

TESIS

TESIS

TESIS

TESIS

TESIS



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE AGUASCALIENTES

CENTRO DE CIENCIAS BÁSICAS

**DIVERSIDAD GENÉTICA DE LAS POBLACIONES DE *BOUTELOUA CURTIPENDULA*
(GRAMINEAE: CHLORIDOIDEAE)**

TESIS PROFESIONAL PRESENTADA POR

Alejandra Palomeque Carlín

PARA OBTENER EL TÍTULO DE MAESTRA EN CIENCIAS EN EL ÁREA DE
BIOTECNOLOGÍA VEGETAL

TUTORA DE TESIS

Dra. María Elena Siqueiros Delgado

COMITÉ TUTORAL

J. Travis Columbus PhD.

Dra. Rosa Cerros Tlatilpa

Aguascalientes, Aguascalientes de Junio de 2011.

TESIS

TESIS

TESIS

TESIS

TESIS



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE AGUASCALIENTES

Centro de Ciencias Básicas

BIOL. ALEJANDRA PALOMEQUE CARLIN
ALUMNO (A) DE LA MAESTRÍA EN CIENCIAS
ÁREA DE BIOTEGNOLOGÍA VEGETAL
P R E S E N T E .

Estimado (a) alumno (a) Palomeque:

Por medio de este conducto me permito comunicar a Usted que habiendo recibido los votos aprobatorios de los revisores de su trabajo de tesis y/o caso práctico titulado: "DIVERSIDAD GENÉTICA DE LAS POBLACIONES DE *BOUTELOUA CURTIPENDULA* (GRAMINEAE: CHLORIDOIDEAE)", hago de su conocimiento que puede imprimir dicho documento y continuar con los trámites para la presentación de su examen de grado.

Sin otro particular me permito saludarle muy afectuosamente.

A T E N T A M E N T E
Aguascalientes, Ags., 24 de junio de 2011
"SE LUMEN PROFERRE"
LA DECANO

M. en C. MARTHA CRISTINA GONZÁLEZ DÍAZ



c.c.p.- Archivo
MCGD,mjda



UNIVERSIDAD AUTONOMA DE AGUASCALIENTES

CENTRO DE CIENCIAS BASICAS

DIVERSIDAD GENETICA DE LAS POBLACIONES DE *BOUTELOUA CURTIPENDULA*
(GRAMINEAE: CHLORIDOIDEAE)

Alejandra Palomeque Carlín

MAESTRIA EN CIENCIAS
AREA: BIOTECNOLOGIA VEGETAL

Dra. María Elena Siqueiros Delgado

J. Travis Columbus PhD.

Dra. Rosa Cerros Tlatilpa

Aguascalientes, Aguascalientes de Junio de 2011.

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue determinar la diversidad genética de las diferentes poblaciones de *Bouteloua curtipendula* para establecer sus relaciones geográficas, así mismo, tratar de delimitar la circunscripción de la especie y de sus variedades. Se secuenciaron 63 muestras de las once especies que forman el complejo *Bouteloua curtipendula* usando tres loci, uno de núcleo ITS, y dos de plastidio trnTLF y trnC-rpoB. Las hipótesis filogenéticas de ITS, plastidio y la combinación de ambas, así como el análisis de AFLPs no respaldan la monofilia de *Bouteloua curtipendula*. Las variedades propuestas por Gould y Kapadia (1964): *caespitosa*, *curtipendula* y *tenuis* son artificiales. No existen caracteres morfológicos que nos ayuden a circunscribir a la especie. Se pudo concluir que hoy conocemos como *Bouteloua curtipendula* es un conjunto de linajes independientes que han convergido a la misma morfología por cuestiones adaptativas (homoplasias).

INDICE DE CONTENIDO

Introducción 1

Material y métodos 10

 Trabajo de Campo y selección de muestras 10

 Identificación y matriz de datos morfológicos 10

 Marcadores moleculares 10

 Trabajo de Laboratorio 11

 Extracción de ADN 11

 Amplificación y Secuenciación 11

 AFLPs 13

 Análisis Filogénéticos 14

Resultados 15

 ITS 15

 Plastidio (trnTLF/trnC-rpoB) 18

 Análisis combinado (ITS/trnTLF/trnC-rpoB) 19

 AFLPs 24

 Red de haplotipos 27

Discusión 32

 Marcadores de núcleo y de plastidio con respecto a las relaciones del CBC
 32

 Diversidad genética de *Bouteloua curtipendula* y su relación con el resto de los
 taxa del CBC 36

Conclusión 42

Literatura citada 43

Anexo 51

Glosario 57



INTRODUCCIÓN

Los pastizales son uno de los ecosistemas más productivos y más fácilmente reconocibles en el mundo. Comúnmente están distribuidos en las zonas áridas y semiáridas y cubren aproximadamente un 40% de la superficie terrestre (World Resources, 2000; Gibson, 2009). A pesar de su gran importancia, los pastizales son de las comunidades más vulnerables y más deterioradas del mundo, encontrándose muchos de ellos amenazados o en peligro de extinción (Jones, 2002). En la actualidad, solo una pequeña fracción de los ecosistemas de pastizal permanece intacto, por lo que es imprescindible estudiar la biodiversidad de este importante bioma desde una perspectiva evolutiva antes de que sea destruido.

Uno de los pastos más característicos de los pastizales americanos es el género *Bouteloua* perteneciente a la subfamilia Chloridoideae, y reconocido como uno de los géneros nativos más importantes en los pastizales americanos, no solo porque sus especies son elementos significativos de los pastizales naturales, sino también porque son las de mayor calidad forrajera en los terrenos dedicados al pastoreo extensivo (Herrera *et al.*, 2004). *Bouteloua* es un género monofilético formado por 57 especies (Columbus, 1998), distribuidas desde el sur de Canadá hasta Argentina.

Una de las especies más polimórficas en cuanto a morfología y más importante desde el punto de vista nutricional, es *Bouteloua curtipendula* (Gould 1980) la cual es miembro de un complejo de 11 especies cercanamente relacionadas, denominado complejo *Bouteloua curtipendula* (abreviado CBC, Siqueiros, 2001). El complejo es nativo de los pastizales americanos y se localiza en toda el área de distribución del género, con su centro de diversidad en México. Las especies que conforman el complejo son: *B. curtipendula*, *B. distans*, *B. disticha*, *B. media*, *B. pedicellata*, *B. purpurea*, *B. reflexa*, *B. triaena*, *B. uniflora*, *B. vaneedenii* y *B. warnockii*. *Bouteloua curtipendula* es la especie de mayor distribución en el complejo, mientras el resto de las especies son endémicas o de distribuciones restringida. *Bouteloua purpurea*, *B.*

distans y *B. pedicellata* se localizan en la parte central de México; *B. reflexa*, es endémica de la región noroeste del país, *B. warnockii* se encuentra únicamente en el sureste de los Estados Unidos y noreste de México, *B. uniflora* se localiza desde el noreste hasta el centro de México y *B. disticha*, *B. media* y *B. triaena* se distribuyen en zonas tropicales desde el sur de México hasta centro y sudamérica. Así mismo, *Bouteloua vaneedenii* es endémica de Cuba y la Antillas Menores (Gould y Kapadia, 1980).

Todas las especies del complejo son perennes (excepto *B. disticha* y algunas veces de *B. triaena* que son anuales) y su hábito puede variar de cespitosas a rastreras, o algunas se propagan por medio de rizomas o estolones (Siqueiros *et al.*, en prensa). Así mismo, todas las especies realizan fotosíntesis C₄, la cual es típica de pastos de zonas áridas (Chapman, 1996, Roalson 2011) y poseen una forma intermedia entre las vías fotosintéticas NAD-ME/PCK (Hattersley *et al.* 1986; Siqueiros, 2007). Anatómicamente, las hojas se distinguen por poseer cloroplastos redondos y periféricos en las células Kranz (Siqueiros, 2007). La mayoría de sus especies crecen en áreas xéricas y muchas de ellas son características de suelos calcáreos, mientras que otras ocurren en suelos limosos de zonas tropicales a subtropicales. La mayoría de las especies del CBC habitan zonas conservadas, *B. disticha* es la única que bajo ciertas condiciones puede comportarse como maleza (Siqueiros, 2001).

El CBC se distingue de otras especies de *Bouteloua* por poseer muchas ramas deciduas por inflorescencia (de 12 — 80), relativamente pocas espiguillas por rama (de 1 — 16), y espiguillas péndulas que caen intactas con el raquis de la rama (Gould y Kapadia, 1964). Las características que se han usado para circunscribir a los taxa dentro del CBC son: (1) color de las anteras, (2) número de espiguillas por rama, (3) número de ramas por inflorescencia, (4) presencia o ausencia de estolones y rizomas, (5) presencia de inflorescencias laterales (inflorescencias producidas por tallos axilares en inflorescencias primarias debajo de la inflorescencia terminal), y (6) tamaño y forma del rudimento (Gould, 1980; Gould y Kapadia, 1964; Griffiths, 1912).

La distribución de las especies del CBC y el número cromosómico también han sido usados para la circunscripción taxonómica del mismo (Gould y Kapadia, 1964).

El complejo *Bouteloua curtipendula* (CBC) comprende taxa diploides y poliploides ($2n= 20$ a 103). La mayoría son diploides con $2n= 20$ (*B. distans*, *B. disticha*, *B. media*, *B. pedicellata*, *B. reflexa*, *B. triaena*, *B. uniflora* y *B. vaneedenii*) (Siqueiros, 2001). Los demás taxa representan ya sea complejos poliploides como *B. curtipendula sensu stricto* ($2n=20$ a 103; incluyendo números aneuploides de 41 a 103), *B. warnockii* ($2n= 20-21$ a 40) o poliploides estrictos como *B. purpurea* con $2n= 40$ (Gould y Kapadia, 1964).

La gran variación morfológica entre individuos del mismo taxa y los altos niveles de homoplasia entre las especies de CBC (Siqueiros, 2001) han enmascarado las verdaderas relaciones entre y dentro de las especies del complejo generando controversia e inexactitud en la circunscripción de sus taxa (Siqueiros *et al.*, en prensa). La evidencia molecular basada en secuencias nucleares (ITS) y de plastidio (*trnTLF*) ha demostrado la monofilia del CBC (Columbus *et al* 1998, 2000, Siqueiros, 2001). No obstante, los resultados demuestran que la mayoría de las especies del complejo no constituyen grupos naturales, siendo *B. triaena* el único taxón monofilético. La hipótesis filogenética producida por las secuencias de ITS muestra tres clados bien definidos por sinapomorfias morfológicas. *Bouteloua curtipendula* es la especie mas polimorfica, y posee representantes en todos los clados de la filogenia (Siqueiros 2001).

Gould y Kapadia (1964) reconocieron tres variedades: *B. curtipendula* var. *curtipendula*, var. *caespitosa* y var. *tenuis*. Las tres variedades de esta especie presentan una calidad forrajera reconocida por excelencia, lo que las hace vulnerables al sobrepastoreo y a la sustitución por especies introducidas de menor calidad forrajera (Herrera *et al.*, 2004). *Bouteloua curtipendula* var. *curtipendula* ocurre en un amplio cinturón desde el sureste de Canadá a través de los pastizales y planicies del

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

centro de los Estados Unidos hasta Colorado, el sur de Utah, Texas, Nuevo México, Arizona y norte y centro de México. *Bouteloua curtipendula* var. *tenuis* se encuentra en todo el centro de México y la mayoría de los registros son de Tamaulipas, Durango y Jalisco. La tercera variedad, *caespitosa* es común en el suroeste de los Estados Unidos y el norte de México, ocasionalmente encontrándose a altitudes medias en el centro y sur de México, y también ha sido registrada en Venezuela, Bolivia, Uruguay, Argentina y Perú (Gould y Kapadia, 1964).

Bouteloua curtipendula var. *curtipendula* exhibe variación considerable a lo largo de su rango de distribución. La mayor variabilidad está presente en las plantas del suroeste donde hay una aparente evidencia de hibridación introgresiva entre *B. curtipendula* var. *caespitosa*, *B. uniflora* y *B. warnokii* (Gould y Kapadia 1964). Las diferencias mas sobresalientes son la altura de tallo, el número de tallos por planta, el número de inflorescencias, número de espiguillas por rama, tamaño de espiguillas, pubescencia y color de las hojas, ancho y grosor del láminas foliares así como el desarrollo del rudimento. En el suroeste el color de las anteras varía del típico rojo o rojo-anaranjado a naranja-amarillo, amarillo y algunos tonos de púrpura (Gould y Kapadia, 1964). Gould y Kapadia (1962), reportaron números cromosómicos tetraploides ($2n= 40$) y aneuploides ($2n= 41-64$) para poblaciones de la variedad *curtipendula*. Las plantas aneuploides son abundantes en el centro y oeste de Texas, en la región donde se traslapa la distribución de *B. curtipendula* var. *curtipendula* y *B. curtipendula* var. *caespitosa*. Se cree que estas plantas aneuploides resultaron de la hibridación de las dos variedades a lo largo de su línea de contacto (Gould y Kapadia, 1964).

