTGCATCGATTATCTTATAATC
williamsii_4121_clone6	CCCTAAAAGAA-CCCACGGCGCCGTATGGCGTCAAGGAACACTGA-TGCTGTCATGCACATGTGTTGACCGGCTTGCCGGAGCCAACCTTGTGCATCGATTATCTTATAATC
williamsii_4121_clone7	CCCTAAAAGAA-CCCACGGCGCCGTATGGCGTCAAGGAACACTGA-TGCTGTCATGCACATGTGTTGACCGGCTTGCCGGAGCCAACCTTGTGCATCGATTATCTTATAATC
williamsii_4121_clone8	CCCTAAAAGAA-CCCACGGCGCCGTATGGCGTCAAGGAACACTGA-TGCTGTCATGCACATGTGTTGACCGGCTTGCCGGAGCCAACCTTGTGCATCGATTATCTTATAATC
williamsii_4121_clone9	CCCTAAAAGAA-CCCACGGCGCCGTATGGCGTCAAGGAACACTGA-TGCTGTCATGCACATGTGTTGACCGGCTTGCCGGAGCCAACCTTGTGCATCGATTATCTTATAATC
williamsii_8149	CCCTAAAAGAA-CCCACGGCGCCGTATGGCGTCAAGGAACACTGA-TGCTGTCATGCACATGTGTTGACCGGCTTGCCGGAGCCAACCTTGTGCATCGATTATCTTATAATC
williamsii_8060	CCCTAAAAGAA-CCCACGGCGCCGTATGGCGTCAAGGAACACTGA-TGCTGTCATGCACATGTGTTGACCGGCTTGCCGGAGCCAACCTTGTGCATCGATTATCTTATAATC
williamsii_15996	CCCTAAAAGAA-CCCACGGCGCCGTATGGCGTCAAGGAACACTGA-TGCTGTCATGCACATGTGTTGACCGGCTTGCCGGAGCCAACCTCGTGCATCGATTATCTGATAATC
williamsii_11868	CCCTAAAAGAA-CCCACGGCGCCGTATGGCGTCAAGGAACACTGA-TGCTGTCATGCACATGTGTTGACCGGCTTGCCGGAGCCAACCTYGTGCATCGATTATCTGATAATC
williamsii_344	CCCTAAAAGAA-CCCACGGCGCCGTATGGCGTCAAGGAACACTGA-TGCAGTCATGCACATGTGTTGACCGGCTTGCCGGAGCCAACCTCGTGCATCGATTATCTGATAATC
williamsii_s/n	CCCTAAAAGAA-CCCACGGCGCCGTATGGCGTCAAGGAACACTGA-TGCTGTCATGCACATGTGTTGACCGGCTTGCCGGAGCCAACCTTGTGCATCGATTATTTGATAATC
williamsii_5330	CCCTAAAAGAA-CCCACGGCGCCGTATGGCGTCAAGGAACACTGA-TGCTGTCATGCACATGTGTTGACCGGCTTGCCGGAGCCAACCTCGTGCATCGATTATCTGATAATC
williamsii_5327	CCCTAAAAGAA-CCCACGGCGCCGTATGGCGTCAAGGAACACTGA-TGCTGTCATGCACATGTGTTGACCGGCTTGCCGGAGCCAACCTCGTGCATCGATTATCTGATAATC
williamsii_5332	CCCTAAAAGAA-CCCACGGCGCCGTATGGCGTCAAGGAACACTGA-TGCTGTCATGCACATGTGTTGACCGGCTTGCCGGAGCCAACCTCGTGCATCGATTATCTGATAATC
williamsii_5333	CCCTAAAAGAA-CCCACGGCGCCGTATGGCGTCAAGGAACACTGA-TGCAGTCATGCACATGTGTTGACCGGCTTGCCGGAGCCAACCTCGTGCATCGATTATCTGATAATC



williamsii_5048	CACATGACTCTCGGCAACGGATATCTTGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGTAGCAAAATGCGATACCTGGTGTGAATTGCAGAATCCCGTGAACCATCGAGTTTTTGAACGC
williamsii_977	CACATGACTCTCGGCAACGGATATCTTGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGTAGCAAAATGCGATACCTGGTGTGAATTGCAGAATCCCGTGAACCATCGAGTTTTTGAACGC
williamsii_4121_clones1_3	CACATGACTCTCGGCAACGGATATCTTGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGTAGCAAAATGCGATACCTGGTGTGAATTGCAGAATCCCGTGAACCATCGAGTTTTTGAACGC
williamsii_4121_clone4	CACATGACTCTCGGCAACGGATATCTTGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGTAGCAAAATGCGATACCTGGTGTGAATTGCAGAATCCCGTGAACCATCGAGTTTTTGAACGC
williamsii_4121_clone5	CACATGACTCTCGGCAACGGATATCTTGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGTAGCAAAATGCGATACCTGGTGTGAATTGCAGAATCCCGTGAACCATCGAGTTTTTGAACGC
williamsii_4121_clone6	CACATGACTCTCGGCAACGGATATCTTGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGTAGCAAAATGCGATACCTGGTGTGAATTGCAGAATCCCGTGAACCATCGAGTTTTTGAACGC
williamsii_4121_clone7	CACATGACTCTCGGCAACGGATATCTTGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGTAGCAAAATGCGATACCTGGTGTGAATTGCAGAATCCCGTGAACCATCGAGTTTTTGAACGC
williamsii_4121_clone8	CACATGACTCTCGGCAACGGATATCTTGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGTAGCAAAATGCGATACCTGGTGTGAATTGCAGAATCCCGTGAACCATCGAGTTTTTGAACGC
williamsii_4121_clone9	CACATGACTCTCGGCAACGGATATCTTGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGTAGCAAAATGCGATACCTGGTGTGAATTGCAGAATCCCGTGAACCATCGAGTTTTTGAACGC
williamsii_8149	CACATGACTCTCGGCAACGGATATCTTGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGTAGCAAAATGCGATACCTGGTGTGAATTGCAGAATCCCGTGAACCATCGAGTTTTTGAACGC
williamsii_8060	CACATGACTCTCGGCAACGGATATCTTGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGTAGCAAAATGCGATACCTGGTGTGAATTGCAGAATCCCGTGAACCATCGAGTTTTTGAACGC
williamsii_15996	CACATGACTCTCGGCAACGGATATCTTGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGTAGCAAAATGCGATACCTGGTGTGAATTGCAGAATCCCGTGAACCATCGAGTTTTTGAACGC
williamsii_11868	CACACGACTCTCGGCAACGGATATCTTGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGTAGCAAAATGCGATACCTGGTGTGAATTGCAGAATCCCGTGAACCATCGAGTTTTTGAACGC
williamsii_344	CACATGACTCTCGGCAACGGATATCTTGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGTAGCAAAATGCGATACCTGGTGTGAATTGCAGAATCCCGTGAACCATCGAGTTTTTGAACGC
williamsii_s/n	CACATGACTCTCGGCAACGGATATCTTGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGTAGCAAAATGCGATACCTGGTGTGAATTGCAGAATCCCGTGAACCATCGAGTTTTTGAACGC
williamsii_5330	CACATGACTCTCGGCAACGGATATCTTGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGTAGCAAAATGCGATACCTGGTGTGAATTGCAGAATCCCGTGAACCATCGAGTTTTTGAACGC
williamsii_5327	CACATGACTCTCGGCAACGGATATCTTGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGTAGCAAAATGCGATACCTGGTGTGAATTGCAGAATCCCGTGAACCATCGAGTTTTTGAACGC
williamsii_5332	CACATGACTCTCGGCAACGGATATCTTGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGTAGCAAAATGCGATACCTGGTGTGAATTGCAGAATCCCGTGAACCATCGAGTTTTTGAACGC
williamsii_5333	CACATGACTCTCGGCAACGGATATCTTGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGTAGCAAAATGCGATACCTGGTGTGAATTGCAGAATCCCGTGAACCATCGAGTTTTTGAACGC



williamsii_5048 AAGTTGCGCCCGAGGCCTTCTGGTTGAGGGCACGTCTGCCTGGGCGTCACGCCAAAAGACT-CCCAATCKACATGTT----GAGGATGAGGATGTGGTATTTGGCTCCC
williamsii_977 AAGTTGCGCCCGAGGCCTTCTGGTTGAGGGCACGTCTGCCTGGGCGTCACGCCAAAAGACT-CCCAATCCTACATGTT----GAGGATGAGGATGTGGTATTTGGCTCCC
williamsii_4121_clones1_3 AAGTTGCGCCCGAGGCCTTCTGGTTGAGGGCACGTCTGCCTGGGCGTCACGCCAAAAGACT-CCCAATCCAACATGTT----CAGGATGAGGATGTGGTATTTGGCTCCC
williamsii_4121_clone4 AAGTTGCGCCCGAGGCCTTCTGGTTGAGGGCACGTCTGCCTGGGCGTCACGCCAAAAGACT-CCCAATCCAACATGTT----CAGGATGAGGATGTGGTATTTGGCTCCC
williamsii_4121_clone5 AAGTTGCGCCCGAGGCCTTCTGGTTGAGGGCACGTCTGCCTGGGCGTCACGCCAAAAGACT-CCCAATCCAACATGTT----CAGGATGAGGATGTGGTATTTGGCTCCC
williamsii_4121_clone6 AAGTTGCGCCCGAGGCCTTCTGGTTGAGGGCACGTCTGCCTGGGCGTCACGCCAAAAGACT-CCCAATCCAACATGTT----GAGGATGAGGATGTGGTATTTGGCTCCC
williamsii_4121_clone7 AAGTTGCGCCCGAGGCCTTCTGGTTGAGGGCACGTCTGCCTGGGCGTCACGCCAAAAGACT-CCCAATCCAACATGTT----CAGGATGAGGATGTGGTATTTGGCTCCC
williamsii_4121_clone8 AAGTTGCGCCCGAGGCCTTCTGGTTGAGGGCACGTCTGCCTGGGCGTCACGCCAAAAGACT-CCCAATCCAACATGTT----GAGGATGAGGATGTGGTATTTGGCTCCC
williamsii_4121_clone9 AAGTTGCGCCCGAGGCCTTCTGGTTGAGGGCACGTCTGCCTGGGCGTCACGCCAAAAGACT-CCCAATCCAACATGTT----CAGGATGAGGATGTGGTATTTGGCTCCC
williamsii_8149 AAGTTGCGCCCGAGGCCTTCTGGTTGAGGGCACGTCTGCCTGGGCGTCACGCCAAAAGACT-CCCAATCCAACATGTT----GAGGATGAGGATGTGGTATTTGGCTCCC
williamsii_8060 AAGTTGCGCCCGAGGCCTTCTGGTTGAGGGCACGTCTGCCTGGGCGTCACGCCAAAAGACT-CCCAATCCAACATGTT----GAGGATGAGGATGTGGTATTTGGCTCCC
williamsii_15996 AAGTTGCGCCCGAGGCCTTCTGGTTGAGGGCACGTCTGCCTGGGCGTCACGCCAAAAGACT-CCCAATCCAACATGTT----GAGGATGAGGATGTGGTATTTGGCTCCC
williamsii_11868 AAGTTGCGCCCGAGGCCTTCTGGTTGAGGGCACGTCTGCCTGGGCGTCACGCCAAAAGACT-CCCAATCCAACATGTT----GAGGATGAGGATGTGGTATTTGGCTCCC
williamsii_344 AAGTTGCGCCCGAGGCCTTCTGGTTGAGGGCACGTCTGCCTGGGCGTCACGCCAAAAGACT-CCCAATCCAACATGTT----GAGGATGAGGATGTGGTATTTGGCTCCC
williamsii_s/n AAGTTGCGCCCGAGGCCTTCTGGTTGAGGGCACGTCTGCCTGGGCGTCACGCCAAAAGACT-CCCAATCCGACATGTT----GAGGATGAGGATGTGGTATTTGGCTCCC
williamsii_5330 AAGTTGCGCCCGAGGCCTTCTGGTTGAGGGCACGTCTGCCTGGGCGTCACGCCAAAAGACT-CCCAATCCAACATGTT----CAGGATGAGGATGTGGTATTTGGCTCCC
williamsii_5327 AAGTTGCGCCCGAGGCCTTCTGGTTGAGGGCACGTCTGCCTGGGCGTCACGCCAAAAGACT-CCCAATCCAACATGTT----GAGGATGAGGATGTGGTATTTGGCTCCC
williamsii_5332 AAGTTGCGCCCGAGGCCTTCTGGTTGAGGGCACGTCTGCCTGGGCGT?ACGCCAAAAGACT-CCC-----
williamsii_5333 AAGTTGCGCCCGAGGCCTTCTGGTTGAGGGCACGTCTGCCTGGGCGTCACGCCAAAAGACT-CCCAATCCAACATGTT----GAGGATGAGGATGTGGTATTTGGCTCCC




```
williamsii_5048      CGTCGTGCTTCTATGTGCGGAGGGCCTAAGTT-GGGGCTGCTGGCGGTGCCGATCAAAGCACATGGTGGATGGCGAAA---G-TTGTCTCAGTGCTATGG-TTTGGACTGC
williamsii_977      CGTCGTGCTTCTATGTGCGGAGGGCCTAAGTT-GGGGCTGCTGGCGGTGCCGATCAAAGCACATGGTGGATGGCGAAA---G-TTGTCTCAGTGCTATGG-TTTGGACTGC
williamsii_4121_clones1_3  CGTCGTGCTTCTATGTGCGGAGGGCCTAAGTT-GGGGCTGCTGGCGGTGCCGATCAAAGCACATGGTGGATGGCGAAA---G-TTGTCTCAGTGCTATGG-TTTGGACTCC
williamsii_4121_clone4  CGTCGTGCTTCTATGTGCGGAGGGCCTAAGTT-GGGGCTGCTGGCGGTGCCGATCAAAGCACATGGTGGATGGCGAAA---G-TTGTCTCAGTGCTATGG-TTTGGACTCC
williamsii_4121_clone5  CGTCGTGCTTCTATGTGCGGAGGGCCTAAGTT-GGGGCTGCTGGCGGTGCCGATCAAAGCACATGGTGGATGGCGAAA---G-TTGTCTCAGTGCTATGG-TTTGGACTCC
williamsii_4121_clone6  CGTCGTGATTCTATGTGCGGAGGGCCTAAGTT-GGGGCTGCTGGCGGTGCCGATCAAAGCACATGGTGGATGGCGAAA---G-TTGTCTCAGTGCTATGG-TTTGGACTGC
williamsii_4121_clone7  CGTCGTGCTTCTATGTGCGGAGGGCCTAAGTT-GGGGCTGCTGGCGGTGCCGATCAAAGCACATGGTGGATGGCGAAA---G-TTGTCTCAGTGCTATGG-TTTGGACTCC
williamsii_4121_clone8  CGTCGTGATTCTATGTGCGGAGGGCCTAAGTT-GGGGCTGCTGGCGGTGCCGATCAAAGCACATGGTGGATGGCGAAA---G-TTGTCTCAGTGCTATGG-TTTGGACTGC
williamsii_4121_clone9  CGTCGTGCTTCTATGTGCGGAGGGCCTAAGTT-GGGGCTGCTGGCGGTGCCGATCAAAGCACATGGTGGATGGCGAAA---G-TTGTCTCAGTGCTATGG-TTTGGACTCC
williamsii_8149      CGTCGTGATTCTATGTGCGGAGGGCCTAAGTT-GGGGCTGCTGGCGGTGCCGATCAAAGCACATGGTGGATGGCGAAA---G-TTGTCTCAGTGCTATGG-TTTGGACTGC
williamsii_8060      CGTCGTGATTCTATGTGCGGAGGGCCTAAGTT-GGGGCTGCTGGCGGTGCCGATCAAAGCACATGGTGGATGGCGAAA---G-TTGTCTCAGTGCTATGG-TTTGGACTGC
williamsii_15996     CGTCGTGCTTCTATGTGCGGAGGGCCTAAGTT-GGGGCTGCTGGCGGTGCCGATCAAAGCACATGGTGGATGGCGAAA---G-TTGTCTCAGTGCTATGG-TTTGGACTGC
williamsii_11868     CGTCGTGCTTCTATGTGCGGAGGGCCTAAGTT-GGGGCTGCTGGCGGTGCCGATCAAAGCACATGGTGGATGGCGAAA---G-TTGTCTCAGTGCTATGG-TTTGGACTGC
williamsii_344       CGTCGTGCTTCTATGTGCGGAGGGCCTAAGTT-GGGGCTGCTGGCGGTGCCGATCAAAGCACATGG?GGATGGCGAAA---GTTTGTCTCA?TGCTATGGTTTGGACTGC
williamsii_s/n       CGTCGTGCTTCTATGTGCGGAGGGCCTAAGTT-CGGGCTGCTGGCGGTGCCGATCAAAGCACATGGTGGATGGCGAAA---G-TTGTCTCAGTGCTATGG-TTTGGACTGC
williamsii_5330      CGTCGTGCTTCTATGTGCGGAGGGCCTAAGTT-GGGGCTGCTGGCGGTGCCGATCAAAGCACATGGTGGATGGCGAAA---G-TTGTCTCAGTGCTATGG-TTTGGACTGC
williamsii_5327      CGTCGTGCTTCTATGTGCGGAGGGCCTAAGTT-GGGGCTGCTGGCGGTGCCGATCAAAGCACATGGTGGATGGCGAAA---G-TTGTCTCAGTGCTATGG-TTTGGACTGC
williamsii_5332      -----
williamsii_5333      CGTCGTGCTTCTATGTGCGGAGGGCCTAAGTT-GGGGCTGCTGGCGGTGCCGATCAAAGCACATGGTGGATGGCGAAA---G-TTGTCTCAGTGCTATGG-TTTGGACTGC
```