En *B. curtipendula* var. *tenuis*, Gould y Kapadia (1964) distinguen dos diferentes formas morfológicas para el este y oeste de México. La mayoría de las plantas del este de México desarrollan estolones, no poseen rizomas, sus espiguillas son de color morado y sus anteras van de rojo a rojo-anaranjado. El conteo de cromosomas y el tamaño del polen indican que la mayoría de estas plantas son

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

diploides ($2n= 20$). Las plantas del oeste de México raramente desarrollan estolones pero usualmente son rizomatosas. Existen poblaciones diploides, tetraploides y aneuploides con dos a más tipos de estas en algunas localidades. El color de las espiguillas varía de café o color bronce a morado, pero el último es probablemente el más frecuente. Las plantas diploides con espiguillas café tienden a tener ramas con espiguillas numerosas y separadas. En todas las plantas del oeste el color de las anteras es amarillo, naranja o combinado (Gould y Kapadia, 1964).

Finalmente *Bouteloua curtipendula* var. *caespitosa*, comprende plantas cespitosas con números cromosómicos aneuploides. Las diferencias morfológicas y citológicas en estas plantas indican que han evolucionado por la hibridación de varias combinaciones de taxa diploides y tetraploides del complejo *Bouteloua curtipendula* (Gould y Kapadia, 1964; Siqueiros 2001). La reproducción se lleva a cabo por semilla, aunque la formación de semillas probablemente ocurre por procesos sexuales y apomícticos. Una variante mayor de esta variedad ocurre en el norte-centro de México desde Tamaulipas, Nuevo León, sur de Coahuila hasta Durango y México. Estas plantas tienen las bases del tallo nudosas, firmes y muy ramificadas. Los tallos son angostos y de bajos a moderadamente altos. Típicamente la inflorescencia es corta con pocas ramas, estas usualmente presentan de 1-3 espiguillas. Las espiguillas son de mayor tamaño y de color morado oscuro (Gould y Kapadia, 1964).

Algunos autores como McVaugh (1983), Columbus (1998) y Siqueiros (2001) han cuestionado la existencia de las tres variedades propuestas por Gould y Kapadia (1964). Es difícil distinguir entre las variedades por el patrón de variación morfológica, la alta incidencia de poliploidía, una posible hibridación y la apomixis (Siqueiros, 2001). *Bouteloua curtipendula* var. *caespitosa* y var. *tenuis* se caracterizan por ser densamente cespitosas y por la presencia de estolones, respectivamente. Sin embargo, no es fácil diferenciar entre estas dos variedades ya que ambas pueden presentar estolones y crecer simpátricamente en algunas localidades. Estas taxa son altamente variables y la mayoría de sus poblaciones son poliploides ($2n=40$ a 103).

Bouteloua curtipendula var. *curtipendula* es la variedad más fácil de reconocer por sus largos rizomas y por su distribución limitada al norte de los Estados Unidos.

La evidencia molecular de cloroplasto y núcleo muestran que *B. curtipendula sensu stricto* no constituye un grupo natural, ni tampoco sus variedades (Fig. 1, Siqueiros 2001). Las muestras de *B. curtipendula* incluidas en los análisis moleculares de ITS y *trnTLF*, aparecen dispersas en todos los clados de la filogenia, formando grupos con otras especies del CBC. *Bouteloua curtipendula* var. *curtipendula* es el taxón más homogéneo (diploide) y grupo hermano de *B. purpurea* (tetraploide). Por otro lado, con excepción de una colecta de *B. curtipendula* var. *caespitosa* de Coahuila ubicada en el clado basal, las otras dos variedades (*B. curtipendula* var. *tenius* y *caespitosa*) son poliploides ($2n= 40$ hasta >100 , Siqueiros 2001) y se agrupan en el clado más derivado. La forma plesiomórfica de esta especie, es diploide y comparte similitudes morfológicas con *B. repens* (putativo grupo hermano del CBC). Los datos moleculares no respaldan la separación de las tres variedades de *B. curtipendula*, poniendo de manifiesto el alto grado de homoplasia a que esta sujeta la especie y su gran polimorfismo morfológico y genético (Siqueiros, 2001).

Aunque la posición filogenética del CBC y en particular de *B. curtipendula* se ha explorado con más detalle, a nivel poblacional, el conocimiento que se tiene de las especies del complejo es prácticamente nulo. Se han hecho algunos estudios con AFLPs en *Bouteloua curtipendula* y otras especies de *Bouteloua* (Morales- Nieto *et al.* 2006, Potenza *et al.* 2007), siempre encaminados a establecer programas de mejoramiento genético para manejo de pastizales. No obstante, nada se ha publicado acerca del uso de AFLPs como herramienta filogenética para circunscribir poblaciones o taxa infraespecíficos.

El gran número y amplia distribución de los marcadores AFLPs a través del genoma proporcionan un estimado de la cantidad de variación genética a través de todo el genoma dentro y entre las regiones muestreadas, y permite investigar la

estructura genética de la especie a escala regional (Menchari, 2007). Se ha encontrado que los AFLPs tienen una amplia aplicación en el análisis de variación genética por debajo del nivel de especie, particularmente en investigaciones de variación genética dentro de poblaciones (Mueller y Wolfenbarger, 1999). Además, los marcadores AFLPs se han utilizado para evaluar introgresiones y casos de hibridación tales como los que presenta *B. curtipendula*. La alta resolución de los AFLPs también permite descubrir variación genética críptica entre especies íntimamente relacionadas, que ha sido imposible de resolver mediante caracteres morfológicos tal como la problemática presentada en este proyecto. Para especies relacionadas, los AFLPs también se han usado para inferir relaciones filogenéticas basadas en medidas de distancia genética (Mueller y Wolfenbarger, 1999).

Es importante mencionar que, al combinar los datos de AFLPs y los datos de secuencias de ADN pueden resultar filogenias muy robustas posiblemente porque el efecto complementario de los diferentes datos que proveen resolución a diferentes profundidades del árbol, así como el número total de caracteres disponibles para el análisis filogenético (Meudt y Clarke, 2007). Hersch-Green y Cronn (2009) examinaron los patrones de hibridación morfológica y genética molecular en *Castilleja* utilizando AFLPs para identificar híbridos y para dilucidar procesos genéticos poblacionales que involucraran hibridación. Los estudios previos de Menchari *et al.* (2007) usando AFLPs en el pasto *Alopecurus myosuroides* han demostrado la alta eficiencia de estos marcadores moleculares para distinguir poblaciones o grupos de poblaciones.

Por otro lado, la estimación de las relaciones genealógicas entre genes a nivel poblacional presenta varias dificultades cuando se usan los métodos filogenéticos típicos. Estos métodos tradicionales tales como parsimonia, neighbour-joining y maximum likelihood hacen suposiciones que son inválidas a nivel poblacional. Por ejemplo, estos métodos asumen que los haplotipos ancestrales ya no existen en la población, sin embargo, la teoría coalescente predice que los haplotipos ancestrales

serán las secuencias más ampliamente muestreadas en una población (Watterson y Guess, 1977; Donnelly y Tavare 1986; Crandall y Templeton, 1993). Los métodos tradicionales requieren de altos números de caracteres variables para reconstruir relaciones de manera exacta (Huelsenbeck y Hills 1993) y estudios a nivel interespecífico normalmente carecen de esta variación. También, la recombinación es una posibilidad real entre secuencias a nivel poblacional y los métodos tradicionales asumen que no ocurre la recombinación. El hecho de que no se pueda incorporar la posibilidad de recombinación al reconstruir filogenias, puede dar lugar a graves errores en las filogenias resultantes. La combinación de estos efectos puede provocar que métodos de parsimonia infieran un gran número de árboles más parsimoniosos con baja resolución (Excoffier y Smouse, 1994). Por lo tanto, se necesita un enfoque alternativo que tome en cuenta los fenómenos que ocurren a nivel poblacional mencionados, para así poder obtener estimaciones de genealogías genéticas más exactas a nivel poblacional. El método de Templeton *et al.* (1992) (TCS) ha sido utilizada con datos de secuencias de nucleótidos y de sitios de restricción para inferir genealogías a nivel poblacional cuando las divergencias son bajas (Georgiadsis *et al.*, 1994; Gerber y Templeton 1996; Gomez-Zurita *et al.*, 2000). Por esta razón se llevó a cabo el análisis de redes de haplotipos.

Dada la gran variación morfológica y genética en las poblaciones de *B. curtipendula*, así como la artificial circunscripción de este taxon mostrada por la evidencia molecular, se pone de manifiesto la necesidad de buscar una herramienta con mas resolución para separar los diferentes haplotipos presentes en *B. curtipendula*, así como la relación entre los mismos, por ello los objetivos del presente estudio fueron determinar la diversidad genética de las diferentes poblaciones de *Bouteloua curtipendula* mediante marcadores intra e interespecíficos, para establecer sus patrones biogeográficos, así mismo, delimitar la circunscripción de la especie y de sus variedades.

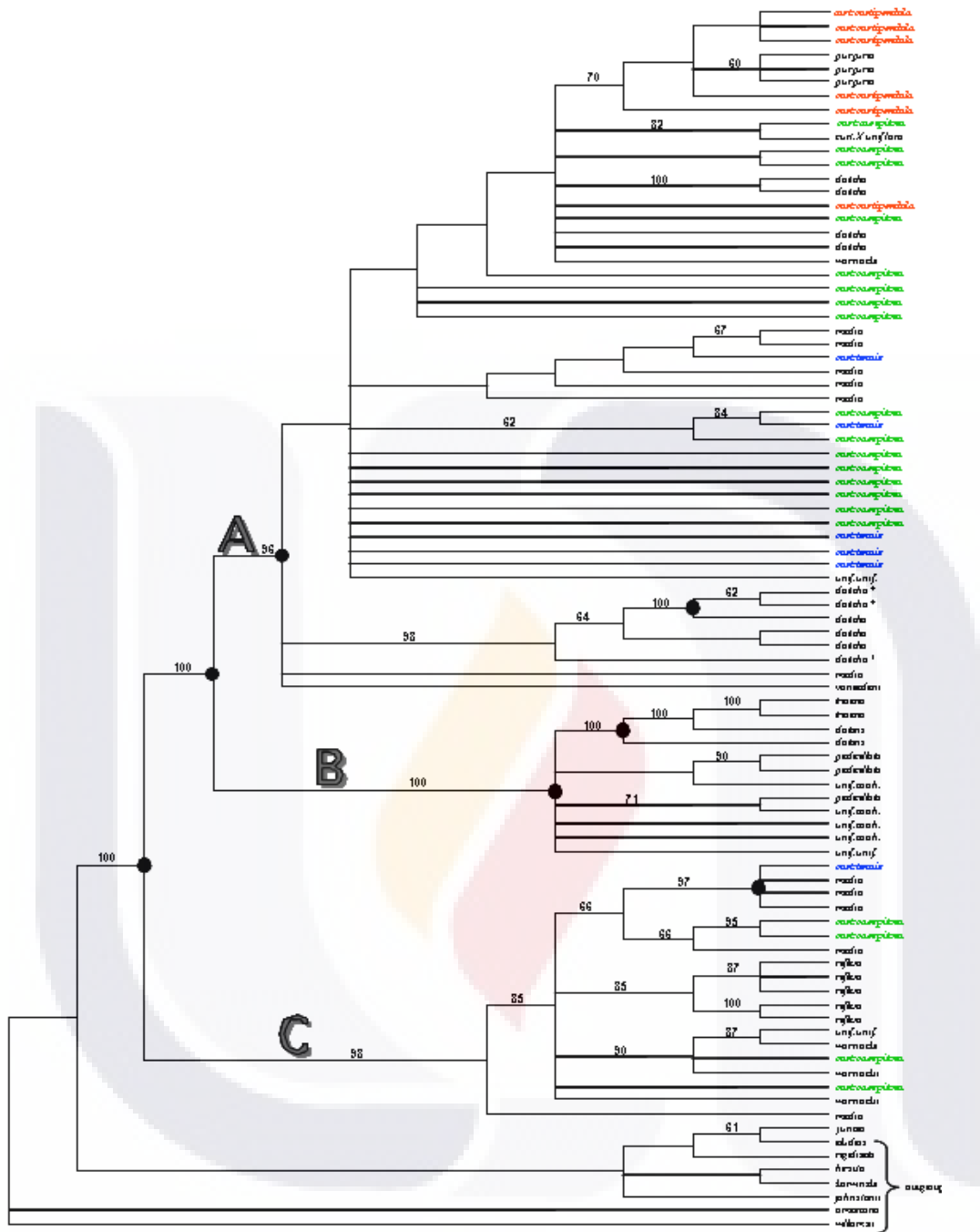


Figura 1. Consenso estricto de mas de los 100,000 árboles mas parsimoniosos resultantes de un análisis de PAUP* combinando el análisis ITS y *trn*TLF del complejo *Bouteloua curtipendula* (CBC) (Siqueiros, 2001) En rojo, *Bouteloua curtipendula* var. *curtipendula*, en verde *B. curtipendula* var. *caespitosa*, en azul *B. curtipendula* var. *tenuis*, en negro el resto de las especies de CBC .

MATERIAL Y METODOS

Trabajo de Campo y selección de muestras. Se colectaron individuos representativos las diferentes poblaciones naturales de *Bouteloua curtipendula* y especies relacionadas como *B. uniflora*, *B. pedicellata* y *B. purpurea* de los estados de Aguascalientes, Coahuila, Guanajuato, Jalisco, Querétaro y Zacatecas. Se colectaron vouchers de respaldo para herbario así como muestras de hoja para extracción de ADN preservadas en silica gel. Además se usaron las colectas de las especies del CBC de la Dra. María Elena Siqueiros y del Dr. Travis Columbus para abarcar toda el área de distribución de la especie (Anexo 1). Para las secuencias se seleccionaron muestras previamente extraídas e incluidas en el trabajo de Siqueiros (2001) con el fin de poder comparar sus resultados con los de este estudio, no obstante, en muchas muestras el DNA estaba degradado, por lo que se tuvieron que incluir nuevas muestras de las mismas especies. Aunque lo ideal hubiera sido incluir exactamente las mismas muestras secuenciadas para los AFLPs, de estas solo se pudieron incluir 21 individuos de los incluidos en los análisis de ITS y plastidio y el resto de las muestras fueron nuevas colecciones.

Identificación y matriz de datos morfológicos. Los vouchers se identificaron por medio de claves taxonómicas (Gould y Kapadia, 1964) y se realizó una base de datos de los caracteres morfológicos de estos (Anexo 2) para así poder definir los caracteres morfológicos que pudieran estar asociados a los diferentes haplotipos, así como características de identificación más útiles que las que se han usado tradicionalmente.

Marcadores moleculares. Con el objeto de dar mas soporte o robustes a la hipótesis filogenética del CBC y de entender con mayor claridad la diversidad genética de *B. curtipendula* y de su relacion con las otras especies del CBC, se usaron dos marcadores moleculares de diferente nivel de resolución. Por un lado se usaron secuencias de plastidio (*trnTLF*, *trnC-rpoB*) y de núcleo (ITS) para determinar las relaciones de los diferentes haplotipos de *B. curtipendula* con las otras especies del complejo, además

de AFLPs para determinar la variación genética entre las poblaciones de *Bouteoua curtispindula* y de esta forma establecer los diferentes haplotipos que se presentan en la especie.

Trabajo de Laboratorio.

EXTRACCIÓN DE ADN. Se utilizó el kit DNeasy Plant Mini de Qiagen para procesar 88 de las muestras previamente colectadas. Se molieron aproximadamente 10 mg de hojas secas que fueron tratadas siguiendo el protocolo del kit con ligeras modificaciones. Dos μL del producto fue electroforado en un gel de agarosa al 8% teñido con bromuro de etidio para verificar el éxito de la extracción del ADN. Por medio de un espectrofotómetro se cuantificó el ADN para ser diluido a 10 ng/mL en agua destilada estéril.

AMPLIFICACIÓN Y SECUENCIACIÓN. La amplificación y secuenciación de las muestras se llevó a cabo en el laboratorio del Rancho Santa Ana Botanic Garden en Claremont, California. La selección de muestras se realizó eligiendo un representante de cada especie de todos los clados resueltos en la hipótesis filogenética del CBC de Siqueiros (2001), dando un total de 63 muestras. Dichas muestras ya tenían secuenciado tanto el loci ITS (núcleo) como el *trnT-L-F* [plastidio (Siqueiros, 2001)]. Asimismo se eligieron 14 de las muestras más representativas de la colección realizada para este proyecto.

Las reacciones de amplificación contenían 1.5 μL de buffer 10X, 1.25 μL MgCl_2 (25 mM), 1.25 μL dNTPs (2.5 mM cada NTP), 1.25 μL de cada primer (forward y reverse), 0.625 unidades de Taq polimerasa, 0.25 μL de BSA (para regiones de plastidio) y 0.25 μL de DMSO (para regiones nucleares) y 1 μL de DNA a un volumen final de 25 μL . Las condiciones de la reacción para *trnC-rpoB* fueron 94°C por 4 min (ciclo de desnaturalización inicial) de 30-35 ciclos a 94°C por 1 min, 56°C por 1 min 30 s, 72°C por 2 min y un ciclo de extensión final de 72°C por 7 min. Las condiciones utilizadas en las otras dos regiones fueron las mismas, exceptuando la de

apareamiento que para ITS fue de 60°C por 1 min y para trnT-L-F de 52°C por 2 min. Se corrieron 2 µL del producto de PCR en geles de agarosa al 1% con buffer TBE usando el colorante SYBR GREEN para verificar que el tamaño de los productos de la amplificación fueran los esperados. El producto de amplificación fue purificado por precipitación en polietilenglicol (PEG). Se utilizaron los 25 µL obtenidos en el PCR añadiendo 75 µL de TE y 100 µL de PEG.

La reacción de ciclo-secuenciamiento fluorescente (a una concentración de 1/8), se realizó con 4 µL buffer de secuenciación 5X, 1 µL de Big DyeIII, 1 µL del primer (1.6 pm/µL) + 1 mL del producto de PCR purificado a un volumen final de 20 µL. Las condiciones de la reacción fueron 35 ciclos a 96°C por 30 s, 50°C por 15 s y 60°C por 4 min. Antes de ser procesadas en el secuenciador, los productos del ciclo-secuenciamiento se limpiaron en columnas usando gel de dextrano Sephadex G-50 fino hidratado. Las muestras limpias se colocaron en un plato para ser procesados en el secuenciador ABI PRISM 3130xl DNA Sequencer. Se secuenció un total de 78 muestras para el loci de plastidio *trnC-rpoB*, seleccionado en base a la alta informatividad encontrada por Shaw *et al.* (2005). Además, 17 de las muestras no habían sido previamente secuenciadas para el loci ITS y 14 para el loci *trnTLF* por lo que fueron secuenciadas.

Debido a que algunos individuos son poliploides fue necesario clonar su material genético para poder secuenciarlo. Los individuos que fueron clonados se muestran en el Cuadro 1. Se utilizó el kit TA Cloning Kit de Invitrogen. Se ligó el fragmento deseado al vector pCR 2.1 del kit siguiendo el protocolo incluido en el mismo, utilizando la mitad de las cantidades propuestas por éste. La reacción contenía 0.5 µL de buffer, 1 µL del vector pCR 2.1, 2 µL de H₂O destilada estéril, 0.5 µL de ligasa T4DNA y 2 µL del producto de amplificación purificado. Induciendo el choque térmico, se transformaron las células competentes de *E. coli* (incluidas en el kit) utilizando 1 µL del producto de ligación. Se inocularon en cajas petri con medio LB al que se le añadió ampicilina y X-Gal. Un día después, se seleccionaron algunas colonias blancas para ser

amplificadas utilizando los primers M13F y M13R. Se prosiguió con el mismo protocolo usado para secuenciación.

AFLPs. El procedimiento se llevó a cabo en el laboratorio del INIFAP campo experimental del Bajío en Celaya, Guanajuato, de acuerdo al protocolo estándar de Vos *et al.* (2005). Se seleccionaron 40 de las muestras secuenciadas por la calidad de su ADN. Se digirieron 10 μL de ADN (10 ng/ μL) a 37°C por 2 h. La reacción de restricción contenía 5 unidades de EcoRI y 5 unidades de TruI y buffer 1 X dando un volumen final de 25 μL . Los adaptadores se ligaron a 37°C por 9 h. La reacción de ligación contenía 1 unidad de ADN ligasa, 1 μL de cada adaptador (EcoRI y MseI), 1.2 μL de ATP 10 mm, 1 μL de buffer R/L 5X y los 25 μL resultantes de la reacción de digestión dando un volumen total de 35 μL . El producto de digestión–ligación se diluyó 1:10. La amplificación pre–selectiva por PCR se llevó a cabo añadiendo una base selectiva en el extremo 3' de cada primer (EcoRI–A y MseI–C). Cada reacción contenía 0.2 mm dnTPs, 50 ng de cada primer, 2 unidades de Taq DNA polimerasa, 1X buffer Taq DNA polimerasa y 5 μL del producto de restricción- ligación diluido dando un volumen final de 20 μL . Las condiciones de la reacción fueron: un ciclo de desnaturalización inicial a 94°C por 2 min, seguido por 20 ciclos a 94°C por 30 s, 56°C por 1 min, 72° C por 1 min y un ciclo de extensión final a 72 C por 5 min. El producto de pre-selección se diluyó 1:40 con H₂O. La amplificación selectiva se realizó con primers EcoRI marcados con los colorantes infrarrojos LI–COR IR–Dye 700 fosforamidita e IRDye 800 fosforamidita respectivamente, y primers MseI sin marcar. La secuencia de los primers selectivos es semejante a la de los primers pre-selectivos, con la adición de 2 nucleótidos variables en el extremo 3'. La reacción de amplificación selectiva contenía 1 μL de buffer de PCR 10X, 2.5 pmol del primer MseI + 3, 0.5 pmol de los primers marcados (EcoRI+3), 0,2 mm dnTPs, 1 unidad de Taq DNA polimerasa y 3 μL del producto de la amplificación preselectiva diluido. Las condiciones de la reacción de amplificación fueron: un ciclo de 94°C por 2 min 30 seg, 65°C 30 seg, 72°C por 1 min seguido de 12 ciclos de 94°C por 30 s, 65°C por 30 s (disminuyendo 0.7°C cada ciclo) y 72°C por 1 min, seguido por 23 ciclos 94°C por 30 seg, 56°C por 30 seg, 72°C por 1 min, con un ciclo de extensión final de 72°C por 5 min. Se cargó 1 μL de cada muestra en un gel de acrilamida al 6.5% en

buffer TBE 1X y se corrieron en un secuenciador LI-COR IR2 DNA Sequencer. Las imágenes son visualizadas con el software SAGA Generation 2. Las imágenes se procesaron utilizando CrossChecker (Wageningen UR, 2010), FreeTree (Pavlicek y Flegr, 2001) y Tree View (Page, 1996).

ANÁLISIS FILOGÉNÉTICOS. Para el análisis cladístico, se incluyeron 53 secuencias de las 11 especies que forman el complejo, y nueve fueron usadas como grupo externo (*B. chondrosioides*, *B. dactiloydes*, *B. hirsuta*, *B. johnstonii*, *B. juncea*, *B. rigidiseta* y *B. williamsii*). Una vez obtenidas las secuencias, se ensamblaron y editaron en los programas Sequencher (Gene Codes Corp., 2009) y Geneious (Drummond, 2009). Se construyeron matrices para alinear las secuencias con el programa Se-Al Carbon v2.0 (Rambaut, 2007). Con el objeto de aumentar el número de caracteres informativos, los indeles fueron codificados como ausencias y presencias al final de la matriz, siguiendo las indicaciones de Simmons and Ochoterena (2000). Estas matrices fueron analizadas individualmente y combinadas, con el programa PAUP* (Swofford, 1999) por el método de parsimonia con búsqueda heurística. El modelo de evolución molecular TPM1uf+I+G, fue seleccionado usando el método AIC implementado en Modeltest v3.06 (Posada and Crandall 1998). Los caracteres fueron tratados como desordenados, con el mismo peso, y optimizados vía transformación acelerada. Cuando se tenían varios nucleótidos en el mismo sitio se tomaron como polimorfismos, y los indeles fueron tratados como faltantes. Para dar soporte a la hipótesis se llevó a cabo un análisis de bootstrap de 1000 réplicas.