Anexo 7. Continuación

	570	580	590	600	610	620
alamosana_12674	AT-TTGTGGAT-GCCCT--TAG--CACCCATGTACCG-AAGCGGACA-TT---GCTCGGACCGCGA--					
alamosana_12418	AT-TTGTGGAT-GCCCT--TAG--CACCCATGTACCG-AAGCGGACA-TT---GCTCGGACCGCGA--					
alamosana_2301	AT-TTGTGGAT-GCCCT--TAG--CACCCATGTACCG-AAGCGGACA-TT---GCTC-GACCGCGA--					
alamosana_3393	AT-TTGTGGAT-GCCCT--TAG--CACCCATGTACCG-AAGCGGACA-TT---GCTC-GACCGCGA--					
americana_3382	AT-TTGTGGAT-GCCCT--TAG--CACCCATGTACCG-AAGCGGACA-TT---GCTC-GACCGCGA--					
americana_4365	AT-TTGTGGAT-GCCCT--TAG--CACCCATGTACCG-AAGCGGACA-TT---GCTC-GACCGCGA--					
americana_4686	AT-TTGTGGAT-GCCCT--TAG--CACCCATGTACCG-AAGCGGACA-TT---GCTCGGACCGCGA--					
americana_2052	AT-TTGTGGAT-GCCCT--TAG--CACCCATGTACCG-AAGCGGACA-TT---GCTCGGACCGCGA--					
americana_22775	AT-TTGTGGAT-GCCCT--TAG--CACCCATGTACCG-AAGCGGACA-TT---GCTCGGACCGCGA--					
americana_11279	AT-TTGTGGAT-GCCCT--TAG--CACCCATGTACCG-AAGCGGACA-TT---GCTCGGACCGCGA--					
radicosa_2341	AT-TTGTGGAT-RCCCT--TAG--CACCCATGTACCG-AAGCGSACA-TT---GCTCGGACCRCGA--					
radicosa_3763	AT-TTGTGGAT-GCCCT--TAG--CACCCATGTACCG-AAGCGGACA-TT---GCTCGGACCGCGA--					
radicosa_3244	AT-TTGTGGAT-GCCCT--TRG--CACCCATRTACCG-AAGCGCACA-TT---GCTCGGACCGCGA--					
radicosa_2567	AT-TTGTGGAT-GCCCT--TAG--CACCCATGTACCG-AAGYGGACA-TT---GCTYGGACCGCGA--					
radicosa_2212	AT-TTGTGGAT-GCCCT--TRG--CACCCATRTACCG-AAGCGCACA-TT---GCTCGGACCGCGA--					
radicosa_2462	AT-TTGTGGAT-GCCCT--TGG--CACCCATATACCG-AAGCGCACA-TT---GCTCGGACCGCGA--					
radicosa_5198	AT-TTGTGGAT-GCCCT--TAG--CACCCATGTACCG-AAGCGCACA-TT---GCTCGGACCGCGA--					
radicosa_1708	AT-TTGTGGAT-GCCCT--TGG--CACCCATGTACCG-AAGCGCACA-TT---GCTCTGACTGCGA--					
radicosa_6465	AT-TTGTGGAT-GCCCT--TAC--CACCCATGTA??G-AATCGGACA-TT---GC??ACCGCGA--					
radicosa_1382	AT-TTGTGGAT-GCCCT--TAG--CACCCATGTACCG-AAGCGGACA-TT---GCTCGGACCGCGA--					
radicosa_8353	AT-TTGTGGAT-GCCCT--TAG--CACCCATGTACCG-AAGCGGACA-TT---GCTCGGACCGCGA--					
repens_5058	AT-TTGTGGAT-GCCCT--TAG--CACCCATGTACCG-AAGCGGACA-TT---GCTCGGACCGCGA--					
repens_4619	AT-TTGTGGAT-GCCCT--TAT--CACCCATGTACCG-AAGCRGACA-TT---GCTCGGACCGCGA--					
repens_3031	AT-TTGTGGAT-GCCCT--TAS--CACCCATGTACCG-AAGTGGACA-TT---GCTTGGACCGCGA--					
repens_3329	AT-TTGTGGAT-GCCCT--TAG--CACCCATGTACCG-AAGCGGACA-TT---GCTCGGACCGCGA--					
repens_2994	AT-TTGTGGAT-GCCCT--TAG--CACCCATGTACCA-AAGTGGACA-TT---GCTTGGACCGCGA--					
repens_5042	AT-TTGTGGAT-GCCCT--TAG--CACCCATGTACCG-AAGCGGACA-TT---GCTCGGACCGCGA--					
repens_2332	AT-TTGTGGAT-GCC-T--TAG--CACCCATGTACCG-AAGTGGACA-TT---GCTTGGACCGCGA--					
repens_3381	AT-TTGTGGAT-GCCCT--TAG--CACCCATGTACCG-AAGTGGACA-TT---GCTTGGACCGCGA--					
repens_2450	AT-TTGTGGAT-GCCCT--TAG--CACCCATGTACCG-AAGCGGACA-TT---GCTCGGACCGCGA--					
repens_4323	AT-TTGTGGAT-GCCCT--TAG--CACCCATGTACCG-AAGTGGACA-TT---GCTTGGACCGCGA--					
repens_21232	AT-TTGTGGAT-GCCCT--TAG--CACCCATGTACCG-AAGTGGACA-TT---GCTTGGACCGCGA--					
repens_24630	AT-TTGTGGAT-GCCCT--TAG--CACCCATGTACCG-AAGCGGACA-TT---GCTCGGACCGCGA--					
repens_16738	AT-TTGTGGAT-GCCCT--TAG--CACCCATGTACCG-AAGCGGACA-TT---GCTCGGACCGCGA--					
repens_1474a	AT-TTGTGGAT-GCCCT--TAG--CACCCATGTACCA-AAGTGGACA-TT---GCTTGGACCGCGA--					
repens_9667	AT-TTGTGGAT-GCCCT--TAG--CACCCATGTACCG-AAGCGGACA-TT---GCTCGGACCGCGA--					
repens_10027a	AT-TTGTGGAT-GCCCT--TAG--CACCCATGTACCG-AAGCGGACA-TT---GCTCGGACCGCGA--					
repens_5947	AT-TTGTGGAT-GCCCT--TAG--CACCCATGTACCG-AAGCGGACA-TT---GCTCGGACCGCGA--					
repens_1669	AT-TTGTGGAT-GCCCT--TAG--CACCCATGTACCA-AAGTGGACA-TT---GCTTGGACCGGCTA--					
repens_5322	TA-TTGTGGAT-GCCCT--GAT--CACCCAAGTACCG-AAGCGCTTG-TTGACGCTCGGACTGCGA--					
repens_4366	AT-TTGTGGAT-GCCCT--TGG--CACCCATGCACCG-AAGCGCACA-TT---GCTCGGACCGCGA--					
williamsii_2353	AT-TTGTGGAT-GCCCT--TAG--CACCCATGTACCG-AAGCGGACA-TT---GCTCGGACCGCGA--					

```
williamsii_5333 AT-TTGTTGAC-GCCCT--TAG--CACCCATGTACCG-AAGCGCACA-TT---GCTCGGACCGCGA--
williamsii_5048 AT-TTGTTGAC-GCCCT--TAG--CACCCATGTACCG-AAGCGGACA-TT---GCTCGGACCRCGA--
williamsii_977 AT-TTGTTGAC-GCCCT--TAG--CACCCATGTACCG-AAGCGGACA-TT---GCTCGGACCGCGA--
williamsii_4121_clones1_3 AT-TTGTTGAC-GCCCT--TAG--CACCCATGCACCG-AAGCGGACA-TT---GCTCGGACCGCGA--
williamsii_4121_clone4 AT-TTGTTGAC-GCCCT--TAG--CACCCATGCACCG-AAGCGGACA-TT---GCTCGGACCGCGA--
williamsii_4121_clone5 AT-TTGTTGAC-GCCCT--TAG--CACCCATGCACCG-AAGCGGACA-TT---GCTCGGACCGCAA--
williamsii_4121_clone6 AT-TTGTTGAC-GCCCT--TAG--CACCCATGTACCG-AAGCGCACA-TT---GCTCGGACCGCGA--
williamsii_4121_clone7 AT-TTGTTGAC-GCCCT--TAG--CACCCATGCACCG-AAGCGGACA-TT---GCTCGGACCGCGA--
williamsii_4121_clone8 AT-TTGTTGAC-GCCCT--TAG--CACCCATGTACCG-AAGCGCACA-TT---GCTCGGACCGCGA--
williamsii_4121_clone9 AT-TTGTTGAC-GCCCT--TAGCACCACCCATGTACCG-AAGCGCACA-TT---GCTCGGACCGCGA--
williamsii_8149 AT-TTGTTGAC-GCCCT--TAG--CACCCATGTACCG-AAGCGSACA-TT---GCTCGGACCGCGA--
williamsii_8060 AT-TTGTTGAC-GCCCT--TGG--CACCCATGTACCG-AAGC-?ACA-TT---GCTCGGACCGCGA--
williamsii_15996 AT-TTGTTGAC-GCCCT--TAG--CACCCATGTACCG-AAGCGGACA-TT---GCTCGGACCGCGA--
williamsii_11868 AT-TTGTTGAC-GCCCT--TAG--CACCCATGTACCG-AAGCGGACA-TT---GCTCGGACCGCGA--
williamsii_344 AT-TTGTTGAC-GCCCT--TAC--CACCC?TGT?CCGAAAAC TGATATTT---GCTCGGACCACC?--
williamsii_s/n AT-TTGTTGAC-?CCCT--TAT--CACCCATGTACCG-AATCG?ACA-TT---G?TCGGACCACGA--
williamsii_5330 AT-TTGTTGAC-GCCCT--TAG--CACCCATGTACCG-AAGCGGACA-TT---GCTCGGACCGCGA--
williamsii_5327 AT-TTGTTGAC-GCCCT--TA?--CACCCATGTACCG-AA?CGGACA-TT---GCTCGGACCGCGA--
williamsii_5332 -----
williamsii_5333
```



ANEXO 8. Alineamiento de las secuencias de la región trnT-L-F de los especímenes del complejo *Bouteloua repens* y grupo externo incluidos en los análisis filogenéticos. Los nucleótidos están numerados en dirección 5'-3'. Los polimorfismos están codificados de la siguiente manera: R=A/G, S=G/C, K=G/T, B=C/G/T, H=A/C/T, Y=C/T, W=A/T, M=A/C, D=A/G/T, V=A/C/G. Los guiones representan gaps.