Para los AFLPs, las imágenes se procesaron utilizando JelMarker (Softgenetics, 2010), GeneMarker (Softgenetics, 2010) y CrossChecker (Wageningen UR, 2010). La presencia (1) o ausencia (0) de bandas específicas resultantes, se transformaron en una matriz binaria. La matriz de similaridad se calculó con FreeTree y se construyó un dendrograma para agrupar las diferentes variantes. La diversidad genética se estimó mediante un análisis de Neighbor Joining (NJ) usando el índice de distancias de Dice (Dice, 1945) adaptado para sitios de restricción (datos moleculares) por Nei y Li

(1985), y el dendrograma obtenido fue visualizado por Tree View (Page, 1996). Los árboles resultantes tanto del análisis cladístico como del fenético fueron editados en Fig Tree v1.3.1 (Rambaut, 2007).

Se llevó a cabo un análisis de red de haplotipos (Clement et al 2000) con las secuencias de ITS, para determinar los diferentes haplotipos presentes en *Bouteloua curtipendula* y su relación con las hipótesis filogenéticas generadas por el análisis cladístico y las agrupaciones del dendrograma de AFLPs. El análisis se llevó a cabo con el programa TCS v1.21 (Clement *et al.*, 2000) para estimar genealogías de genes.

RESULTADOS.

Las secuencias alineadas de ITS, platidio (*trnTLF — trnC-rpoB*) y combinada, se pueden observar en los Apéndices 3, 4, y 5, respectivamente.

ITS. Para ITS, la longitud total de las secuencias alineadas incluyendo los indeles codificados fue de 626 caracteres. El alineamiento no fue ambiguo. De los 626 caracteres, 349 son constantes y 154 son informativos (Cuadro 1). La codificación de indeles produjo nueve sitios parsimoniosamente informativos adicionales para el análisis. La búsqueda heurística localizó 16207 árboles mas parsimoniosos de 635 pasos, un IC=0.522. El consenso estricto (Fig. 2) reveló la monofilia del complejo con un soporte del 100% bootstrap. Se resolvieron dos clados bien definidos (A y B) y fuertemente soportados con un bootstrap de 100%, no obstante, las relaciones internas de los taxa permanecieron sin aclararse. *Bouteloua curtipendula* se encuentra distribuido a través de ambos clados.

Cuadro 1. Resumen de la información de los datos y resultado de los análisis.

	ITS	trnC-rpoB/ trnTLF	ITS /trnC-rpoB/ trnTLF
No. taxa	90	63	67
Longitud de las secuencias alineadas	634	3135	3788
Inserciones/ deleciones codificadas	9	34	443
Caracteres variables	291	134	298
Caracteres informativos parsimonia	162	134	298
Árboles mas parsimoniosos	16207	27445	42671
Longitud del árbol	635	570	1264
Índice de consistencia	0.522	0.502	0.481

Clado A. El clado A (100% bootstrap), es el primero en diversificarse. Incluye tres secuencias de *B. curtispindula* var. *caespitosa* (4490 y 4483 de Coahuila y 3314 de Texas), una de *B. curtispindula* var. *tenuis* de Perú, *B. media* de Sudamérica y Oaxaca (2420, 3468, 4533, de Costa Rica, Peru y Oaxaca, respectivamente), *B. uniflora* var. *uniflora* de Texas, y *B. warnockii* (1492 de Coahuila y 3282 de Nuevo México). La secuencia de *B. media* (2420) de Oaxaca, es la primera en diversificarse y grupo hermano del resto de las accesiones del clado A, las cuales forman un grupo con 92% de soporte. A su vez, este clado se subdivide en otras dos asociaciones, uno con 90% de soporte que incluye a *B. warnockii* como el mas divergente del clado, mas dos subgrupos, uno formado *B. curtispindula* var. *caespitosa* — *B. media* de Costa Rica, y el otro (92% de bootstrap) con dos accesiones de Perú, *B. curtispindula* var. *tenuis* — *B. media*. La otra asociación esta formada por *B. reflexa* como taxa hermano del resto de los miembros del grupo, y el clado (86% de soporte) *B. curtispindula* var. *caespitosa* (4490) — *B. warnockii* (3282) — *B. uniflora* var. *uniflora* (2901) — *B. curtispindula* var. *caespitosa* (3314). Las tres últimas formando un clado con 98% de soporte, y *B. uniflora* var. *uniflora* — *B. curtispindula* var. *caespitosa* con un bootstrap de 70%.

Clado B. El clado B está formado por dos subclados B1 y B2. El subclado B1 (98% bootstrap) presenta una politomía formada por accesiones de *B. uniflora* var. *coahuilensis* de Aguascalientes y Coahuila (4531 y 4449) y *B. uniflora* var. *uniflora* de Texas (3319), *B. pedicellata* de Puebla (2634), mas una accesión de *B. curtipendula* var. *caespitosa* (4530). Este clado incluye también al grupo fuertemente soportado (100% bootstrap) de *B. distans* (4449) y *B. triaena* (4587). El subclado B2 (97% bootstrap) esta compuesto por la asociación de *B. disticha* de Sudamérica (98% soporte), el cual es el mas divergente y hermano de una politomía (73% soporte), formada por la mayoría de las accesiones de *B. curtipendula*, que incluye a su vez dos accesiones independientes de *B. curtipendula* var. *caespitosa* (128 y 1334) mas otra de *B. media* (4511) del centro de México, otra politomía solo con accesiones de *B. curtipendula*, las accesiones 116 y 188 unidas con un 94% de soporte, mas un grado que finaliza con un clado poco resuelto (72% soporte) que incluye *B. curtipendula*, *B. disticha* de México *B. purpurea* y *B. vaneedenii*. *Bouteloua vaneedenii*, y accesiones de *B. curtipendula* var. *curtipendula*, *B. purpurea* mas otra de *B. curtipendula* var. *caespitosa* (152), forman otro clado medianamente soportado (63% de bootstrap), *B. curtipendula* var. *caespitosa* (152) y *B. purpurea* se agrupan con un 60% de soporte.

Con las secuencias de ITS se clonaron 10 accesiones pertenecientes a cuatro especies, tres putativas muestras diploides —*B. triaena*, *B. uniflora* y *B. vaneedenii*— y *B. curtipendula* la cual presenta poblaciones diploides y poliploides (Gould 1980, Siqueiros 2001). Se encontró una sola copia en los supuestos diploides, mientras que el número de copias encontradas en *B. curtipendula* variaron de dos a cinco (Cuadro 2).

Cuadro 2. Número de copias diferentes de ITS de las muestras clonadas.

Taxon	Colector, numero	No de copias ITS
<i>B. curtipendula</i> var. <i>caespitosa</i>	Palomeque 152	2
<i>B. curtipendula</i> var. <i>caespitosa</i>	Palomeque 116	5
<i>B. curtipendula</i> var. <i>caespitosa</i>	Palomeque 118	5
<i>B. curtipendula</i> var. <i>caespitosa</i>	Palomeque 128	4
<i>B. curtipendula</i> var. <i>tenuis</i>	Palomeque 108	3
<i>B. curtipendula</i> x <i>uniflora</i>	Palomeque 130	3
<i>B. curtipendula</i> x <i>uniflora</i>	Palomeque 177	3
<i>B. uniflora</i> var. <i>uniflora</i>	Palomeque 161	1
<i>B. triaena</i>	Columbus 4587	1
<i>B. vaneedenii</i>	Siqueiros 4685	1

Plastidio (*trnTLF/trnC—rpoB*). Para el análisis combinado de plastidio (*trnTLF/trnC—rpoB*), la longitud total de las secuencias alineadas incluyendo los indeles codificados fue de 3135 caracteres. El alineamiento no fue ambiguo. De los 3135 caracteres, 2754 son constantes y 134 son informativos. La codificación de indeles produjo 34 sitios parsimoniosamente informativos adicionales para el análisis. La búsqueda heurística localizó 27445 árboles mas parsimoniosos de 570 pasos, un IC= 0.502 (Cuadro 2). El consenso estricto (Fig. 3) evaluó la monofilia del complejo con un soporte del 100% bootstrap. La hipótesis filogenética de plastidio tuvo menos resolución que la de ITS. No obstante, el clado B resultante en la hipótesis de ITS se mantiene muy similar en esta hipótesis con un soporte del 79%. El clado B1 se mantiene con los mismos representantes que en la hipótesis de ITS, aunque sin resolver, excepto las accesiones *B. curtipendula* var. *caespitosa* 4530 y *B. uniflora* var. *coahuilensis* 4531 que están unidas con un soporte de 89%. El clado B2 presenta un soporte de 70% bootstrap, mas bajo que el de ITS cuyo soporte fue de 97%, y aunque no resuelto ni con soporte, el hecho de que incluya exactamente las mismas accesiones que la hipótesis del ITS, le proporciona un cierto grado de soporte. A pesar de que el clado A no se presenta en esta hipótesis, pequeños subclados correspondientes a los encontrados en el clado A de la hipótesis de ITS y combinada

están presentes. Las dos muestras de Perú están unidas con un 83% de soporte (*B. curtipendula* var. *tenuis* 3465 y *B. media* 3468), al igual que *B. curtipendula* var. *caespitosa* (4483) de Coahuila y *B. media* (4533) de Costa Rica se unen con un 86% de bootstrap.

Análisis combinado (ITS/*trn*TLF/*trn*C-*rpo*B). Para el análisis combinado de núcleo (ITS) y plastidio (*trn*TLF y *rpo*B-*trn*C), la longitud total de las secuencias alineadas incluyendo los indeles codificados fue de 3788 caracteres. El alineamiento no fue ambiguo. De los 3788 caracteres, 3103 son constantes y 298 son informativos. La codificación de indeles produjo 43 sitios parsimoniosamente informativos adicionales para el análisis. La búsqueda heurística localizó 4267 árboles más parsimoniosos de 1264 pasos y un IC= 0.481 (Cuadro 2). El consenso estricto (Fig. 4) demostró la monofilia del complejo con un soporte del 100% bootstrap. La hipótesis combinada resuelve un poco más la topología del árbol y mantiene los mismos clados principales que la hipótesis de ITS con un soporte del 100%, sin embargo, los valores de bootstrap no son muy altos en las asociaciones internas.

Clado A. El clado A presenta un soporte de 100% de bootstrap, e incluye exactamente los mismos taxa que la hipótesis de ITS. *Bouteloua media* (2420) de Oaxaca se mantiene como la accesión más divergente y hermana de un clado con un 89% de soporte, también producido en la hipótesis de ITS. Este clado está formado por una politomía con dos accesiones independientes de *B. reflexa* y *B. warnockii* (1492), los dos clados formados en plastidio: uno con las dos muestras de Perú (*B. curtipendula* var. *tenuis* 3465 y *B. media* 3468 [98% de soporte]) y otro con la unión de *B. curtipendula* var. *caespitosa* (4483) de Coahuila y *B. media* (4533) de Costa Rica (97% de bootstrap). El otro integrante de esta politomía (72% de bootstrap) incluye dos accesiones de *B. curtipendula* var. *caespitosa* (4490 y 3314), *B. warnockii* (3282) y *B. uniflora* var. *uniflora* (2901).

Clado B. El clado B1 (100% bootstrap), también incluye a las mismas accesiones del clado B1 de hipótesis de ITS, con dos asociaciones fuertemente soportadas, *B. triaena* — *B. distans* (98% bootstrap) y *B. curtispindula* var. *caespitosa* — *B. uniflora* var. *coahuilensis* (90% bootstrap), también presentes en la filogenia de ITS y plastidio, respectivamente. De la misma manera que en las hipótesis de ITS y de plastidio, el clado B2 (100% bootstrap) en este análisis, incluye casi las mismas accesiones que las dos hipótesis antes descritas, con un ligero aumento en resolución y soporte. Esta formado por el mismo clado de *B. diticha* de sudamérica presente en ITS, y basal con respecto al resto de los miembros del grupo. Aunque el clado esta mas resuelto, solo pocas asociaciones tienen soporte, una de ellas es la unión de dos accesiones de *B. curtispindula* var. *caespitosa* (116 y 118) de Coahuila (96% bootstrap). Otra asociación esta compuesta por las accesiones 4471 y 150 tambien de *B. curtispindula* (72% de soporte), y un clado con 76% de soporte, formado por dos subclados mas una accesion basal de *B. curtispindula* var. *caespitosa* (152). Uno de los subclados (78% bootstrap) incluye cinco accesiones de *B. curtispindula* (2331, 2124, 1307,177, y 130), y el otro grupo (83% bootstrap) incluye una politomía con dos accesiones de *B. disticha* de Mexico y Costa Rica mas un grupo sin reslover (80% soporte) que incluye la unión de las dos muestras de *B. purpurea* (97% soporte) mas la unión de las tres accesiones de *B. curtispindula* var. *curtispindula* (62% bootstrap), aunque su soporte no es muy alto.