	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100	110
alamosana_2301	TTACATAACTGAAATAGTGTAACAAATAGAATTATATATAGGAAATCTGTAAAATGGCAGATCTTAATTATTAATCTTAGTTATTA	ACTAGTTCCAAATTTGAAATTC	CACT								
alamosana_3393	TTACATAACTGAAATAGTGTAACAAATAGAATTATATATAGGAAATCTGTAAAATGGCAGATCTTAATTATTAATCTTAGTTATTA	ACTAGTTCCAAATTTGAAATTC	CACT								
alamosana_2418	TTACATAACTGAAATAGTGTAACAAATAGAATTATATATAGGAAATCTGTAAAATGGCAGATCTTAATTATTAATCTTAGTTATTA	ACTAGTTCCAAATTTGAAATTC	CACT								
americana_3382	TTACATAACTGAAATAGTGTAACAAATAGAATTATATATAGGAAATCTGTAAAATGGCAGATCTTAATTATTAATCTTAGTTATTA	ACTAGTTCCAAATTTGAAATTC	CACT								
americana_4365	TTACATAACTGAAATAGTGTAACAAATAGAATTATATATAGGAAATCTGTAAAATGGCAGATCTTAATTATTAATCTTAGTTATTA	ACTAGTTCCAAATTTGAAATTC	CACT								
americana_22775	TTACATAACTGAAATAGTGTAACAAATAGAATTATATATAGGAAATCTGTAAAATGGCAGATCTTAATTATTAATCTTAGTTATTA	ACTAGTTCCAAATTTGAAATTC	CACT								
repens_4366	TTACATAACTGAAATAGTGTAACAAATAGAATTATATATAGGAAATCTGTAAAATGGCAGATCTTAATTATTAATCTTAGTTATTA	ACTAGTTCCAAATTTGAAATTC	CACT								
radicosa_2341	TTACATAACTGAAATAGTGTAACAAATAGAATTATATATAGGAAATCTGTAAAATGGCAGATCTTAATTATTAATCTTAGTTATTA	ACTAGTTCCAAATTTGAAATTC	CACT								
radicosa_2462	TTACATAACTGAAATAGTGTAACAAATAGAATTATATATAGGAAATCTGTAAAATGGCAGATCTTAATTATTAATCTTAGTTATTA	ACTAGTTCCAAATTTGAAATTC	CACT								
radicosa_3763	TTA--TAACTGAAATAGTGTAACAAATAGAATTATATATAGGAAATCTGTAAAATGGCAGATCTTAATTATTAATCTTAGTTATTA	ACTAGTTCCAAATTTGAAATTC	CACT								
radicosa_3244	TTACATAACTGAAATAGTGTAACAAATAGAATTATATATAGGAAATCTGTAAAATGGCAGATCTTAATTATTAATCTTAGTTATTA	ACTAGTTCCAAATTTGAAATTC	CACT								
repens_2994	TTACATAACTGAAATAGTGTAACAAATAGAATTATATATAGGAAATCTGTAAAATGGCAGATCTTAATTATTAATCTTAGTTATTA	ACTAGTTCCAAATTTGAAATTC	CACT								
repens_3031	TTACATAACTGAAATAGTGTAACAAATAGAATTATATATAGGAAATCTGTAAAATGGCAGATCTTAATTATTAATCTTAGTTATTA	ACTAGTTCCAAATTTGAAATTC	CACT								
repens_5042	TTACATAACTGAAATAGTGTAACAAATAGAATTATATATAGGAAATCTGTAAAATGGCAGATCTTAATTATTAATCTTAGTTATTA	ACTAGTTCCAAATTTGAAATTC	CACT								
repens_5058	TTACATAACTGAAATAGTGTAACAAATAGAATTATATATAGGAAATCTGTAAAATGGCAGATCTTAATTATTAATCTTAGTTATTA	ACTAGTTCCAAATTTGAAATTC	CACT								
repens_2450	TTACATAACTGAAATAGTGTAACAAATAGAATTATATATAGGAAATCTGTAAAATGGCAGATCTTAATTATTAATCTTAGTTATTA	ACTAGTTCCAAATTTGAAATTC	CACT								
repens_3329	TTACATAACTGAAATAGTGTAACAAATAGAATTATATATAGGAAATCTGTAAAATGGCAGATCTTAATTATTAATCTTAGTTATTA	ACTAGTTCCAAATTTGAAATTC	CACT								
repens_4323	TTACATAACTGAAATAGTGTAACAAATAGAATTATATATAGGAAATCTGTAAAATGGCAGATCTTAATTATTAATCTTAGTTATTA	ACTAGTTCCAAATTTGAAATTC	CACT								
williamsii_2353	TTACATAACTGAAATAGTGTAACAAATAGAATTATATATAGGAAATCTGTAAAATGGCAGATCTTAATTATTAATCTTAGTTATTA	ACTAGTTCCAAATTTGAAATTC	CACT								
williamsii_4121_clones1_3	TTACATAACTGAAATAGTGTAACAAATAGAATTATATATAGGAAATCTGTAAAATGGCAGATCTTAATTATTAATCTTAGTTATTA	ACTAGTTCCAAATTTGAAATTC	CACT								
williamsii_4121_clone_4	TTACATAACTGAAATAGTGTAACAAATAGAATTATATATAGGAAATCTGTAAAATGGCAGATCTTAATTATTAATCTTAGTTATTA	ACTAGTTCCAAATTTGAAATTC	CACT								
williamsii_4121_clone_5	TTACATAACTGAAATAGTGTAACAAATAGAATTATATATAGGAAATCTGTAAAATGGCAGATCTTAATTATTAATCTTAGTTATTA	ACTAGTTCCAAATTTGAAATTC	CACT								
williamsii_4121_clone_6	TTACATAACTGAAATAGTGTAACAAATAGAATTATATATAGGAAATCTGTAAAATGGCAGATCTTAATTATTAATCTTAGTTATTA	ACTAGTTCCAAATTTGAAATTC	CACT								
williamsii_4121_clone_7	TTACATAACTGAAATAGTGTAACAAATAGAATTATATATAGGAAATCTGTAAAATGGCAGATCTTAATTATTAATCTTAGTTATTA	ACTAGTTCCAAATTTGAAATTC	CACT								
williamsii_4121_clone_9	TTACATAACTGAAATAGTGTAACAAATAGAATTATATATAGGAAATCTGTAAAATGGCAGATCTTAATTATTAATCTTAGTTATTA	ACTAGTTCCAAATTTGAAATTC	CACT								
williamsii_5048	TTACATAACTGAAATAGTGTAACAAATAGAATTATATATAGGAAATCTGTAAAATGGCAGATCTTAATTATTAATCTTAGTTATTA	ACTAGTTCCAAATTTGAAATTC	CACT								
williamsii_2977	TTACATAACTGAAATAGTGTAACAAATAGAATTATATATAGGAAATCTGTAAAATGGCAGATCTTAATTATTAATCTTAGTTATTA	ACTAGTTCCAAATTTGAAATTC	CACT								
williamsii_5333	TTACATAACTGAAATAGTGTAACAAATAGAATTATATATAGGAAATCTGTAAAATGGCAGATCTTAATTATTAATCTTAGTTATTA	ACTAGTTCCAAATTTGAAATTC	CACT								
juncea_8862	TTACATAACTGAAATAATGTAACAAATAGAATTATATATAGGAAATCTGTAAAATGGCAAATCTTAATTATTAATCTTAGTTATTA	ACTAGTTCCAAATTTGAACTTCTACT									
media_2420	TTACATAACTGAAATAGTGTAACAAATAGAATTATATATAGGAAATCTGTAAAATGGCAGATCTTAATTATTAATCTTAGTTATTA	ACTAGTTCCAAATTTGAAATTTCTACT									
megapotamica_3066	TTACATAACTGAAATAGTGTAACAAATAGAATTATATATAGGAAATCTGTAAAATGGCAGATCTTAATTATTAATCTTAGTTATTA	ACTAGTTCCAAATTTGAAATTTCTACT									
nervata_2336	TTACATAACTGAAATAGTGTAACAAATAGAATTATATATAGGAAATCTGTAAAATGGCAGATCTTAATTATTAATCTTAGTTATTA	ACTAGTTCCAAATTTGAAATTTCTACT									

Anexo 8. Continuación

	120	130	140	150	160	170	180	190	200	210	220
alamosana_2301	TAGAAAAAAAAA	---GAATGAATATCAAACGTTATAGTATAATTTTTACTATTTTTCAAAGTAAGGAAGGGGGGGG	TCGGGGAGAGAAAACTTTTGGATGTATTGATTC								
alamosana_3393	TAGAAAAAAAAA	---GAATGAATATCAAACGTTATAGTATAATTTTTACTATTTTTCAAAGTAAGGAAGGGGGGGG	TCGGGGAGAGAAAACTTTTGGATGTATTGATTC								
alamosana_2418	TAGAAAAAAAAA	AGAATGAATATCAAACGTTATAGTATAATTTTTACTATTTTTCAAAGTAAGGAAGGGGGGGG	TCGGGGAGAGAAAACTTTTGGATGTATTGATTC								
americana_3382	TAGAAAAAAAAA	AGAATGAATATCAAACGTTATAGTATAATTTTTACTATTTTTCAAAGTAAGGAAGGGGGGGG	TCGGGGAGAGAAAACTTTTGGATGTATTGATTC								
americana_4365	TAGAAAAAAAAA	---GAATGAATATCAAACGTTATAGTATAATTTTTACTATTTTTCAAAGTAAGGAAGGGGGGGG	TCGGGGAGAGAAAACTTTTGGATGTATTGATTC								
americana_22775	TAGAAAAAAAAA	---GAATGAATATCAAACGTTATAGTATAATTTTTACTATTTTTCAAAGTAAGGAAGGGGGGGG	TCGGGGAGAGAAAACTTTTGGATGTATTGATTC								
repens_4366	TAGAAAAAAAAA	AGAATGAATATCAAACGTTATAGTATAATTTTTACTATTTTTCAAAGTAAGGAAGGGGGGGG	TCGGGGAGAGAAAACTTTTGGATGTATTGATTC								
radicosa_2341	TAGAAAAAAAAA	---GAATGAATATCAAACGTTATAGTATAATTTTTACTATTTTTCAAAGTAAGGAAGGGGGGGG	TCGGGGAGAGAAAACTTTTGGATGTATTGATTC								
radicosa_2462	TAGAAAAAAAAA	---GAATGAATATCAAACGTTATAGTATAATTTTTACTATTTTTCAAAGTAAGGAAGGGGGGGG	TCGGGGAGAGAAAACTTTTGGATGTATTGATTC								
radicosa_3763	TAGAAAAAAAAA	---GAATGAATATCAAACGTTATAGTATAATTTTTACTATTTTTCAAAGTAAGGAAGGGGGGGG	TCGGGGAGAGAAAACTTTTGGATGTATTGATTC								
radicosa_3244	TAGAAAAAAAAA	---GAATGAATATCAAACGTTATAGTATAATTTTTACTATTTTTCAAAGTAAGGAAGGGGGGGG	TCGGGGAGAGAAAACTTTTGGATGTATTGATTC								
repens_2994	TAGAAAAAAAAA	AGAATGAATATCAAACGTTATAGTATAATTTTTACTATTTTTCAAAGTAAGGAAGGGGGGGG	TCGGTGAGAGAAAACTTTTGGATGTATTGATTC								
repens_3031	TAGAAAAAAAAA	---GAATGAATATCAAACGTTATAGTATAATTTTTACTATTTTTCAAAGTAAGGAAGGGGGGGG	TCGGTGAGAGAAAACTTTTGGATGTATTGATTC								
repens_5042	TAGAAAAAAAAA	---GAATGAATATCAAACGTTATAGTATAATTTTTACTATTTTTCAAAGTAAGGAAGGGGGGGG	TCGGTGAGAGAAAACTTTTGGATGTATTGATTC								
repens_5058	TAGAAAAAAAAA	---GAATGAATATCAAACGTTATAGTATAATTTTTACTATTTTTCAAAGTAAGGAAGGGGGGGG	TCGGTGAGAGAAAACTTTTGGATGTATTGATTC								
repens_2450	TAGAAAAAAAAA	---GAATGAATATCAAACGTTATAGTATAATTTTTACTATTTTTCAAAGTAAGGAAGGGGGGGG	TCGGTGAGAGAAAACTTTTGGATGTATTGATTC								
repens_3329	TAGAAAAAAAAA	---GAATGAATATCAAACGTTATAGTATAATTTTTACTATTTTTCAAAGTAAGGAAGGGGGGGG	TCGGTGAGAGAAAACTTTTGGATGTATTGATTC								
repens_4323	TAGAAAAAAAAA	AGAATGAATATCAAACGTTATAGTATAATTTTTACTATTTTTCAAAGTAAGGAAGGGGGGGG	TCGGTGAGAGAAAACTTTTGGATGTATTGATTC								
williamsii_2353	TAGAAAAAAAAA	---GAATGAATATCAAACGTTATAGTATAATTTTTACTATTTTTCAAAGTAAGGAAGGGGGGGG	TCGGGGAGAGAAAACTTTTGGATGTATTGATTC								
williamsii_4121_clones1_3	TAGAAAAAAAAA	---GAATGAATATCAAACGTTATAGTATAATTTTTACTATTTTTCAAAGTAAGGAAGGGGGGGG	TCGGGGAGAGAAAACTTTTGGATGTATTGATTC								
williamsii_4121_clone_4	TAGAAAAAAAAA	---GAATGAATATCAAACGTTATAGTATAATTTTTACTATTTTTCAAAGTAAGGAAGGGGGGGG	TCGGGGAGAGAAAACTTTTGGATGTATTGATTC								
williamsii_4121_clone_5	TAGAAAAAAAAA	---GAATGAATATCAAACGTTATAGTATAATTTTTACTATTTTTCAAAGTAAGGAAGGGGGGGG	TCGGGGAGAGAAAACTTTTGGATGTATTGATTC								
williamsii_4121_clone_6	TAGAAAAAAAAA	---GAATGAATATCAAACGTTATAGTATAATTTTTACTATTTTTCAAAGTAAGGAAGGGGGGGG	TCGGGGAGAGAAAACTTTTGGATGTATTGATTC								
williamsii_4121_clone_7	TAGAAAAAAAAA	---GAATGAATATCAAACGTTATAGTATAATTTTTACTATTTTTCAAAGTAAGGAAGGGGGGGG	TCGGGGAGAGAAAACTTTTGGATGTATTGATTC								
williamsii_4121_clone_9	TAGAAAAAAAAA	---GAATGAATATCAAACGTTATAGTATAATTTTTACTATTTTTCAAAGTAAGGAAGGGGGGGG	TCGGGGAGAGAAAACTTTTGGATGTATTGATTC								
williamsii_5048	TAGAAAAAAAAA	---GAATGAATATCAAACGTTATAGTATAATTTTTACTATTTTTCAAAGTAAGGAAGGGGGGGG	TCGGGGAGAGAAAACTTTTGGATGTATTGATTC								
williamsii_2977	TAGAAAAAAAAA	---GAATGAATATCAAACGTTATAGTATAATTTTTACTATTTTTCAAAGTAAGGAAGGGGGGGG	TCGGGGAGAGAAAACTTTTGGATGTATTGATTC								
williamsii_5333	TAGAAAAAAAAA	---GAATGAATATCAAACGTTATAGTATAATTTTTACTATTTTTCAAAGTAAGGAAGGGGGGGG	TCGGGGAGAGAAAACTTTTGGATGTATTGATTC								
juncea_8862	TAGAAAAAAAAA	---GAATGAATATCAAACGTTATAGTATAATTTTGAATATCTAAAAAAGTAAGGAAGGGGGGGG	TCGGGGAGAGAAAACTTTTGGATGTATTGATTC								
media_2420	TAGAAAAAAAAA	---GAATGAATATCAAACGTTATAGTATAATTTTGAATATCTAAAAAAGTAAGGAAGGGGGGGG	TCGGGGAGAGAAAACTTTTGGATGTATTGATTC								
megapotamica_3066	TAGAAAAAAAAA	---GAATGAATATCAAACGTTATAGTATAATTTTGAATATCTAAAAAAGTAAGGAAGGGGGGGG	TCGGGGAGAGAAAACTTTTGGATGTATTGATTC								
nervata_2336	TAGAAAAAAAAA	---GAATGAATATCAAACGTTATAGTATAATTTTGAATATCTAAAAAAGTAAGGAAGGGGGGGG	TCGGGGAGAGAAAACTTTTGGATGTATTGATTC								