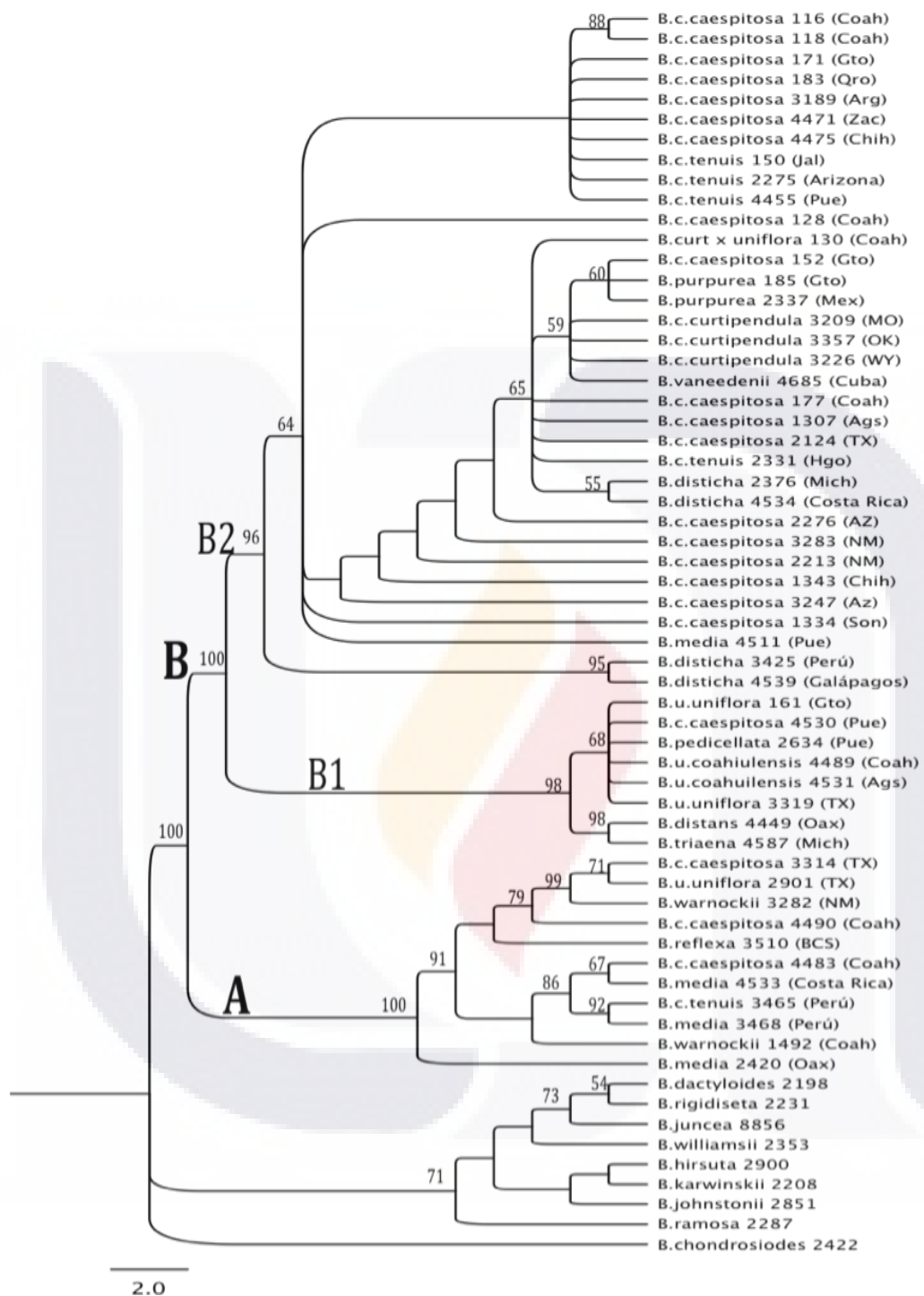


Figura 2. Hipótesis filogenética del CBC resultante de un análisis de PAUP* del análisis de ITS. Los resultados del Bootstrap se indican sobre las ramas.

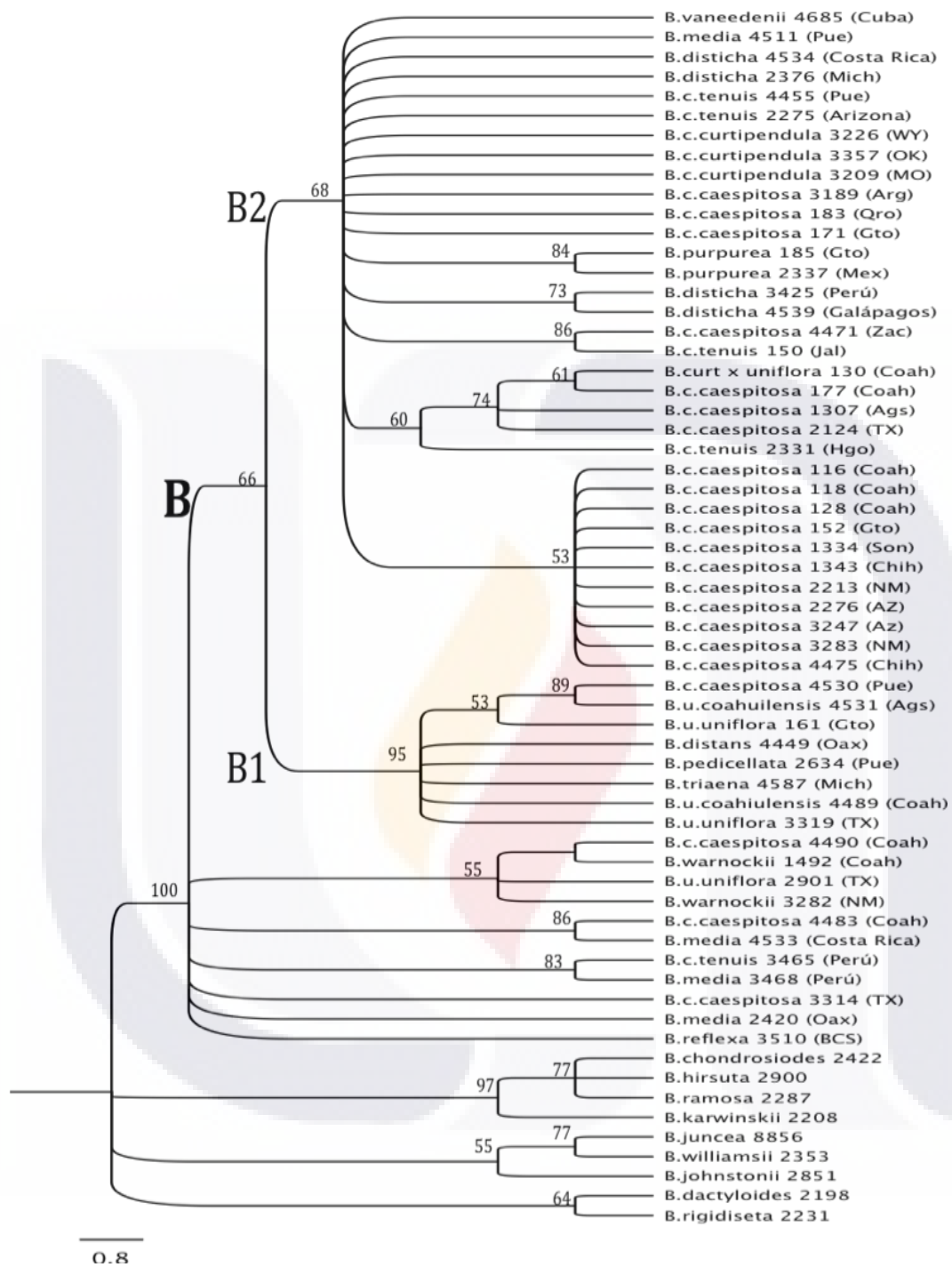


Fig 3. Hipótesis filogenética del CBC resultante de un análisis de PAUP* cambiando el análisis *trnTLF* y *trnC-rpoB*. Los resultados del bootstrap se indican sobre las ramas.

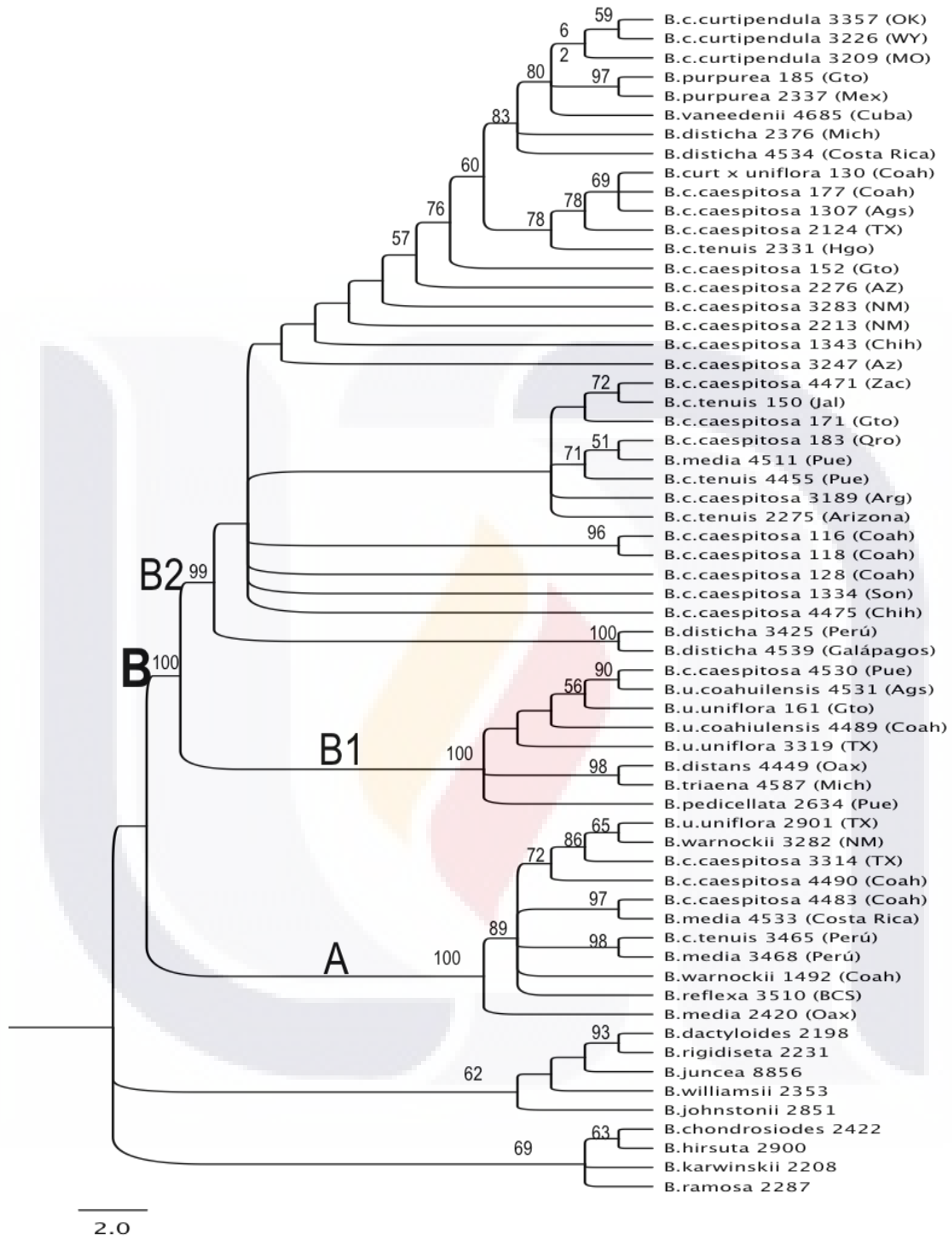


Fig 4. Hipótesis filogenética del CBC resultante de un análisis de PAUP* combinando el análisis ITS, *trnTLF* y *trnC-rpoB*. Los resultados del Bootstrap se indican sobre las ramas.

AFLPs. Seis combinaciones de iniciadores amplificaron 431 bandas de marcadores de AFLP de las cuales el 98.6 % fueron polimórficas (Cuadro 3, Fig. 5). Los fragmentos variaron de 52 a 92 bandas. El número de bandas polimórficas mas alto fue en *EcoRI-ACG+MseI-CAA* de 90 bandas, mientras el mas bajo fue en *EcoRI-AAC+MseI-CAA* con 52 bandas. Los fragmentos monomórficos en las combinaciones variaron de cero a tres (Cuadro 3).