Anexo 8. Continuación

	340	350	360	370	380	390	400	410	420	430	440
alamosana_2301	GATTCAAAAAAAAA	-CTAAGAGATG	TAGGAAATTACACA	AGGAATCCTG-T	-----	AAAAAAAAAGGACA	ATGGGGATATGGCG	AAATCGGTAGACGCT	ACGGACTTGA		
alamosana_3393	GATTCAAAAAAAAA	-CTAAGAGATG	TAGGAAATTACACA	AGGAATCCTG-T	-----	AAAAAAAAAGGACA	ATGGGGATATGGCG	AAATCGGTAGACGCT	ACGGACTTGA		
alamosana_2418	GATTCAAAAAAAAA	-CTAAGAGATG	TAGGAAATTACACA	AGGAATCCTG-T	-----	AAAAAAAAAGGACA	ATGGGGATATGGCG	AAATCGGTAGACGCT	ACGGACTTGA		
americana_3382	GATTCAAAAAAAAA	-CTAAGAGATG	TAGGAAATTACACA	AGGAATCCTG-T	-----	AAAAAAAAAGGACA	ATGGGGATATGGCG	AAATCGGTAGACGCT	ACGGACTTGA		
americana_4365	GATTCAAAAAAAAA	-CTAAGAGATG	TAGGAAATTACACA	AGGAATCCTG-T	-----	AAAAAAAAAGGACA	ATGGGGATATGGCG	AAATCGGTAGACGCT	ACGGACTTGA		
americana_22775	GATTCAAAAAAAAA	-CTAAGAGATG	TAGGAAATTACACA	AGGAATCCTG-T	-----	AAAAAAAAAGGACA	ATGGGGATATGGCG	AAATCGGTAGACGCT	ACGGACTTGA		
repens_4366	GATTCAAAAAAAAA	-CTAAGAGATG	TAGGAAATTACACA	AGGAATCCTG-T	-----	AAAAAAAAAGGACA	ATGGGGATATGGCG	AAATCGGTAGACGCT	ACGGACTTGA		
radicosa_2341	GATTCAAAAAAAAA	-CTAAGAGATG	TAGGAAATTACACA	AGGAATCCTG-T	-----	AAAAAAAAAGGACA	ATGGGGATATGGCG	AAATCGGTAGACGCT	ACGGACTTGA		
radicosa_2462	GATTCAAAAAAAAA	-CTAAGAGATG	TAGGAAATTACACA	AGGAATCCTG-T	-----	AAAAAAAAAGGACA	ATGGGGATATGGCG	AAATCGGTAGACGCT	ACGGACTTGA		
radicosa_3763	GATTCAAAAAAAAA	-CTAAGAGATG	TAGGAAATTACACA	AGGAATCCTG-T	-----	AAAAAAAAAGGACA	ATGGGGATATGGCG	AAATCGGTAGACGCT	ACGGACTTGA		
radicosa_3244	GATTCAAAAAAAAA	-CTAAGAGATG	TAGGAAATTACACA	AGGAATCCTG-T	-----	AAAAAAAAAGGACA	ATGGGGATATGGCG	AAATCGGTAGACGCT	ACGGACTTGA		
repens_2994	GATTCAAAAAAAAA	-CTAAGAGATG	TAGGAAATTACACA	AGGAATCCTG-T	-----	AAAAAAAAAGGACA	ATGGGGATATGGCG	AAATCGGTAGACGCT	ACGGACTTGA		
repens_3031	GATTCAAAAAAAAA	-CTAAGAGATG	TAGGAAATTACACA	AGGAATCCTG-T	-----	AAAAAAAAAGGACA	ATGGGGATATGGCG	AAATCGGTAGACGCT	ACGGACTTGA		
repens_5042	GATTCAAAAAAAAA	-CTAAGAGATG	TAGGAAATTACACA	AGGAATCCTG-T	-----	AAAAAAAAAGGACA	ATGGGGATATGGCG	AAATCGGTAGACGCT	ACGGACTTGA		
repens_5058	GATTCAAAAAAAAA	-CTAAGAGATG	TAGGAAATTACACA	AGGAATCCTG-T	-----	AAAAAAAAAGGACA	ATGGGGATATGGCG	AAATCGGTAGACGCT	ACGGACTTGA		
repens_2450	GATTCAAAAAAAAA	-CTAAGAGATG	TAGGAAATTACACA	AGGAATCCTG-T	-----	AAAAAAAAAGGACA	ATGGGGATATGGCG	AAATCGGTAGACGCT	ACGGACTTGA		
repens_3329	GATTCAAAAAAAAA	-CTAAGAGATG	TAGGAAATTACACA	AGGAATCCTG-T	-----	AAAAAAAAAGGACA	ATGGGGATATGGCG	AAATCGGTAGACGCT	ACGGACTTGA		
repens_4323	GATTCAAAAAAAAA	-CTAAGAGATG	TAGGAAATTACACA	AGGAATCCTG-T	-----	AAAAAAAAAGGACA	ATGGGGATATGGCG	AAATCGGTAGACGCT	ACGGACTTGA		
williamsii_2353	GATTCAAAAAAAAA	-CTAAGAGATG	TAGGAAATTACACA	AGGAATCCTG-T	-----	AAAAAAAAAGGACA	ATGGGGATATGGCG	AAATCGGTAGACGCT	ACGGACTTGA		
williamsii_4121_clones1_3	GATTCAAAAAAAAA	-CTAAGAGATG	TAGGAAATTACACA	AGGAATCCTG-T	-----	AAAAAAAAAGGACA	ATGGGGATATGGCG	AAATCGGTAGACGCT	ACGGACTTGA		
williamsii_4121_clone_4	GATTCAAAAAAAAA	-CTAAGAGATG	TAGGAAATTACACA	AGGAATCCTG-T	-----	AAAAAAAAAGGACA	ATGGGGATATGGCG	AAATCGGTAGACGCT	ACGGACTTGA		
williamsii_4121_clone_5	GATTCAAAAAAAAA	-CTAAGAGATG	TAGGAAATTACACA	AGGAATCCTG-T	-----	AAAAAAAAAGGACA	ATGGGGATATGGCG	AAATCGGTAGACGCT	ACGGACTTGA		
williamsii_4121_clone_6	GATTCAAAAAAAAA	-CTAAGAGATG	TAGGAAATTACACA	AGGAATCCTG-T	-----	AAAAAAAAAGGACA	ATGGGGATATGGCG	AAATCGGTAGACGCT	ACGGACTTGA		
williamsii_4121_clone_7	GATTCAAAAAAAAA	-CTAAGAGATG	TAGGAAATTACACA	AGGAATCCTG-T	-----	AAAAAAAAAGGACA	ATGGGGATATGGCG	AAATCGGTAGACGCT	ACGGACTTGA		
williamsii_4121_clone_9	GATTCAAAAAAAAA	-CTAAGAGATG	TAGGAAATTACACA	AGGAATCCTG-T	-----	AAAAAAAAAGGACA	ATGGGGATATGGCG	AAATCGGTAGACGCT	ACGGACTTGA		
williamsii_5048	GATTCAAAAAAAAA	-CTAAGAGATG	TAGGAAATTACACA	AGGAATCCTG-T	-----	AAAAAAAAAGGACA	ATGGGGATATGGCG	AAATCGGTAGACGCT	ACGGACTTGA		
williamsii_2977	GATTCAAAAAAAAA	-CTAAGAGATG	TAGGAAATTACACA	AGGAATCCTG-T	-----	AAAAAAAAAGGACA	ATGGGGATATGGCG	AAATCGGTAGACGCT	ACGGACTTGA		
williamsii_5333	GATTCAAAAAAAAA	-CTAAGAGATG	TAGGAAATTACACA	AGGAATCCTG-T	-----	AAAAAAAAAGGACA	ATGGGGATATGGCG	AAATCGGTAGACGCT	ACGGACTTGA		
juncea_8862	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
media_2420	GATTCAAAAAAAAA	ACTAAGAGATG	TAGGAAATTACACA	AGGAATCCAGTTT	CAAAAGAAAA	AAAAAAAAAGGACA	ATGGGGATATGGCG	AAATCGGTAGACGCT	ACGGACTTGA		
megapotamica_3066	G-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
nervata_2336	G-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----