Cuadro 3. Combinaciones de iniciadores de marcadores de AFLP utilizadas en este estudio.

Combinación de iniciadores	Total de bandas	Total de bandas polimórficas	Porcentaje de polimorfismo (%)	Total de bandas monomórficas
<i>EcoRI-GAC+MseI-CAA</i>	85	85	100	0
<i>EcoRI-AGC+MseI-CAA</i>	65	62	95.4	3
<i>EcoRIACC-+MseI-CAA</i>	73	72	98.6	1
<i>EcoRI-AAC+MseI-CAA</i>	52	52	100	0
<i>EcoRI-ACA+MseI-CAA</i>	64	64	100	0
<i>EcoRI-ACG+MseI-CAA</i>	92	90	97.8	2
Total	431	425		6
Promedio			98.6	1

El dendrograma resultante presenta dos grupos, I y II (Fig. 6). El grupo I esta formado por la mayoría de las especies incluidas en el análisis — *B. americana*, *B. disticha*, *B. media*, *B. radicata*, *B. reflexa*, *B. triaena*, *B. uniflora* var. *caohuilensis* y *B. warnockii* — mas dos accesiones de *B. curtipendula* var. *caespitosa* 4534 y 4530 de Coahuila y Puebla, respectivamente. La única especie no incluida en el grupo I (que no es *B. curtipendula*) es *B. purpurea*. El grupo II incluye 27 de 29 accesiones de *B. curtipendula* incluidas en el estudio mas *B. purpurea*, e incluye cuatro subgrupos no congruentes con las hipótesis de secuencias de núcleo y de plastidio.

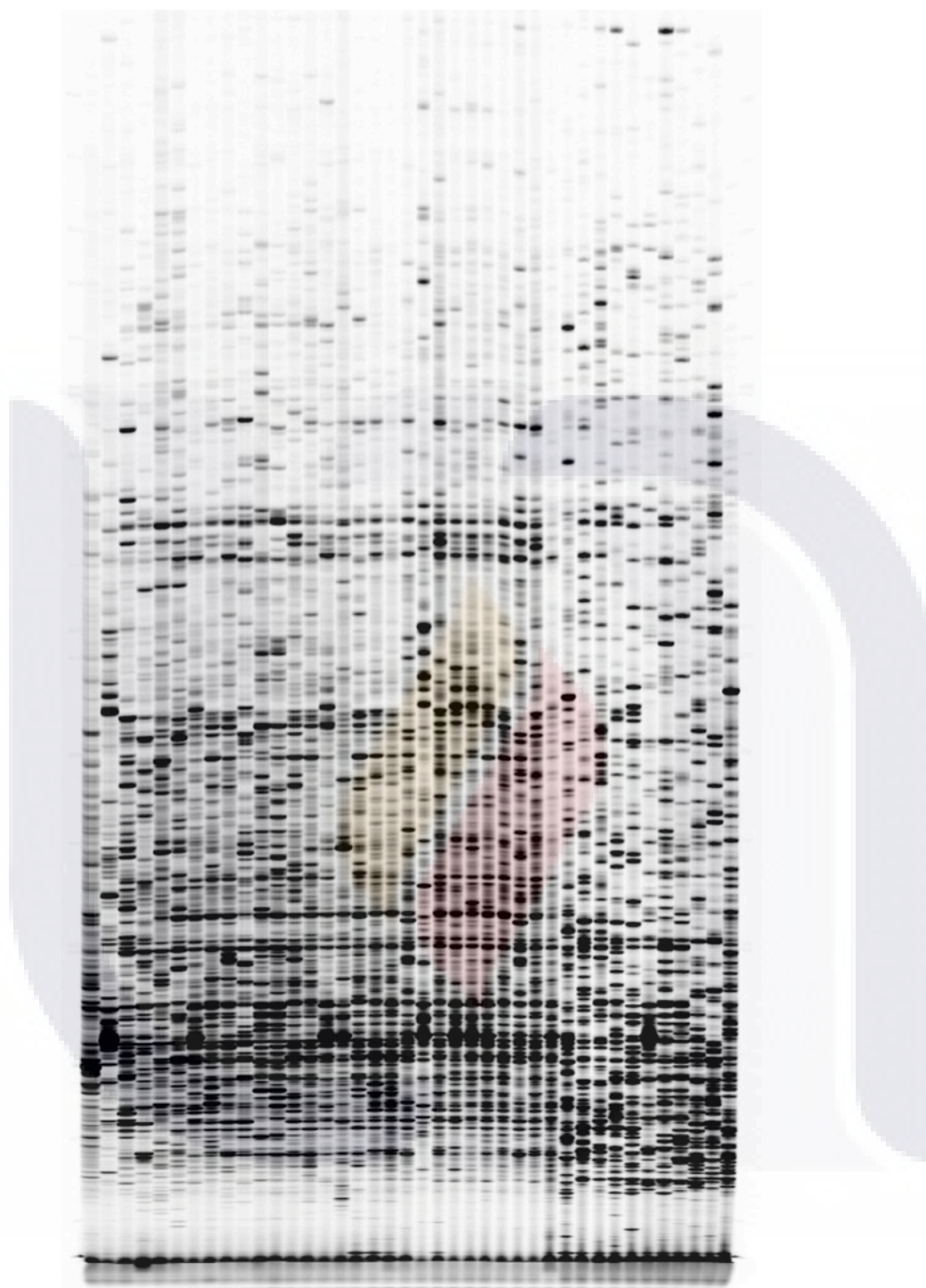


Fig. 5. Gel de acrilamida de la combinación de iniciadores EcoRI – AGC + MseI-CAA, mostrando un alto porcentaje de bandas polimórficas.

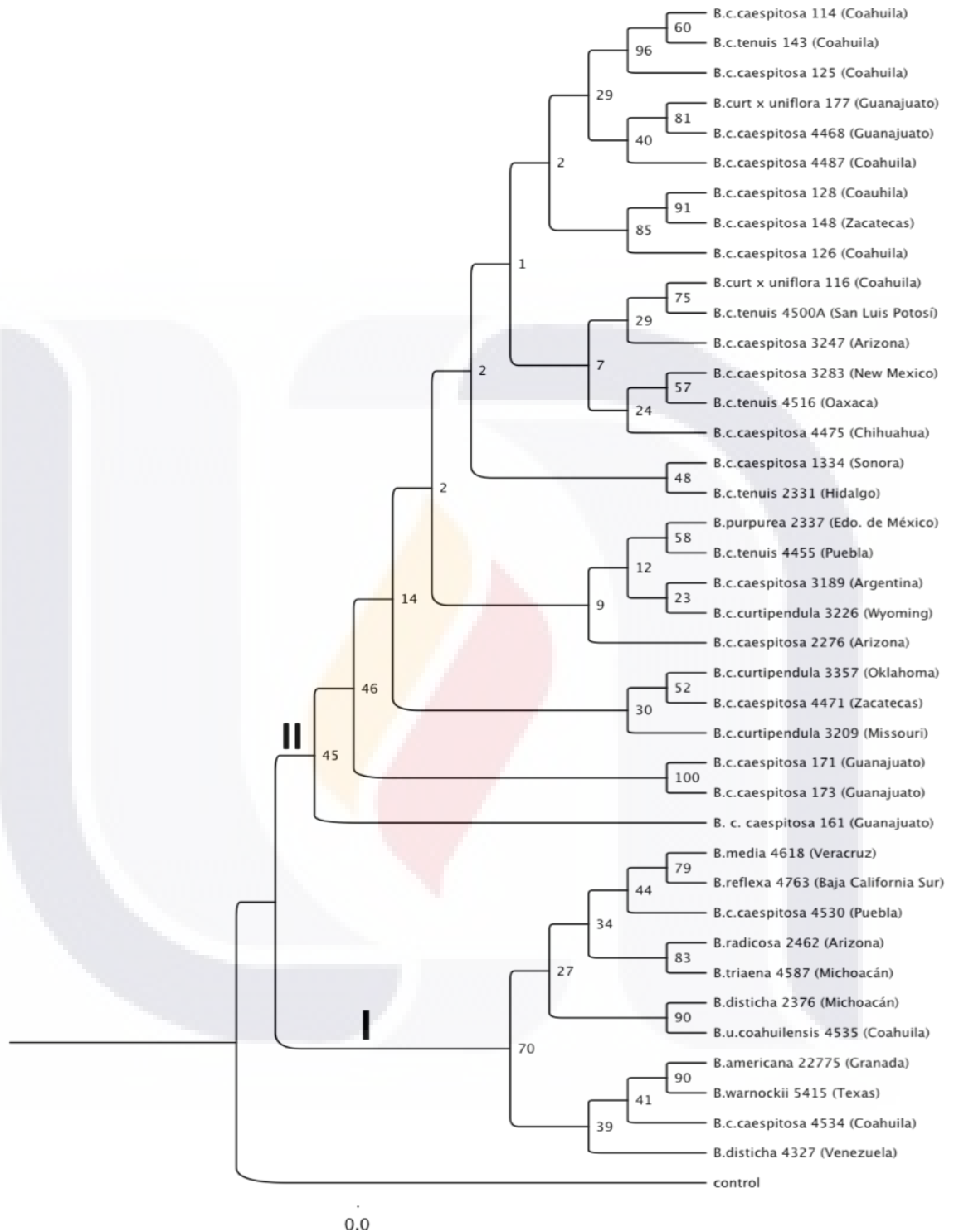


Fig 6. Dendrograma resultante del análisis de AFLPs, mostrando dos grupos principales, I y II.

Red de haplotipos. El análisis de la red de haplotipos se las secuencias de ITS, arrojó 50 haplotipos distintos (Figura 7), agrupados en 14 redes, tres redes que conectan varios haplotipos, mas 11 haplotipos independientes. La red mas grande (No. 1, Fig. 7), conecta 26 haplotipos (CC_116, CC_118, M_4511, CT_4455, CT_2275, CC_4471, CC_4475, CC_171, CC_3189, CC_2213, CC_3283, CC_1343, CC_128, CC_1334, CC_3247, CC_177, UXC130, CC_130, CT_2331, V_4685, PU_185, CA_3357, CA_3226, CA_3209,CC_152, PU_2337, Cuadro 4), con un peso de 21.5, con el haplotipo 171 como el mas ancestral. La red que sigue en número de accesiones (No. 4) conecta 8 haplotipos (CC_4483, M_4533, CT_3465, M_3468, CC_4490, CC_3314, UU_2901, W_3282) con un peso de 4.5 y ubicando a *Bouteloua uniflora* var. *uniflora* (UU_2901) como el haplotipo mas basal (Fig. 8). La red No. 12 agrupa 5 haplotipos (UC_4489, UU_161, CC_4530, P_2634, UU_3319) con un peso de 5.5, y con CC_4530 como el haplotipo más ancestral (Fig. 9). El resto de las redes están formadas por haplotipos independientes (Figura 10).

Cuadro 4. Taxón al que representa cada código en la red de haplotipos.

Código Red de Haplotipos	Taxón
CA	<i>B. curtipendula</i> var. <i>curtipendula</i>
CC	<i>B. curtipendula</i> var. <i>caespitosa</i>
CT	<i>B. curtipendula</i> var. <i>tenuis</i>
D	<i>B. distans</i>
DT	<i>B. disticha</i>
M	<i>B. media</i>
P	<i>B. pedicellata</i>
PU	<i>B. purpurea</i>
R	<i>B. reflexa</i>
UC	<i>B. uniflora</i> var. <i>coahuilensis</i>
UU	<i>B. uniflora</i> var. <i>coahuilensis</i>
UXC	<i>B. curtipendula</i> x <i>uniflora</i>
T	<i>B. triaena</i>
V	<i>B. vaneedenii</i>
W	<i>B. warnockii</i>

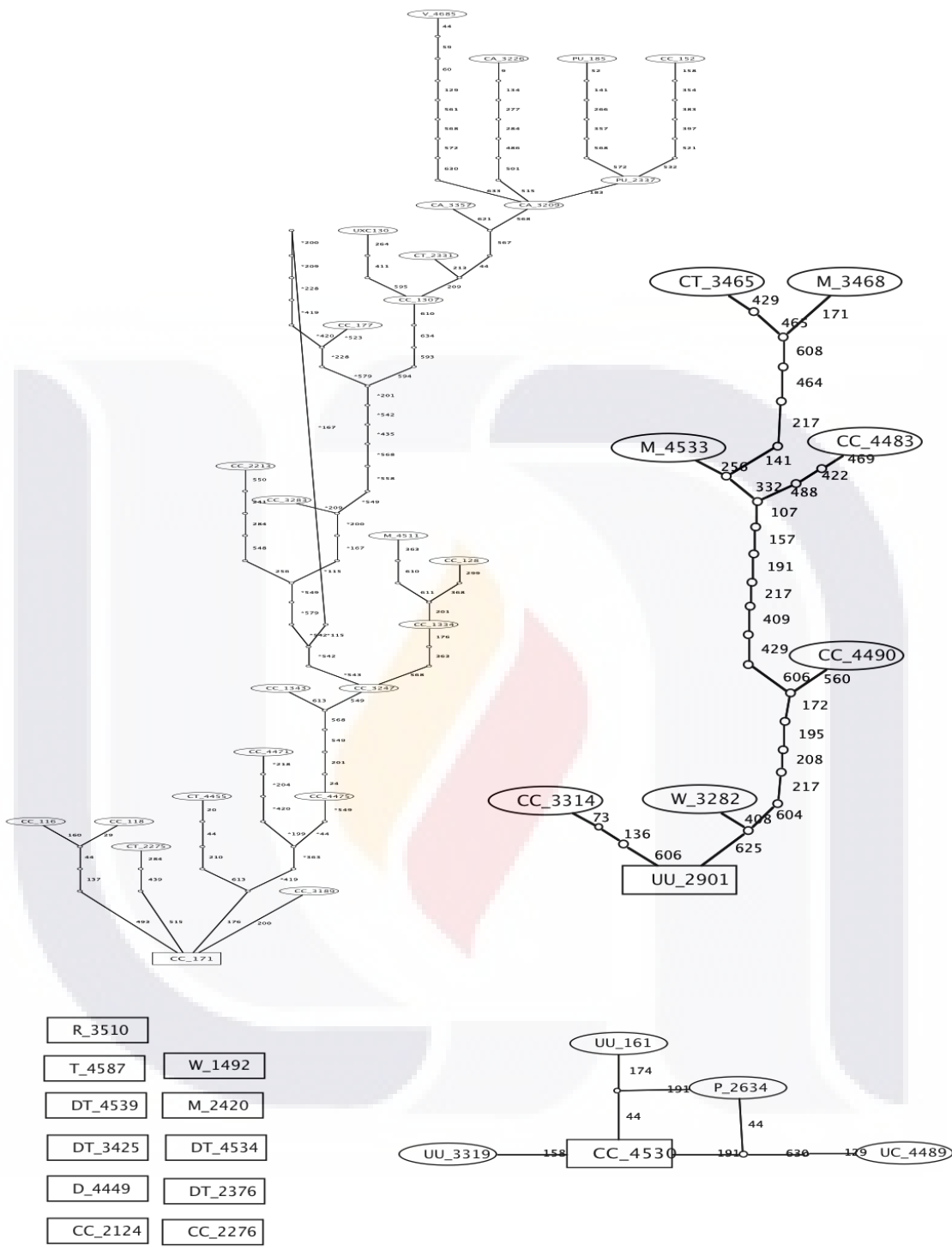


Figura 6. Haplotipos generados por el análisis de la red de haplotipos

Figura 7. Red de haplotipos No. 1 en relación con el clado B2 de la hipótesis filogenética combinada.

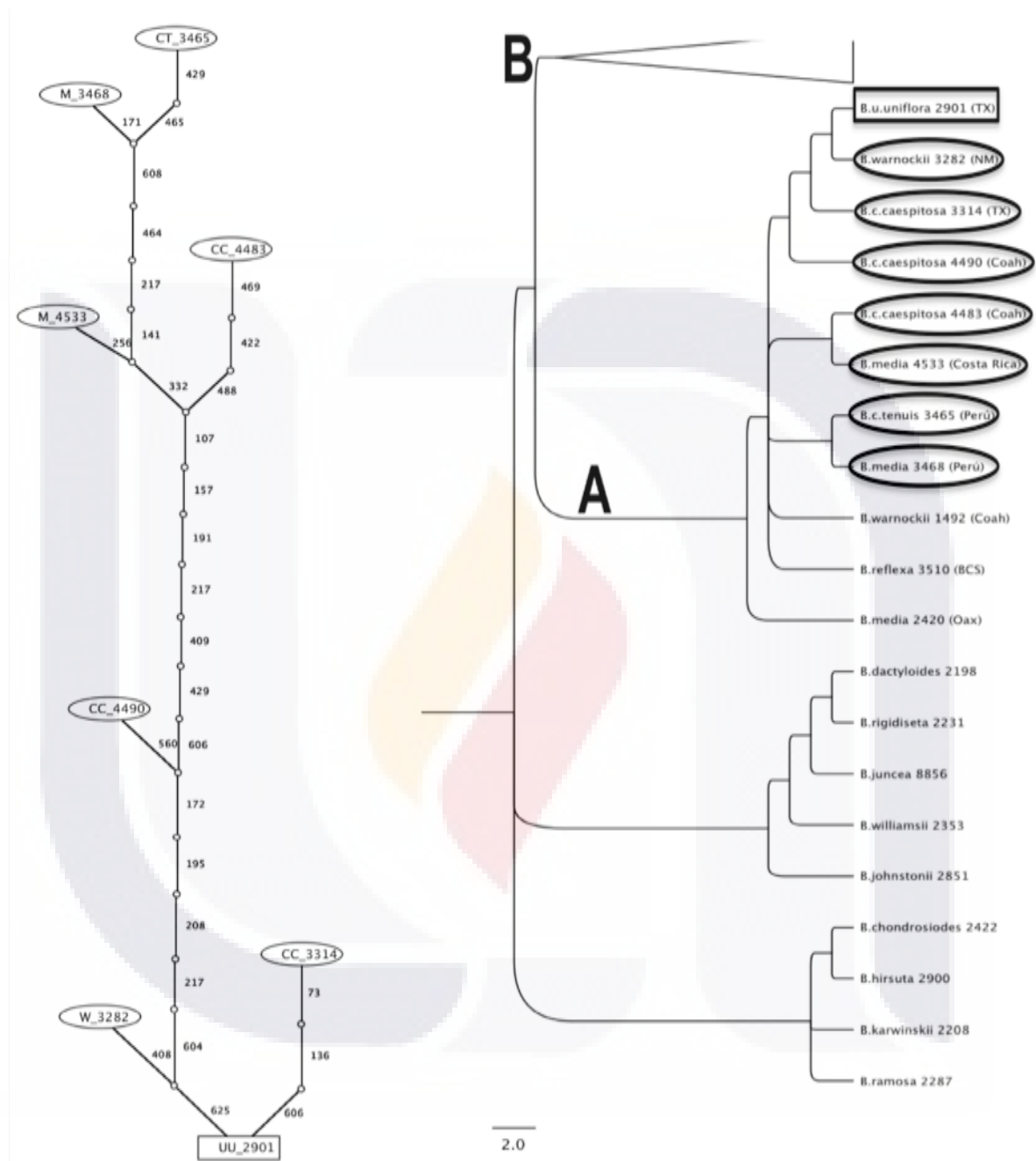


Figura 8. Red de haplotipos No. 4 en relación con el clado A de la hipótesis filogenética combinada.

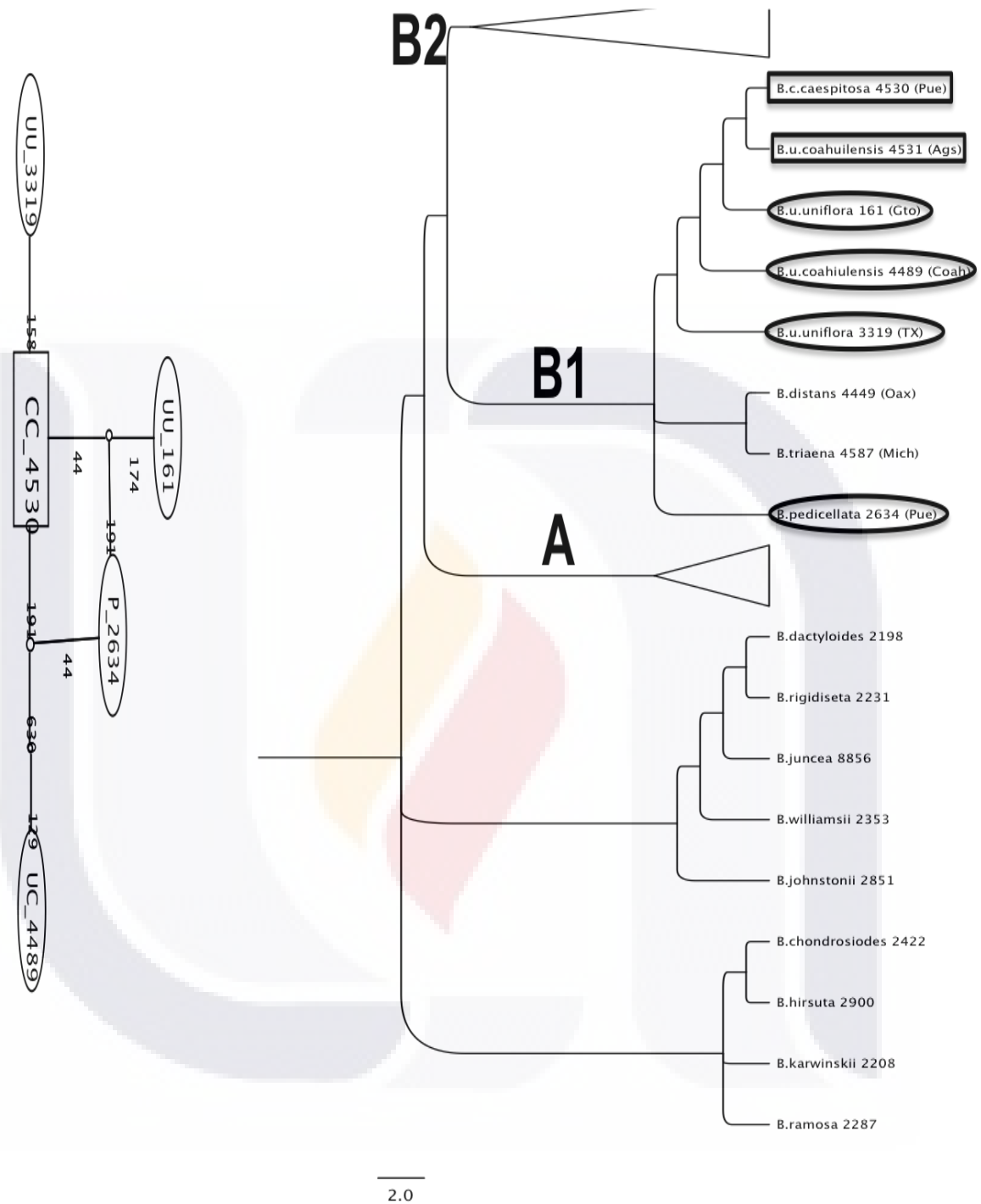


Figura 9. Red de haplotipos No. 12 en relación con el clado B1 de la hipótesis filogenética combinada.