Anexo 8. Continuación

	450	460	470	480	490	500	510	520	530	540	550	560
alamosana_2301	TTGTATTGAGCCTTGGTATGGAAACCTGCTAAGTGGTAACTTCCAAATTCAGAGAAACCCCTGGAATGAAAAATGGGCAATCCTGAGCCAAATCCCTTTTTTTGCAAAAACAA											
alamosana_3393	TTGTATTGAGCCTTGGTATGGAAACCTGCTAAGTGGTAACTTCCAAATTCAGAGAAACCCCTGGAATGAAAAATGGGCAATCCTGAGCCAAATCCCTTTTTTTGCAAAAACAA											
alamosana_2418	TTGTATTGAGCCTTGGTATGGAAACCTGCTAAGTGGTAACTTCCAAATTCAGAGAAACCCCTGGAATGAAAAATGGGCAATCCTGAGCCAAATCCCTTTTTTTGCAAAAACAA											
americana_3382	TTGTATTGAGCCTTGGTATGGAAACCTGCTAAGTGGTAACTTCCAAATTCAGAGAAACCCCTGGAATGAAAAATGGGCAATCCTGAGCCAAATCCCTTTTTTTGCAAAAACAA											
americana_4365	TTGTATTGAGCCTTGGTATGGAAACCTGCTAAGTGGTAACTTCCAAATTCAGAGAAACCCCTGGAATGAAAAATGGGCAATCCTGAGCCAAATCCCTTTTTTTGCAAAAACAA											
americana_22775	TTGTATTGAGCCTTGGTATGGAAACCTGCTAAGTGGTAACTTCCAAATTCAGAGAAACCCCTGGAATGAAAAATGGGCAATCCTGAGCCAAATCCCTTTTTTTGCAAAAACAA											
repens_4366	TTGTATTGAGCCTTGGTATGGAAACCTGCTAAGTGGTAACTTCCAAATTCAGAGAAACCCCTGGAATGAAAAATGGGCAATCCTGAGCCAAATCCCTTTTTTTGCAAAAACAA											
radicosa_2341	TTGTATTGAGCCTTGGTATGGAAACCTGCTAAGTGGTAACTTCCAAATTCAGAGAAACCCCTGGAATGAAAAATGGGCAATCCTGAGCCAAATCCCTTTTTTTGCAAAAACAA											
radicosa_2462	TTGTATTGAGCCTTGGTATGGAAACCTGCTAAGTGGTAACTTCCAAATTCAGAGAAACCCCTGGAATGAAAAATGGGCAATCCTGAGCCAAATCCCTTTTTTTGCAAAAACAA											
radicosa_3763	TTGTATTGAGCCTTGGTATGGAAACCTGCTAAGTGGTAACTTCCAAATTCAGAGAAACCCCTGGAATGAAAAATGGGCAATCCTGAGCCAAATCCCTTTTTTTGCAAAAACAA											
radicosa_3244	TTGTATTGAGCCTTGGTATGGAAACCTGCTAAGTGGTAACTTCCAAATTCAGAGAAACCCCTGGAATGAAAAATGGGCAATCCTGAGCCAAATCCCTTTTTTTGCAAAAACAA											
repens_2994	TTGTATTGAGCCTTGGTATGGAAACCTGCTAAGTGGTAACTTCCAAATTCAGAGAAACCCCTGGAATGAAAAATGGGCAATCCTGAGCCAAATCCCTTTTTTTGCAAAAACAA											
repens_3031	TTGTATTGAGCCTTGGTATGGAAACCTGCTAAGTGGTAACTTCCAAATTCAGAGAAACCCCTGGAATGAAAAATGGGCAATCCTGAGCCAAATCCCTTTTTTTGCAAAAACAA											
repens_5042	TTGTATTGAGCCTTGGTATGGAAACCTGCTAAGTGGTAACTTCCAAATTCAGAGAAACCCCTGGAATGAAAAATGGGCAATCCTGAGCCAAATCCCTTTTTTTGCAAAAACAA											
repens_5058	TTGTATTGAGCCTTGGTATGGAAACCTGCTAAGTGGTAACTTCCAAATTCAGAGAAACCCCTGGAATGAAAAATGGGCAATCCTGAGCCAAATCCCTTTTTTTGCAAAAACAA											
repens_2450	TTGTATTGAGCCTTGGTATGGAAACCTGCTAAGTGGTAACTTCCAAATTCAGAGAAACCCCTGGAATGAAAAATGGGCAATCCTGAGCCAAATCCCTTTTTTTGCAAAAACAA											
repens_3329	TTGTATTGAGCCTTGGTATGGAAACCTGCTAAGTGGTAACTTCCAAATTCAGAGAAACCCCTGGAATGAAAAATGGGCAATCCTGAGCCAAATCCCTTTTTTTGCAAAAACAA											
repens_4323	TTGTATTGAGCCTTGGTATGGAAACCTGCTAAGTGGTAACTTCCAAATTCAGAGAAACCCCTGGAATGAAAAATGGGCAATCCTGAGCCAAATCCCTTTTTTTGCAAAAACAA											
williamsii_2353	TTGTATTGAGCCTTGGTATGGAAACCTGCTAAGTGGTAACTTCCAAATTCAGAGAAACCCCTGGAATGAAAAATGGGCAATCCTGAGCCAAATCCCTTTTTTTGCAAAAACAA											
williamsii_4121_clones1_3	TTGTATTGAGCCTTGGTATGGAAACCTGCTAAGTGGTAACTTCCAAATTCAGAGAAACCCCTGGAATGAAAAATGGGCAATCCTGAGCCAAATCCCTTTTTTTGCAAAAACAA											
williamsii_4121_clone_4	TTGTATTGAGCCTTGGTATGGAAACCTGCTAAGTGGTAACTTCCAAATTCAGAGAAACCCCTGGAATGAAAAATGGGCAATCCTGAGCCAAATCCCTTTTTTTGCAAAAACAA											
williamsii_4121_clone_5	TTGTATTGAGCCTTGGTATGGAAACCTGCTAAGTGGTAACTTCCAAATTCAGAGAAACCCCTGGAATGAAAAATGGGCAATCCTGAGCCAAATCCCTTTTTTTGCAAAAACAA											
williamsii_4121_clone_6	TTGTATTGAGCCTTGGTATGGAAACCTGCTAAGTGGTAACTTCCAAATTCAGAGAAACCCCTGGAATGAAAAATGGGCAATCCTGAGCCAAATCCCTTTTTTTGCAAAAACAA											
williamsii_4121_clone_7	TTGTATTGAGCCTTGGTATGGAAACCTGCTAAGTGGTAACTTCCAAATTCAGAGAAACCCCTGGAATGAAAAATGGGCAATCCTGAGCCAAATCCCTTTTTTTGCAAAAACAA											
williamsii_4121_clone_9	TTGTATTGAGCCTTGGTATGGAAACCTGCTAAGTGGTAACTTCCAAATTCAGAGAAACCCCTGGAATGAAAAATGGGCAATCCTGAGCCAAATCCCTTTTTTTGCAAAAACAA											
williamsii_5048	TTGTATTGAGCCTTGGTATGGAAACCTGCTAAGTGGTAACTTCCAAATTCAGAGAAACCCCTGGAATGAAAAATGGGCAATCCTGAGCCAAATCCCTTTTTTTGCAAAAACAA											
williamsii_2977	TTGTATTGAGCCTTGGTATGGAAACCTGCTAAGTGGTAACTTCCAAATTCAGAGAAACCCCTGGAATGAAAAATGGGCAATCCTGAGCCAAATCCCTTTTTTTGCAAAAACAA											
williamsii_5333	TTGTATTGAGCCTTGGTATGGAAACCTGCTAAGTGGTAACTTCCAAATTCAGAGAAACCCCTGGAATGAAAAATGGGCAATCCTGAGCCAAATCCCTTTTTTTGCAAAAACAA											
juncea_8862	TTGTATTGAGCCTTGGTATGGAAACCTGCTAAGTGGTAACTTCCAAATTCAGAGAAACCCCTGGAATGAAAAATGGGCAATCCTGAGCCAAATCCCTTTTTTTGCAAAAACAA											
media_2420	TTGTATTGAGCCTTGGTATGGAAACCTGCTAAGTGGTAACTTCCAAATTCAGAGAAACCCCTGGAATGAAAAATGGGCAATCCTGAGCCAAATCCCTTTTTTTGCAAAAACAA											
megapotamica_3066	TTGTATTGAGCCTTGGTATGGAAACCTGCTAAGTGGTAACTTCCAAATTCAGAGAAACCCCTGGAATGAAAAATGGGCAATCCTGAGCCAAATCCCTTTTTTTGCAAAAACAA											
nervata_2336	TTGTATTGAGCCTTGGTATGGAAACCTGCTAAGTGGTAACTTCCAAATTCAGAGAAACCCCTGGAATGAAAAATGGGCAATCCTGAGCCAAATCCCTTTTTTTGCAAAAACAA											

Anexo 8. Continuación

	570	580	590	600	610	620	630	640	650	660	670							
alamosana_2301	GAGGTTCT----	CAAG---	CTAGAACC	CAAAGG	AAAAGG	ATAGGT	GCAGAG	ACTCAAT	GGAAGCT	GTT-CTA	ACGAAT	CGAGGT	GTAA	TACGTT	GTGTT	GGTAGT	GAAACT	
alamosana_3393	GAGGTTCT----	CAAG---	CTAGAACC	CAAAGG	AAAAGG	ATAGGT	GCAGAG	ACTCAAT	GGAAGCT	GTT-CTA	ACGAAT	CGAGGT	GTAA	TACGTT	GTGTT	GGTAGT	GAAACT	
alamosana_2418	GAGGTTCT----	CAAG---	CTAGAACC	CAAAGG	AAAAGG	ATAGGT	GCAGAG	ACTCAAT	GGAAG-	TGTTT	CTAAC	GA-TC	GAGGT	GTAA	TACGTT	GTGTT	GGTAGT	GAAACT
americana_3382	GAGGTTCT----	CAAG---	CTAGAACC	CAAAGG	AAAAGG	ATAGGT	GCAGAG	ACTCAAT	GGAAGCT	GTT-CTA	ACGAAT	CGAGGT	GTAA	TACGTT	GTGTT	GGTAGT	GAAACT	
americana_4365	GAGGTTCT----	CAAG---	CTAGAACC	CAAAGG	AAAAGG	ATAGGT	GCAGAG	ACTCAAT	GGAAGCT	GTT-CTA	ACGAAT	CGAGGT	GTAA	TACGTT	GTGTT	GGTAGT	GAAACT	
americana_22775	GAGGTTCT----	CAAG---	CTAGAACC	CAAAGG	AAAAGG	ATAGGT	GCAGAG	ACTCAAT	GGAAGCT	GTT-CTA	ACGAAT	CGAGGT	GTAA	TACGTT	GTGTT	GGTAGT	GAAACT	
repens_4366	GAGGTTCT----	CAAG---	CTAGAACC	CAAAGG	AAAAGG	ATAGGT	GCAGAG	ACTCAAT	GGAAGCT	GTT-CTA	ACGAAT	CGAGGT	GTAA	TACGTT	GTGTT	GGTAGT	GAAACT	
radicosa_2341	GAGGTTCT----	CAAG---	CTAGAACC	CAAAGG	AAAAGG	ATAGGT	GCAGAG	ACTCAAT	GGAAGCT	GTT-CTA	ACGAAT	CGAGGT	GTAA	TACGTT	GTGTT	GGTAGT	GAAACT	
radicosa_2462	GAGGTTCT----	CAAG---	CTAGAACC	CAAAGG	AAAAGG	ATAGGT	GCAGAG	ACTCAAT	GGAAGCT	GTT-CTA	ACGAAT	CGAGGT	GTAA	TACGTT	GTGTT	GGTAGT	GAAACT	
radicosa_3763	GAGGTTCT----	CAAG---	CTAGAACC	CAAAGG	AAAAGG	ATAGGT	GCAGAG	ACTCAAT	GGAAGCT	GTT-CTA	ACGAAT	CGAGGT	GTAA	TACGTT	GTGTT	GGTAGT	GAAACT	
radicosa_3244	GAGGTTCT----	CAAG---	CTAGAACC	CAAAGG	AAAAGG	ATAGGT	GCAGAG	ACTCAAT	GGAAGCT	GTT-CTA	ACGAAT	CGAGGT	GTAA	TACGTT	GTGTT	GGTAGT	GAAACT	
repens_2994	GAGGTTCT----	CAAG---	CTAGAACC	CAAAGG	AAAAGG	ATAGGT	GCAGAG	ACTCAAT	GGAAGCT	GTT-CTA	ACGAAT	CGAGGT	GTAA	TACGTT	GTGTT	GGTAGT	GAAACT	
repens_3031	GAGGTTCT----	CAAG---	CTAGAACC	CAAAGG	AAAAGG	ATAGGT	GCAGAG	ACTCAAT	GGAAGCT	GTT-CTA	ACGAAT	CGAGGT	GTAA	TACGTT	GTGTT	GGTAGT	GAAACT	
repens_5042	GAGGTTCT----	CAAG---	CTAGAACC	CAAAGG	AAAAGG	ATAGGT	GCAGAG	ACTCAAT	GGAAGCT	GTT-CTA	ACGAAT	CGAGGT	GTAA	TACGTT	GTGTT	GGTAGT	GAAACT	
repens_5058	GAGGTTCT----	CAAG---	CTAGAACC	CAAAGG	AAAAGG	ATAGGT	GCAGAG	ACTCAAT	GGAAGCT	GTT-CTA	ACGAAT	CGAGGT	GTAA	TACGTT	GTGTT	GGTAGT	GAAACT	
repens_2450	GAGGTTCT----	CAAG---	CTAGAACC	CAAAGG	AAAAGG	ATAGGT	GCAGAG	ACTCAAT	GGAAGCT	GTT-CTA	ACGAAT	CGAGGT	GTAA	TACGTT	GTGTT	GGTAGT	GAAACT	
repens_3329	GAGGTTCT----	CAAG---	CTAGAACC	CAAAGG	AAAAGG	ATAGGT	GCAGAG	ACTCAAT	GGAAGCT	GTT-CTA	ACGAAT	CGAGGT	GTAA	TACGTT	GTGTT	GGTAGT	GAAACT	
repens_4323	GAGGTTCT----	CAAG---	CTAGAACC	CAAAGG	AAAAGG	ATAGGT	GCAGAG	ACTCAAT	GGAAGCT	GTT-CTA	ACGAAT	CGAGGT	GTAA	TACGTT	GTGTT	GGTAGT	GAAACT	
williamsii_2353	GAGGTTCT----	CAAG---	CTAGAACC	CAAAGG	AAAAGG	ATAGGT	GCAGAG	ACTCAAT	GGAAGCT	GTT-CTA	ACGAAT	CGAGGT	GTAA	TACGTT	GTGTT	GGTAGT	GAAACT	
williamsii_4121_clones1_3	GAGGTTCT----	CAAG---	CTAGAACC	CAAAGG	AAAAGG	ATAGGT	GCAGAG	ACTCAAT	GGAAGCT	GTT-CTA	ACGAAT	CGAGGT	GTAA	TACGTT	GTGTT	GGTAGT	GAAACT	
williamsii_4121_clone_4	GAGGTTCT----	CAAG---	CTAGAACC	CAAAGG	AAAAGG	ATAGGT	GCAGAG	ACTCAAT	GGAAGCT	GTT-CTA	ACGAAT	CGAGGT	GTAA	TACGTT	GTGTT	GGTAGT	GAAACT	
williamsii_4121_clone_5	GAGGTTCT----	CAAG---	CTAGAACC	CAAAGG	AAAAGG	ATAGGT	GCAGAG	ACTCAAT	GGAAGCT	GTT-CTA	ACGAAT	CGAGGT	GTAA	TACGTT	GTGTT	GGTAGT	GAAACT	
williamsii_4121_clone_6	GAGGTTCT----	CAAG---	CTAGAACC	CAAAGG	AAAAGG	ATAGGT	GCAGAG	ACTCAAT	GGAAGCT	GTT-CTA	ACGAAT	CGAGGT	GTAA	TACGTT	GTGTT	GGTAGT	GAAACT	
williamsii_4121_clone_7	GAGGTTCT----	CAAG---	CTAGAACC	CAAAGG	AAAAGG	ATAGGT	GCAGAG	ACTCAAT	GGAAGCT	GTT-CTA	ACGAAT	CGAGGT	GTAA	TACGTT	GTGTT	GGTAGT	GAAACT	
williamsii_4121_clone_9	GAGGTTCT----	CAAG---	CTAGAACC	CAAAGG	AAAAGG	ATAGGT	GCAGAG	ACTCAAT	GGAAGCT	GTT-CTA	ACGAAT	CGAGGT	GTAA	TACGTT	GTGTT	GGTAGT	GAAACT	
williamsii_5048	GAGGTTCT----	CAAG---	CTAGAACC	CAAAGG	AAAAGG	ATAGGT	GCAGAG	ACTCAAT	GGAAGCT	GTT-CTA	ACGAAT	CGAGGT	GTAA	TACGTT	GTGTT	GGTAGT	GAAACT	
williamsii_2977	GAGGTTCT----	CAAG---	CTAGAACC	CAAAGG	AAAAGG	ATAGGT	GCAGAG	ACTCAAT	GGAAGCT	GTTTCTA	ACGAAT	CGAGGT	GTAA	TACGTT	GTGTT	GGTAGT	GAAACT	
williamsii_5333	GAGGTTCT----	CAAG---	CTAGAACC	CAAAGG	AAAAGG	ATAGGT	GCAGAG	ACTCAAT	GGAAGCT	GTT-CTA	ACGAAT	CGAGGT	GTAA	TACGTT	GTGTT	GGTAGT	GAAACT	
juncea_8862	GCGGTTCT----	CAAA---	CTAGAACC	CAAAGG	AAAAGG	ATAGGT	GCAGAG	ACTCAAT	GGAAGCT	GTT-CTA	ACGAAT	CGAGGT	GTAA	TACGTT	GTGTT	GGTAGT	GAAACT	
media_2420	ATGTTTCTCAA	ACTAGA	ACC	CAAAGG	AAAAGG	ATAGGT	GCAGAG	ACTCAAT	GGAAGCT	GTT-CTA	ACGAAT	CGAGGT	GTAA	TACGTT	GTGTT	GGTAGT	GAAACT	
megapotamica_3066	GCGGTTCTCAA	AAAA---	CTAGAACC	CAAAGG	AAAAGG	ATAGGT	GCAGAG	ACTCAAT	GGAAGCT	GTT-CTA	ACGAAT	CGAGGT	GTAA	TACGTT	GTGTT	GGTAGT	GAAACT	
nervata_2336	GCGGTTCTCAA	AAAA---	CTAGAACC	CAAAGG	AAAAGG	ATAGGT	GCAGAG	ACTCAAT	GGAAGCT	GTT-CTA	ACGAAT	CGAGGT	GTAA	TACGTT	GTGTT	GGTAGT	GAAACT	

Anexo 8. Continuación

	680	690	700	710	720	730	740	750	760	770	780
alamosana_2301	CCC-----	TCTAAATTACTAAATTAGAGAAAGAAGGGCTTTATATATCTAATA-CACACGTATAGATACTGACATAGCAAACGATTAATCACAGAACCTATACCATAATATA									
alamosana_3393	CCC-----	TCTAAATTACTAAATTAGAGAAAGAAGGGCTTTATATATCTAATA-CACACGTATAGATACTGACATAGCAAACGATTAATCACAGAACCTATACCATAATATA									
alamosana_2418	CCC-----	TCTAAATTACTAAATTAGAGAAAGAAGGGCTTTATATATCTAATA-CACACGTATAGATACTGACATAGCAAACGATTAATCACAGAACCTATACCATAATATA									
americana_3382	CCC-----	TCTAAATTACTAAATTAGAGAAAGAAGGGCTTTATATATCTAATA-CACACGTATAGATACTGACATAGCAAACGATTAATCACAGAACCTATACCATAATATA									
americana_4365	CCC-----	TCTAAATTACTAAATTAGAGAAAGAAGGGCTTTATATATCTAATA-CACACGTATAGATACTGACATAGCAAACGATTAATCACAGAACCTATACCATAATATA									
americana_22775	CCC-----	TCTAAATTACTAAATTAGAGAAAGAAGGGCTTTATATATCTAATA-CACACGTATAGATACTGACATAGCAAACGATTAATCACAGAACCTATACCATAATATA									
repens_4366	CCC-----	TCTAAATTACTAAATTAGAGAAAGAAGGGCTTTATATATCTAATA-CACACGTATAGATACTGACATAGCAAACGATTAATCACAGAACCTATACCATAATATA									
radicosa_2341	CCC-----	TCTAAATTACTAAATTAGAGAAAGAAGGGCTTTATATATCTAATA-CACACGTATAGATACTGACATAGCAAACGATTAATCACAGAACCTATACCATAATATA									
radicosa_2462	CCC-----	TCTAAATTACTAAATTAGAGAAAGAAGGGCTTTATATATCTAATA-CACACGTATAGATACTGACATAGCAAACGATTAATCACAGAACCTATACCATAATATA									
radicosa_3763	CCC-----	TCTAAATTACTAAATTAGAGAAAGAAGGGCTTTATATATCTAATA-CACACGTATAGATACTGACATAGCAAACGATTAATCACAGAACCTATACCATAATATA									
radicosa_3244	CCC-----	TCTAAATTACTAAATTAGAGAAAGAAGGGCTTTATATATCTAATA-CACACGTATAGATACTGACATAGCAAACGATTAATCACAGAACCTATACCATAATATA									
repens_2994	CCC-----	TCTAAATTACTAAATTAGAGAAAGAAGGGCTTTATATATCTAATA-CACACGTATAGATACTGACATAGCAAACGATTAATCACAGAACCTATACCATAATATA									
repens_3031	CCC-----	TCTAAATTACTAAATTAGAGAAAGAAGGGCTTTATATATCTAATA-CACACGTATAGATACTGACATAGCAAACGATTAATCACAGAACCTATACCATAATATA									
repens_5042	CCC-----	TCTAAATTACTAAATTAGAGAAAGAAGGGCTTTATATATCTAATA-CACACGTATAGATACTGACATAGCAAACGATTAATCACAGAACCTATACCATAATATA									
repens_5058	CCC-----	TCTAAATTACTAAATTAGAGAAAGAAGGGCTTTATATATCTAATA-CACACGTATAGATACTGACATAGCAAACGATTAATCACAGAACCTATACCATAATATA									
repens_2450	CCC-----	TCTAAATTACTAAATTAGAGAAAGAAGGGCTTTATATATCTAATA-CACACGTATAGATACTGACATAGCAAACGATTAATCACAGAACCTATACCATAATATA									
repens_3329	CCC-----	TCTAAATTACTAAATTAGAGAAAGAAGGGCTTTATATATCTAATA-CACACGTATAGATACTGACATAGCAAACGATTAATCACAGAACCTATACCATAATATA									
repens_4323	CCC-----	TCTAAATTACTAAATTAGAGAAAGAAGGGCTTTATATATCTAATA-CACACGTATAGATACTGACATAGCAAACGATTAATCACAGAACCTATACCATAATATA									
williamsii_2353	CCC-----	TCTAAATTACTAAATTAGAGAAAGAAGGGCTTTATATATCTAATA-CACACGTATAGATACTGACATAGCAAACGATTAATCACAGAACCTATACCATAATATA									
williamsii_4121_clones1_3	CCC-----	TCTAAATTACTAAATTAGAGAAAGAAGGGCTTTATATATCTAATA-CACACGTATAGATACTGACATAGCAAACGATTAATCACAGAACCTATACCATAATATA									
williamsii_4121_clone_4	CCC-----	TCTAAATTACTAAATTAGAGAAAGAAGGGCTTTATATATCTAATA-CACACGTATAGATACTGACATAGCAAACGATTAATCACAGAACCTATACCATAATATA									
williamsii_4121_clone_5	CCC-----	TCTAAATTACTAAATTAGAGAAAGAAGGGCTTTATATATCTAATA-CACACGTATAGATACTGACATAGCAAACGATTAATCACAGAACCTATACCATAATATA									
williamsii_4121_clone_6	CCC-----	TCTAAATTACTAAATTAGAGAAAGAAGGGCTTTATATATCTAATA-CACACGTATAGATACTGACATAGCAAACGATTAATCACAGAACCTATACCATAATATA									
williamsii_4121_clone_7	CCC-----	TCTAAATTACTAAATTAGAGAAAGAAGGGCTTTATATATCTAATA-CACACGTATAGATACTGACATAGCAAACGATTAATCACAGAACCTATACCATAATATA									
williamsii_4121_clone_9	CCC-----	TCTAAATTACTAAATTAGAGAAAGAAGGGCTTTATATATCTAATA-CACACGTATAGATACTGACATAGCAAACGATTAATCACAGAACCTATACCATAATATA									
williamsii_5048	CCC-----	TCTAAATTACTAAATTAGAGAAAGAAGGGCTTTATATATCTAATA-CACACGTATAGATACTGACATAGCAAACGATTAATCACAGAACCTATACCATAATATA									
williamsii_2977	CCC-----	TCTAAATTACTAAATTAGAGAAAGAAGGGCTTTATATATCTAATA-CACACGTATAGATACTGACATAGCAAACGATTAATCACAGAACCTATACCATAATATA									
williamsii_5333	CCC-----	TCTAAATTACTAAATTAGAGAAAGAAGGGCTTTATATATCTAATA-CACACGTATAGATACTGACATAGCAAACGATTAATCACAGAACCTATACCATAATATA									
juncea_8862	CCC-----	TCTAAATTACTAAATTAGAGAAAGAAGGGCTTTATACATCTAATAACAC--GTATAGATACTGACATAGCAAACGATTAATCATAGAACCCATACCATAATATA									
media_2420	CCCTCTCCT	TCTAAATTACTAAATTAGAGAAAGAAGGGCTTTATACATCTAATA-CACACGTATAGATACTGACATAGCAAACGATTAATCACAGAACCCATACCATAATATA									
megapotamica_3066	CCC-----	TCTAAATTACTAAATTAGAGAAAGAAGGGCTTTATACATCTAATA-CACACGTATAGATACTGACATAGCAAACGATTAATCACAGAACCCATACCATAATATA									
nervata_2336	CC-----	TCTAAATTACTAAATTAGAGAAAGAAGGGCTTTATACATCTAATA-CACACGTATAGATACTGACATAGCAAACGATTAATCACAGAACCCATACCATAATATA									

Anexo 8. Continuación

	900	910	920	930	940	950	960	970	980	990	1000
alamosana_2301	AATCAAATCCTTCAATTCATTGTATTTGAAATCTATTA	AAAAATAGGATTAATCGGACGAGAATAAAGAGAGAGT	CCCATTCTACATGTCAATGCTGACAATAATGAAATTT								
alamosana_3393	AATCAAATCCTTCAATTCATTGTATTTGAAATCTATTA	AAAAATAGGATTAATCGGACGAGAATAAAGAGAGAGT	CCCATTCTACATGTCAATGCTGACAATAATGAAATTT								
alamosana_2418	AATCAAATCCTTCAATTCATTGTATTTGAAATCTATTA	AAAAATAGGATTAATCGGACGAGAATAAAGAGAGAGT	CCCATTCTACATGTCAATGCTGACAATAATGAAATTT								
americana_3382	AATCAAATCCTTCAATTCATTGTATTTGAAATCTATTA	AAAAATAGGATTAATCGGACGAGAATAAAGAGAGAGT	CCCATTCTACATGTCAATGCTGACAATAATGAAATTT								
americana_4365	AATCAAATCCTTCAATTCATTGTATTTGAAATCTATTA	AAAAATAGGATTAATCGGACGAGAATAAAGAGAGAGT	CCCATTCTACATGTCAATGCTGACAATAATGAAATTT								
americana_22775	AATCAAATCCTTCAATTCATTGTATTTGAAATCTATTA	AAAAATAGGATTAATCGGACGAGAATAAAGAGAGAGT	CCCATTCTACATGTCAATGCTGACAATAATGAAATTT								
repens_4366	AATCAAATCCTTCAATTCATTGTATTTGAAATCTATTA	AAAAATAGGATTAATCGGACGAGAATAAAGAGAGAGT	CCCATTCTACATGTCAATGCTGACAATAATGAAATTT								
radicosa_2341	AATCAAATCCTTCAATTCATTGTATTTGAAATCTATTA	AAAAATAGGATTAATCGGACGAGAATAAAGAGAGAGT	CCCATTCTACATGTCAATGCTGACAATAATGAAATTT								
radicosa_2462	AATCAAATCCTTCAATTCATTGTATTTGAAATCTATTA	AAAAATAGGATTAATCGGACGAGAATAAAGAGAGAGT	CCCATTCTACATGTCAATGCTGACAATAATGAAATTT								
radicosa_3763	AATCAAATCCTTCAATTCATTGTATTTGAAATCTATTA	AAAAATAGGATTAATCGGACGAGAATAAAGAGAGAGT	CCCATTCTACATGTCAATGCTGACAATAATGAAATTT								
radicosa_3244	AATCAAATCCTTCAATTCATTGTATTTGAAATCTATTA	AAAAATAGGATTAATCGGACGAGAATAAAGAGAGAGT	CCCATTCTACATGTCAATGCTGACAATAATGAAATTT								
repens_2994	AATCAAATCCTTCAATTTATTGTATTTGAAATCTATTA	AAAAATAGGATTAATCGGACGAGAATAAAGAGAGAGT	CCCATTCTACATGTCAATGCTGACAATAATGAAATTT								
repens_3031	AATCAAATCCTTCAATTTATTGTATTTGAAATCTATTA	AAAAATAGGATTAATCGGACGAGAATAAAGAGAGAGT	CCCATTCTACATGTCAATGCTGACAATAATGAAATTT								
repens_5042	AATCAAATCCTTCAATTTATTGTATTTGAAATCTATTA	AAAAATAGGATTAATCGGACGAGAATAAAGAGAGAGT	CCCATTCTACATGTCAATGCTGACAATAATGAAATTT								
repens_5058	AATCAAATCCTTCAATTTATTGTATTTGAAATCTATTA	AAAAATAGGATTAATCGGACGAGAATAAAGAGAGAGT	CCCATTCTACATGTCAATGCTGACAATAATGAAATTT								
repens_2450	AATCAAATCCTTCAATTTATTGTATTTGAAATCTATTA	AAAAATAGGATTAATCGGACGAGAATAAAGAGAGAGT	CCCATTCTACATGTCAATGCTGACAATAATGAAATTT								
repens_3329	AATCAAATCCTTCAATTTATTGTATTTGAAATCTATTA	AAAAATAGGATTAATCGGACGAGAATAAAGAGAGAGT	CCCATTCTACATGTCAATGCTGACAATAATGAAATTT								
repens_4323	AATCAAATCCTTCAATTTATTGTATTTGAAATCTATTA	AAAAATAGGATTAATCGGACGAGAATAAAGAGAGAGT	CCCATTCTACATGTCAATGCTGACAATAATGAAATTT								
williamsii_2353	AATCAAATCCTTCAATTCATTGTATTTGAAATCTATTA	AAAAATAGGATTAATCGGACGAGAATAAAGAGAGAGT	CCCATTCTACATGTCAATGCTGACAATAATGAAATTT								
williamsii_4121_clones1_3	AATCAAATCCTTCAATTCATTGTATTTGAAATCTATTA	AAAAATAGGATTAATCGGACGAGAATAAAGAGAGAGT	CCCATTCTACATGTCAATGCTGACAATAATGAAATTT								
williamsii_4121_clone_4	AATCAAATCCTTCAATTCATTGTATTTGAAATCTATTA	AAAAATAGGATTAATCGGACGAGAATAAAGAGAGAGT	CCCATTCTACATGTCAATGCTGACAATAATGAAATTT								
williamsii_4121_clone_5	AATCAAATCCTTCAATTCATTGTATTTGAAATCTATTA	AAAAATAGGATTAATCGGACGAGAATAAAGAGAGAGT	CCCATTCTACATGTCAATGCTGACAATAATGAAATTT								
williamsii_4121_clone_6	AATCAAATCCTTCAATTCATTGTATTTGAAATCTATTA	AAAAATAGGATTAATCGGACGAGAATAAAGAGAGAGT	CCCATTCTACATGTCAATGCTGACAATAATGAAATTT								
williamsii_4121_clone_7	AATCAAATCCTTCAATTCATTGTATTTGAAATCTATTA	AAAAATAGGATTAATCGGACGAGAATAAAGAGAGAGT	CCCATTCTACATGTCAATGCTGACAATAATGAAATTT								
williamsii_4121_clone_9	AATCAAATCCTTCAATTCATTGTATTTGAAATCTATTA	AAAAATAGGATTAATCGGACGAGAATAAAGAGAGAGT	CCCATTCTACATGTCAATGCTGACAATAATGAAATTT								
williamsii_5048	AATCAAATCCTTCAATTCATTGTATTTGAAATCTATTA	AAAAATAGGATTAATCGGACGAGAATAAAGAGAGAGT	CCCATTCTACATGTCAATGCTGACAATAATGAAATTT								
williamsii_2977	AATCAAATCCTTCAATTCATTGTATTTGAAATCTATTA	AAAAATAGGATTAATCGGACGAGAATAAAGAGAGAGT	CCCATTCTACATGTCAATGCTGACAATAATGAAATTT								
williamsii_5333	AATCAAATCCTTCAATTCATTGTATTTGAAATCTATTA	AAAAATAGGATTAATCGGACGAGAATAAAGAGAGAGT	CCCATTCTACATGTCAATGCTGACAATAATGAAATTT								
juncea_8862	AATCAAATCCTTCAATTCATTGTATTTGAAATCTATTA	AAAAATAGGATTAATCGGACGAGAATAAAGAGAGAGT	CCCATTCTACATGTCAATGCTGACAATAATGAAATTT								
media_2420	AATCAAATCCTTCAATTCATTGTATTTGAAATCTATTA	AAAAATAGGATTAATCGGACGAGAATAAAGAGAGAGT	CCCATTCTACATGTCAATGCTGACAATAATGAAATTT								
megapotamica_3066	AATCAAATCCTTCAATTCATTGTATTTGAAATCTATTA	AAAAATAGGATTAATCGGACGAGAATAAAGAGAGAGT	CCCATTCTACATGTCAATGCTGACAATAATGAAATTT								
nervata_2336	AATCAAATCCTTCAATTCATTGTATTTGAAATCTATTA	AAAAATAGGATTAATCGGACGAGAATAAAGAGAGAGT	CCCATTCTACATGTCAATGCTGACAATAATGAAATTT								

Anexo 8. Continuación

	1010	1020	1030	1040	1050	1060	1070	1080	1090	1100	1110	1120
alamosana_2301	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
alamosana_3393	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
alamosana_2418	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
americana_3382	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
americana_4365	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
americana_22775	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
repens_4366	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
radicosa_2341	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
radicosa_2462	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
radicosa_3763	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
radicosa_3244	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
repens_2994	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
repens_3031	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
repens_5042	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
repens_5058	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
repens_2450	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
repens_3329	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
repens_4323	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
williamsii_2353	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
williamsii_4121_clones1_3	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
williamsii_4121_clone_4	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
williamsii_4121_clone_5	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
williamsii_4121_clone_6	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
williamsii_4121_clone_7	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
williamsii_4121_clone_9	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
williamsii_5048	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
williamsii_2977	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
williamsii_5333	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
juncea_8862	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
media_2420	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
megapotamica_3066	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
nervata_2336	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•

Anexo 8. Continuación

	1130	1140	1150	1160	1170	1180	1190	1200	1210	1220	1230
alamosana_2301	ATGGGTTCAAGATTCATTAGCTTTCTCATTCTACTTTTTTCACAAAGTAGTGCAAAGAGAACACAATAGATCTTATGCTATTCATTAAATGGATTTTCATTTTTATTAGAGTAT										
alamosana_3393	ATGGGTTCAAGATTCATTAGCTTTCTCATTCTACTTTTTTCACAAAGTAGTGCAAAGAGAACACAATAGATCTTATGCTATTCATTAAATGGATTTTCATTTTTATTAGAGTAT										
alamosana_2418	ATGGGTTCAAGATTCATTAGCTTTCTCATTCTACTTTTTTCACAAAGTAGTGCAAAGAGAACACAATAGATCTTATGCTATTCATTAAATGGATTTTCATTTTTATTAGAGTAT										
americana_3382	ATGGGTTCAAGATTCATTAGCTTTCTCATTCTACTTTTTTCACAAAGGAGTGCAAAGAGAACACAATAGATCTTATGCTATTCATTAAATGGATTTTCATTTTTATTAGAGTAT										
americana_4365	ATGGGTTCAAGATTCATTAGCTTTCTCATTCTACTTTTTTCACAAAGGAGTGCAAAGAGAACACAATAGATCTTATGCTATTCATTAAATGGATTTTCATTTTTATTAGAGTAT										
americana_22775	ATGGGTTCAAGATTCATTAGCTTTCTCATTCTACTTTTTTCACAAAGGAGTGCAAAGAGAACACAATAGATCTTATGCTATTCATTAAATGGATTTTCATTTTTATTAGAGTAT										
repens_4366	ATGGGTTCAAGATTCATTAGCTTTCTCATTCTACTTTTTTCACAAAGGAGTGCAAAGAGAACACAATAGATCTTATGCTATTCATTAAATGGATTTTCATTTTTATTAGAGTAT										
radicosa_2341	ATGGGTTCAAGATTCATTAGCTTTCTCATTCTACTTTTTTCACAAAGGAGTGCAAAGAGAACACAATAGATCTTATGCTATTCATTAAATGGATTTTCATTTTTATTAGAGTAT										
radicosa_2462	ATGGGTTCAAGATTCATTAGCTTTCTCATTCTACTTTTTTCACAAAGGAGTGCAAAGAGAACACAATAGATCTTATGCTATTCATTAAATGGATTTTCATTTTTATTAGAGTAT										
radicosa_3763	ATGGGTTCAAGATTCATTAGCTTTCTCATTCTACTTTTTTCACAAAGGAGTGCAAAGAGAACACAATAGATCTTATGCTATTCATTAAATGGATTTTCATTTTTATTAGAGTAT										
radicosa_3244	ATGGGTTCAAGATTCATTAGCTTTCTCATTCTACTTTTTTCACAAAGGAGTGCAAAGAGAACACAATAGATCTTATGCTATTCATTAAATGGATTTTCATTTTTATTAGAGTAT										
repens_2994	ATGGGTTCAAGATTCATTAGCTTTCTCATTCTACTTTTTTCACAAAGGAGTGCAAAGAGAACACAATAGATCTTATGCTATTCATTAAATGGATTTTCATTTTTATTAGAGTAT										
repens_3031	ATGGGTTCAAGATTCATTAGCTTTCTCATTCTACTTTTTTCACAAAGGAGTGCAAAGAGAACACAATAGATCTTATGCTATTCATTAAATGGATTTTCATTTTTATTAGAGTAT										
repens_5042	ATGGGTTCAAGATTCATTAGCTTTCTCATTCTACTTTTTTCACAAAGGAGTGCAAAGAGAACACAATAGATCTTATGCTATTCATTAAATGGATTTTCATTTTTATTAGAGTAT										
repens_5058	ATGGGTTCAAGATTCATTAGCTTTCTCATTCTACTTTTTTCACAAAGGAGTGCAAAGAGAACACAATAGATCTTATGCTATTCATTAAATGGATTTTCATTTTTATTAGAGTAT										
repens_2450	ATGGGTTCAAGATTCATTAGCTTTCTCATTCTACTTTTTTCACAAAGGAGTGCAAAGAGAACACAATAGATCTTATGCTATTCATTAAATGGATTTTCATTTTTATTAGAGTAT										
repens_3329	ATGGGTTCAAGATTCATTAGCTTTCTCATTCTACTTTTTTCACAAAGGAGTGCAAAGAGAACACAATAGATCTTATGCTATTCATTAAATGGATTTTCATTTTTATTAGAGTAT										
repens_4323	ATGGGTTCAAGATTCATTAGCTTTCTCATTCTACTTTTTTCACAAAGGAGTGCAAAGAGAACACAATAGATCTTATGCTATTCATTAAATGGATTTTCATTTTTATTAGAGTAT										
williamsii_2353	ATGGGTTCAAGATTCATTAGCTTTCTCATTCTACTTTTTTCACAAAGGAGTGCAAAGAGAACACAATAGATCTTATGCTATTCATTAAATGGATTTTCATTTTTATTAGAGTAT										
williamsii_4121_clones1_3	ATGGGTTCAAGATTCATTAGCTTTCTCATTCTACTTTTTTCACAAAGGAGTGCAAAGAGAACACAATAGATCTTATGCTATTCATTAAATGGATTTTCATTTTTATTAGAGTAT										
williamsii_4121_clone_4	ATGGGTTCAAGATTCATTAGCTTTCTCATTCTACTTTTTTCACAAAGGAGTGCAAAGAGAACACAATAGATCTTATGCTATTCATTAAATGGATTTTCATTTTTATTAGAGTAT										
williamsii_4121_clone_5	ATGGGTTCAAGATTCATTAGCTTTCTCATTCTACTTTTTTCACAAAGGAGTGCAAAGAGAACACAATAGATCTTATGCTATTCATTAAATGGATTTTCATTTTTATTAGAGTAT										
williamsii_4121_clone_6	ATGGGTTCAAGATTCATTAGCTTTCTCATTCTACTTTTTTCACAAAGGAGTGCAAAGAGAACACAATAGATCTTATGCTATTCATTAAATGGATTTTCATTTTTATTAGAGTAT										
williamsii_4121_clone_7	ATGGGTTCAAGATTCATTAGCTTTCTCATTCTACTTTTTTCACAAAGGAGTGCAAAGAGAACACAATAGATCTTATGCTATTCATTAAATGGATTTTCATTTTTATTAGAGTAT										
williamsii_4121_clone_9	ATGGGTTCAAGATTCATTAGCTTTCTCATTCTACTTTTTTCACAAAGGAGTGCAAAGAGAACACAATAGATCTTATGCTATTCATTAAATGGATTTTCATTTTTATTAGAGTAT										
williamsii_5048	ATGGGTTCAAGATTCATTAGCTTTCTCATTCTACTTTTTTCACAAAGGAGTGCAAAGAGAACACAATAGATCTTATGCTATTCATTAAATGGATTTTCATTTTTATTAGAGTAT										
williamsii_2977	ATGGGTTCAAGATTCATTAGCTTTCTCATTCTACTTTTTTCACAAAGGAGTGCAAAGAGAACACAATAGATCTTATGCTATTCATTAAATGGATTTTCATTTTTATTAGAGTAT										
williamsii_5333	ATGGGTTCAAGATTCATTAGCTTTCTCATTCTACTTTTTTCACAAAGGAGTGCAAAGAGAACACAATAGATCTTATGCTATTCATTAAATGGATTTTCATTTTTATTAGAGTAT										
juncea_8862	ATGGGTTCAAGATTCATTAGCTTTCTCATTCTACTTTTTTCACAAAGGAGTGCAAAGAGAATGCAATAGATCTTATGCTATTCATTAAATAGATTTCTTTTTATTAGAGTAT										
media_2420	ATGGGTTCAAGATTCATTAGCTTTCTCATTCTACTTTTTTCACAAAGGAGTGCAAAGAGAACGCAATAGATCTTATGCTATTCATTAAATAGATTTCTTTTTATTAGAGTAT										
megapotamica_3066	ATGGGTTCAAGATTCATTAGCTTTCTCATTCTACTTTTTTCACAAAGGAGTGCAAAGAGAACGCAATAGATCTTATGCTATTCATTAAATAGATTTCTTTTTATTAGAGTAT										
nervata_2336	ATGGGTTCAAGATTCATTAGCTTTCTCATTCTACTTTTTTCACAAAGGAGTGCAAAGAGAACGCAATAGATCTTATGCTATTCATTAAATAGATTTCTTTTTATTAGAGTAT										

Anexo 8. Continuación

	1240	1250	1260	1270	1280	1290	1300	1310	1320	1330	1340
alamosana_2301	CCGCAAAGAATCTCAATTATTAATTAAA-----TAAA----	TAAGTATTATTTTAAGTAAGCCATT	CACAATGCATAGGACTATCCCCC-	TCATTTCCAAATTTGGG							
alamosana_3393	CCGCAAAGAATCTCAATTATTAATTAAA-----TAAA----	TAAGTATTATTTTAAGTAAGCCATT	CACAATGCATAGGACTATCCCCC-	TCATTTCCAAATTTGGG							
alamosana_2418	CCGCAAAGAATCTCAATTATTAATTAAA-----TAAA----	TAAGTATTATTTTAAGTAAGCCATT	CACAATGCATAGGACTATCCCCC-	TCATTTCCAAATTTGGG							
americana_3382	CCGCAAAGAATCTCAATTATTAATTAAA-----TAAA----	TAAGTATTATTTTAAGTAAGCCATT	CACAATGCATAGGACTATCCCCC-	TCATTTCCAAATTTGGG							
americana_4365	CCGCAAAGAATCTCAATTATTAATTAAA-----TAAA----	TAAGTATTATTTTAAGTAAGCCATT	CACAATGCATAGGACTATCCCCC-	TCATTTCCAAATTTGGG							
americana_22775	CCGCAAAGAATCTCAATTATTAATTAAA-----TAAA----	TAAGTATTATTTTAAGTAAGCCATT	CACAATGCATAGGACTATCCCCC-	TCATTTCCAAATTTGGG							
repens_4366	CCGCAAAGAATCTCAATTATTAATTAAA-----TAAA----	TAAGTATTATTTTAAGTAAGCCATT	CACAATGCATAGGACTATCCCCC-	TCATTTCCAAATTTGGG							
radicosa_2341	CCGCAAAGAATCTCAATTATTAATTAAA-----TAAA----	TAAGTATTATTTTAAGTAAGCCATT	CACAATGCATAGGACTATCCCCC-	TCATTTCCAAATTTGGG							
radicosa_2462	CCGCAAAGAATCTCAATTATTAATTAAA-----TAAA----	TAAGTATTATTTTAAGTAAGCCATT	CACAATGCATAGGACTATCCCCC-	TCATTTCCAAATTTGGG							
radicosa_3763	CCGCAAAGAATCTCAATTATTAATTAAA-----TAAA----	TAAGTATTATTTTAAGTAAGCCATT	CACAATGCATAGGACTATCCCCC-	TCATTTCCAAATTTGGG							
radicosa_3244	CCGCAAAGAATCTCAATTATTAATTAAA-----TAAA----	TAAGTATTATTTTAAGTAAGCCATT	CACAATGCATAGGACTATCCCCC-	TCATTTCCAAATTTGGG							
repens_2994	CCGCAAAGAATCTCAATTATTAATTAAA-----TAAA----	TAAGTATTATTTTAAGTAAGCCATT	CACAATGCATAGGACTATCCCCC-	TCATTTCCAAATTTGGG							
repens_3031	CCGCAAAGAATCTCAATTATTAATTAAA-----TAAA----	TAAGTATTATTTTAAGTAAGCCATT	CACAATGCATAGGACTATCCCCC-	TCATTTCCAAATTTGGG							
repens_5042	CCGCAAAGAATCTCAATTATTAATTAAA-----TAAA----	TAAGTATTATTTTAAGTAAGCCATT	CACAATGCATAGGACTATCCCCC-	TCATTTCCAAATTTGGG							
repens_5058	CCGCAAAGAATCTCAATTATTAATTAAA-----TAAA----	TAAGTATTATTTTAAGTAAGCCATT	CACAATGCATAGGACTATCCCCC-	TCATTTCCAAATTTGGG							
repens_2450	CCGCAAAGAATCTCAATTATTAATTAAA-----TAAA----	TAAGTATTATTTTAAGTAAGCCATT	CACAATGCATAGGACTATCCCCC-	TCATTTCCAAATTTGGG							
repens_3329	CCGCAAAGAATCTCAATTATTAATTAAA-----TAAA----	TAAGTATTATTTTAAGTAAGCCATT	CACAATGCATAGGACTATCCCCC-	TCATTTCCAAATTTGGG							
repens_4323	CCGCAAAGAATCTCAATTATTAATTAAA-----TAAA----	TAAGTATTATTTTAAGTAAGCCATT	CACAATGCATAGGACTATCCCCC-	TCATTTCCAAATTTGGG							
williamsii_2353	CCGCAAAGAATCTCAATTATTAATTAAA-----TAAA----	TAAGTATTATTTTAAGTAAGCCATT	CACAATGCATAGGACTATCCCCC-	TCATTTCCAAATTTGGG							
williamsii_4121_clones1_3	CCGCAAAGAATCTCAATTATTAATTAAA-----TAAA----	TAAGTATTATTTTAAGTAAGCCATT	CACAATGCATAGGACTATCCCCC-	TCATTTCCAAATTTGGG							
williamsii_4121_clone_4	CCGCAAAGAATCTCAATTATTAATTAAA-----TAAA----	TAAGTATTATTTTAAGTAAGCCATT	CACAATGCATAGGACTATCCCCC-	TCATTTCCAAATTTGGG							
williamsii_4121_clone_5	CCGCAAAGAATCTCAATTATTAATTAAA-----TAAA----	TAAGTATTATTTTAAGTAAGCCATT	CACAATGCATAGGACTATCCCCC-	TCATTTCCAAATTTGGG							
williamsii_4121_clone_6	CCGCAAAGAATCTCAATTATTAATTAAA-----TAAA----	TAAGTATTATTTTAAGTAAGCCATT	CACAATGCATAGGACTATCCCCC-	TCATTTCCAAATTTGGG							
williamsii_4121_clone_7	CCGCAAAGAATCTCAATTATTAATTAAA-----TAAA----	TAAGTATTATTTTAAGTAAGCCATT	CACAATGCATAGGACTATCCCCC-	TCATTTCCAAATTTGGG							
williamsii_4121_clone_9	CCGCAAAGAATCTCAATTATTAATTAAA-----TAAA----	TAAGTATTATTTTAAGTAAGCCATT	CACAATGCATAGGACTATCCCCC-	TCATTTCCAAATTTGGG							
williamsii_5048	CCGCAAAGAATCTCAATTATTAATTAAA-----TAAA----	TAAGTATTATTTTAAGTAAGCCATT	CACAATGCATAGGACTATCCCCC-	TCATTTCCAAATTTGGG							
williamsii_2977	CCGCAAAGAATCTCAATTATTAATTAAA-----TAAA----	TAAGTATTATTTTAAGTAAGCCATT	CACAATGCATAGGACTATCCCCC-	TCATTTCCAAATTTGGG							
williamsii_5333	CCGCAAAGAATCTCAATTATTAATTAAA-----TAAA----	TAAGTATTATTTTAAGTAAGCCATT	CACAATGCATAGGACTATCCCCC-	TCATTTCCAAATTTGGG							
juncea_8862	CCGCAAAGAATCTCAATTATTAATTAAA-----TAAA----	TAAGTATTATTTTAAGTAAGCCATT	CACAATGCATAGGACTATCCCCC-	TCATTTCCAAATTTGGG							
media_2420	CCGCAAAGAATCTCAATTATTAATTAAA-----TAAA----	TAAGTATTATTTTAAGTAAGCCATT	CACAATGCATAGGACTATCCCCC-	TCATTTCCAAATTTGGG							
megapotamica_3066	CCGCAAAGAATCTCAATTATTAATTAAA-----TAAA----	TAAGTATTATTTTAAGTAAGCCATT	CACAATGCATAGGACTATCCCCC-	TCATTTCCAAATTTGGG							
nervata_2336	CCGCAAAGAATCTCAATTATTAATTAAA-----TAAA----	TAAGTATTATTTTAAGTAAGCCATT	CACAATGCATAGGACTATCCCCC-	TCATTTCCAAATTTGGG							

Anexo 8. Continuación

	1350	1360	1370	1380	1390	1400	1410	1420
alamosana_2301	G-TGGAATACTTTATTGATTTTTT	-AGTCCCTTTAATT	-GACATAGATGCAAATACTCTACTAGGATGATGCACAAGAAAGG					
alamosana_3393	G-TGGAATACTTTATTGATTTTTT	-AGTCCCTTTAATT	-GACATAGATGCAAATACTCTACTAGGATGATGCACAAGAAAGG					
alamosana_2418	GGTGGAAATACTTTATTGATTTTTT	TAGTCCCTTTAATT	-GACATAGATGCAAATACTCTACTAGGATGATGCACAAGAAAGG					
americana_3382	G-TGGAATACTTTATTGATTTTTT	-AGTCCCTTTAATT	-GACATAGATGCAAATACTCTACTAGGATGATGCACAAGAAAGG					
americana_4365	G-TGGAATACTTTATTGATTTTTT	-AGTCCCTTTAATT	-GACATAGATGCAAATACTCTACTAGGATGATGCACAAGAAAGG					
americana_22775	G-TGGAATACTTTATTGATTTTTT	-AGTCCCTTTAATT	-GACATAGATGCAAATACTCTACTAGGATGATGCACAAGAAAGG					
repens_4366	G-TGGAATACTTTATTGATTTTTT	-AGTCCCTTTAATT	-GACATAGATGCAAATACTCTACTAGGATGATGCACAAGAAAGG					
radicosa_2341	G-TGGAATACTTTATTGATTTTTT	-AGTCCCTTTAATT	-GACATAGATGCAAATACTCTACTAGGATGATGCACAAGAAAGG					
radicosa_2462	G-TGGAATACTTTATTGATTTTTT	-AGTCCCTTTAATT	-GACATAGATGCAAATACTCTACTAGGATGATGCACAAGAAAGG					
radicosa_3763	G-TGGAATACTTTATTGATTTTTT	TAGTCCCTTTAATT	-GACATAGATGCAAATACTCTACTAGGATGATGCACAAGAAAGG					
radicosa_3244	G-TGGAATACTTTATTGATTTTTT	-AGTCCCTTTAATT	-GACATAGATGCAAATACTCTACTAGGATGATGCACAAGAAAGG					
repens_2994	G-TGGAATACTTTATTGATTTTTT	-AGTCCCTTTAATT	-GACATAG----AAATACTCTACTAGGATGATGCACAAGAAAGG					
repens_3031	G-TGGAATACTTTATTGATTTTTT	-AGTCCCTTTAATT	-GACATAG----AAATACTCTACTAGGATGATGCACAAGAAAGG					
repens_5042	G-TGGAATACTTTATTGATTTTTT	TAGTCCCTTTAATT	-GACATAG----AAATACTCTACTAGGATGATGCACAAGAAAGG					
repens_5058	G-TGGAATACTTTATTGATTTTTT	-AGTCCCTTTAATT	TGACATAG----AAATACTCTACTAGGATGATGCACAAGAAAGG					
repens_2450	G-TGGAATACTTTATTGATTTTTT	-AGTCCCTTTAATT	-GACATAG----AAATACTCTACTAGGATGATGCACAAGAAAGG					
repens_3329	G-TGGAATACTTTATTGATTTTTT	TAGTCCCTTTAATT	-GACATAG----AAATACTCTACTAGGATGATGCACAAGAAAGG					
repens_4323	G-TGGAATACTTTATTGATTTTTT	-AGTCCCTTTAATT	-GACATAG----AAATACTCTACTAGGATGATGCACAAGAAAGG					
williamsii_2353	G-TGGAATACTTTATTGATTTTTT	-AGTCCCTTTAATT	-GACATAGATGCAAATACTCTACTAGGATGATGCACAAGAAAGG					
williamsii_4121_clones1_3	G-TGGAATACTTTATTGATTTTTT	-AGTCCCTTTAATT	-GACATAGATGCAAATACTCTACTAGGATGATGCACAAGAAAGG					
williamsii_4121_clone_4	G-TGGAATACTTTATTGATTTTTT	-AGTCCCTTTAATT	-GACATAGATGCAAATACTCTACTAGGATGATGCACAAGAAAGG					
williamsii_4121_clone_5	G-TGGAATACTTTATTGATTTTTT	-AGTCCCTTTAATT	-GACATAGATGCAAATACTCTACTAGGATGATGCACAAGAAAGG					
williamsii_4121_clone_6	G-TGGAATACTTTATTGATTTTTT	-AGTCCCTTTAATT	-GACATAGATGCAAATACTCTACTAGGATGATGCACAAGAAAGG					
williamsii_4121_clone_7	G-TGGAATACTTTATTGATTTTTT	-AGTCCCTTTAATT	-GACATAGATGCAAATACTCTACTAGGATGATGCACAAGAAAGG					
williamsii_4121_clone_9	G-TGGAATACTTTATTGATTTTTT	-AGTCCCTTTAATT	-GACATAGATGCAAATACTCTACTAGGATGATGCACAAGAAAGG					
williamsii_5048	G-TGGAATACTTTATTGATTTTTT	-AGTCCCTTTAATT	-GACATAGATGCAAATACTCTACTAGGATGATGCACAAGAAAGG					
williamsii_2977	G-TGGAATACTTTATTGATTTTTT	-AGTCCCTTTAATT	-GACATAGATGCAAATACTCTACTAGGATGATGCACAAGAAAGG					
williamsii_5333	G-TGGAATACTTTATTGATTTTTT	-AGTCCCTTTAATT	-GACATAGATGCAAATACTCTACTAGGATGATGCACAAGAAAGG					
juncea_8862	G-TAGAATACTTTATTGATTTTTT	-AGTCCCTTTAATT	-GACATAGATGCAAATACTCTACTAGGATGATGCACAAGAAAGG					
media_2420	G-TGGAATACTTTATTGATTTTTT	-CGTCCCTTTAATT	-GACATAGATGCAAATACTCTACTAGGATGATGCACAAGAAAGG					
megapotamica_3066	G-TGGAATACTTTATTGATTTTTT	-AGTCCCTTTAATT	-GACATAGATGCAAATACTCTACTAGGATGATGCACAAGAAAGG					
nervata_2336	G-TGGAATACTTTATTGATTTTTT	-AGTCCCTTTAATT	-GACATAGATGCAAATACTCTACTAGGATGATGCACAAGAAAGG					