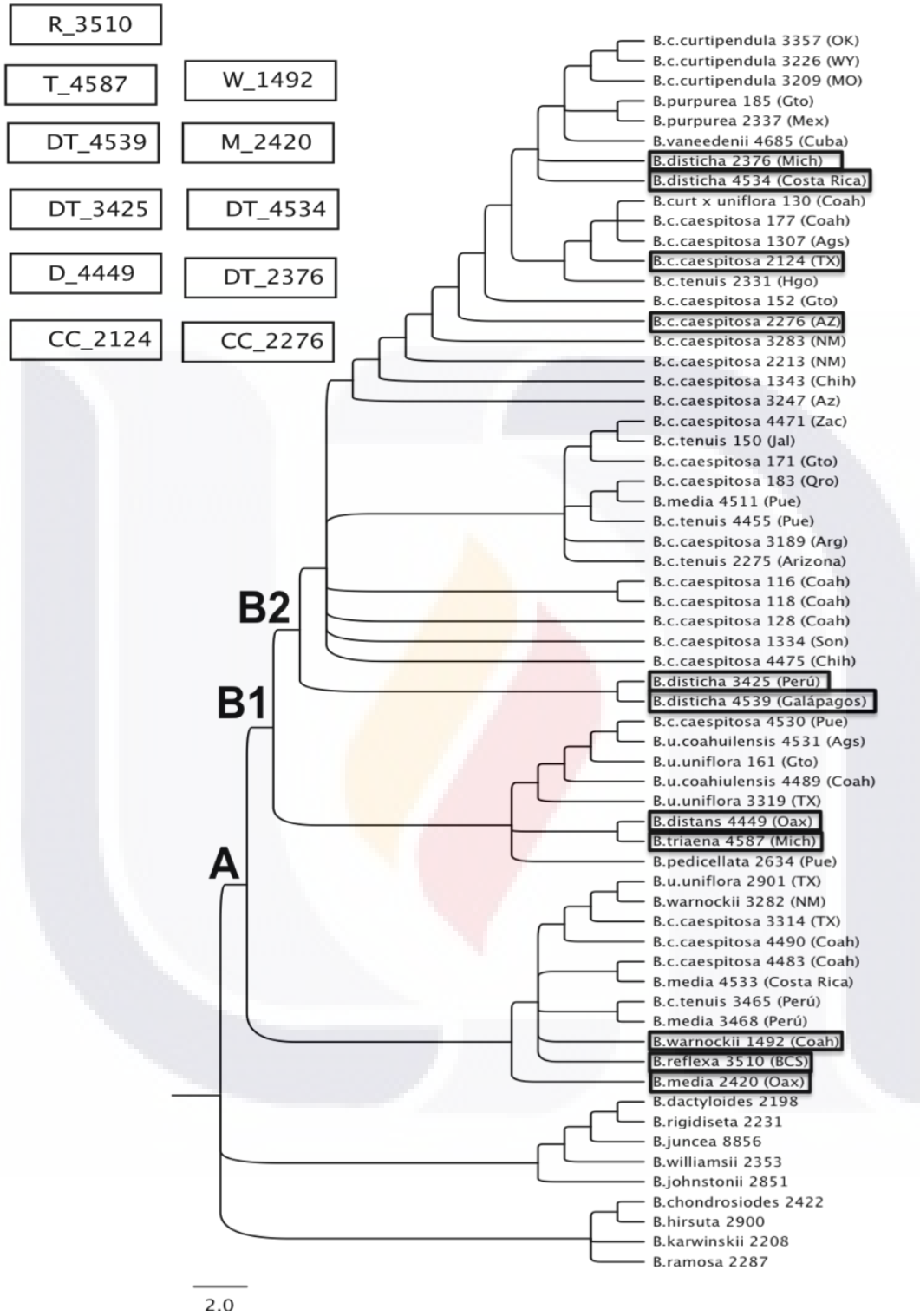


Figura 10. Red de haplotipos No. 12 en relación con el clado B1 de la hipótesis filogenética combinada.

DISCUSION

Marcadores de núcleo y de plastidio con respecto a las relaciones del CBC. Los resultados de los marcadores analizados muestran la monofilia del complejo, como ya había sido establecido por Columbus *et al.* (1998, 2000) y Siqueiros (2001), pero ningún análisis muestra la monofilia de *B. curtipendula* ni de sus variedades. Aunque se añadió un loci de plastidio (*rpoB-trnC*) a los estudios realizados previamente por Columbus (1998) y Siqueiros (2001), la resolución de la filogenia del complejo BC no se incrementó en gran medida. El loci *trnC-rpoB* fue elegido para mejorar la resolución de las relaciones filogenéticas de los taxa del complejo BC por haber probado ser altamente informativo a nivel de género/especie en el análisis filogenético de otras especies de la subfamilia Chloridoideae (Columbus, comunicación personal), pero no fue el caso en el CBC. Al analizar el loci en forma individual produjo una gran politomía, y no aportó ningún soporte a los clados, no obstante al analizarlo conjuntamente con los otros marcadores de plastidio (*trnTLF*) en el análisis combinado de plastidio aportó 37 caracteres informativos adicionales.

El espaciador transcrito interno (ITS) mostró tener una resolución menor con este grupo de datos, que la obtenida por Siqueiros (2001) y Siqueiros *et al.* (*en prensa*). El hecho de incluir en este estudio mas accesiones de *B. curtipendula* y menos de las otras especies del complejo, causan que la topología se complique por la alta variabilidad genética entre las muestras de *Bouteloua curtipendula*, así como por el nivel de ploidía de esta especie. De igual modo, la hipótesis producida por los marcadores de plastidio no dan mayor información acerca de las relaciones filogenéticas de *Bouteloua curtipendula* con respecto a los otros miembros del complejo, sin embargo resuelven el clado B (100% soporte) producido en la filogenia de ITS con sus correspondientes subclados B1 (98% soporte) y B2 (96% bootstrap). La hipótesis combinada de núcleo y plastidio, por otro lado, muestra un nivel más alto de discriminación para resolver las relaciones filogenéticas del complejo, sin embargo, sigue sin discriminar las relaciones entre las diferentes poblaciones de *Bouteloua*

curtipendula. Es importante hacer notar que las asociaciones de especies que se produjeron en esta filogenia, son las mismas producidas por Siqueiros (2001) y Siqueiros *et al.* (*en prensa*), a pesar de que se introdujeron diferentes colecciones en este estudio.

Las hipótesis probadas (ITS, plastidio y combinada) sugieren que el complejo inicialmente evolucionó en dos linajes principales A y B, los cuales emergieron de un ancestro diploide ($2n=20$ cromosomas) con varias espiguillas por rama y anteras amarillas (Siqueiros 2001). Ambos linajes parecen haberse diversificado en México como fue sugerido por Rzedowski (1978), con una subsecuente extensión hacia Norte y Sudamérica. El linaje A (100% soporte en ITS y combinada) es el más divergente e incluye accesiones de *B. curtipendula* var. *caespitosa*, *B. media*, *B. uniflora* var. *uniflora*, *B. reflexa* y *B. warnockii*. Las accesiones de *B. curtipendula* incluidas en este grupo (3465, 4490 y 4483) comparten los caracteres morfológicos ancestrales de este clado, tales como anteras amarillas (excepto *B. warnockii* cuyas anteras son moradas) múltiples espiguillas por rama, y aunque se desconoce el número cromosómico de 3465 y 4483, por el diámetro del polen (Siqueiros 2001, Gould & Kapadia 1964) se infiere que son diploides. *Bouteloua media* es polifilética y sus poblaciones de Oaxaca (2420) muestran ser el grupo más ancestral de todo el complejo. Asimismo, las poblaciones de *B. media* de Sudamérica se agrupan en este clado, mientras que las poblaciones de *B. media* de México se resuelven en el clado B2. La misma situación sucede con *B. curtipendula*, la cual está distribuida a través de toda la topología del árbol, con el mayor número de muestras en el clado B2, y solo las poblaciones diploides se resuelven en los clados más basales (A o B1). Es interesante hacer notar el impacto que la convergencia evolutiva puede tener sobre la errónea clasificación de las especies. *Bouteloua media* y *B. curtipendula* son las especies más polimórficas del complejo y tradicionalmente se han clasificado en base a caracteres morfológicos, que enmascaran sus verdaderas afinidades evolutivas y que complican y hacen más confusa su identificación (Siqueiros 2001). *Bouteloua warnockii* parece ser también un taxa basal del CBC y al igual que la mayoría de las especies del complejo no es

monofilética. La característica diagnóstica que se ha usado para circunscribir *B. warnockii* es el color de las anteras, el cual Siqueiros (2001) y Siqueiros *et al.* (*en prensa*) es un carácter homoplásico. De acuerdo a Gould y Kapadia (1964) *B. warnockii* puede ser un taxa diploide ancestral que ha contribuido a la diversificación del CBC por medio de la hibridación.

Por otro lado, el clado B (100% soporte en ITS y combinada) evolucionó en otros dos sublinajes (subclado B1 y B2) fuertemente soportados en la hipótesis combinada (100 y 99% soporte, respectivamente). El subclado B1 constituye una línea evolutiva formada por *B. distans*, *B. pedicellata*, *B. triaena* y *B. uniflora*. Este clado se caracteriza por tener una o dos espiguillas por rama, anteras amarillas y ser diploide, Gould y Kapadia 1980). En este subclado, *B. curtispindula* también está representado por dos accesiones de la variedad *caespitosa* (161 y 4530), las cuales presentan las características propias de este grupo, como anteras amarillas y al menos la accesión 4530 es diploide (Siqueiros 2001). Evidencia morfológica y molecular Gould & Kapadia 1964, Siqueiros 2001, Siqueiros *et al.* (*en prensa*) demuestra que *B. pedicellata* y *B. uniflora* var. *coahuilensis* están relacionadas por ancestría reciente y han compartido el mismo vía evolutiva. *Bouteloua pedicellata* es diferente de *B. uniflora* var. *coahuilensis* por su mayor altura y la presencia de estolones principalmente, no obstante su morfología general es muy similar. Gould y Kapadia (1964) reconocieron dos variedades de *B. uniflora*: *uniflora* y *coahuilensis*. La variedad *coahuilensis* se reconoce fácilmente por su morfología uniforme a través de su rango, sin embargo, *B. uniflora* var. *uniflora* es más variable y morfológicamente es una forma intermedia entre *B. curtispindula* y *B. uniflora* (Gould y Kapadia 1964b). Todas las muestras de *B. uniflora* de ambas variedades se encuentran en el clado B1, excepto *B. uniflora* var. *uniflora* de Texas (2901) que se encuentra en el clado A unida a *B. warnockii*, y que definitivamente representa una unidad evolutiva distinta a la de *B. uniflora*. La monofilia de *B. triaena* (Siqueiros 2001) no se demuestra en ninguna de las filogenias debido a la falta de más accesiones en el estudio, sin embargo de acuerdo a Siqueiros (2001) y Siqueiros *et al.* (*en prensa*) es la única especie resuelta como

monofilética en todas las hipótesis probadas, compartiendo ancestría reciente con *Bouteloua distans*, con un alto soporte 100 y 98% en ITS y combinada, respectivamente.

En el subclado B2 están incluidas el mayor número de las accesiones de *B. curtipendula* incluidas en este estudio, además de *B. disticha*, *B. media*, *B. purpurea* y *B. vaneedenii*. *Bouteloua disticha* solo se encuentra en este subclado y es polifilética. Al igual que otras especies del CBC, esta especie esta representada por varios linajes distintos, uno originado en Sudamérica (4539 y 3425, [bootstrap de 100 %]), mientras que las otras dos muestras de México y Centroamérica incluidas en este estudio, se mantienen independientes o forman un grupo sin soporte. *Bouteloua vaneedenii*, especie endémica de las Antillas Menores que se creyó extinta por mas de ochenta años (Siqueiros *et al.* 2011), junto con *B. purpurea*, parecen ser parte de la unidad evolutiva formada por *B. curtipendula* var. *curtipendula*, ya que invariablemente aparecen juntas en todas las hipótesis propuestas. A grosso modo, la topología de todos los árboles consenso de los diferentes análisis fueron consistentes, a excepción del clado A que no se forma en la filogenia de plastidio.

Uno de los problemas centrales del CBC es la poliploidía de *B. curtipendula* (Freter y Brown, 1955; Gould, 1959, 1980; Gould y Kapadia, 1962a, b, 1964; Harlan, 1949; Kapadia y Gould, 1964a, b; Mohamed y Gould, 1966; Siqueiros, 2001), la cual causa que al secuenciar individuos poliploides, no se puedan obtener las secuencias limpias. La clonación es un método efectivo para obtener buenas secuencias y determinar el número de copias que esta presente en el genoma un gen particular. Por este motivo se cloraron siete individuos con problemas de amplificación de ITS (*B. curtipendula* var. *caespitosa* 116, 118, 128, 156; *B. curtipendula* x *uniflora* 177; *B. triaena* 4587; *B. uniflora* var. *uniflora* 161; *B. vaneedenii* 4685), mas 3 controles putativamente diploides. Los resultados mostraron que los individuos diploides poseen una sola copia, mientras las muestras de *B. curtipendula* mostraron la presencia de 2 a 5 copias distintas en el genoma, apoyando los resultados de Siqueiros

(2001), quien encontró exactamente los mismos resultados, siempre el número de copias ligado al nivel de ploidía. Esto representa una complicación muy seria en el momento de tratar de inferir hipótesis sobre relaciones filogenéticas, ya que puede indicar fenómenos de hibridación pasados que no han sido resueltos por el proceso de evolución en concierto, o procesos de “lineage sorting”. Aunque este estudio se basó en la diversidad genética de *B. curtipendula*, se incluyeron secuencias de las demás especies del complejo *B. curtipendula* para mostrar las relaciones de *B. curtipendula* con el resto del complejo, ya que al no ser un grupo monofilético, no puede aislarse del resto de las especies.

Diversidad genética de *Bouteloua curtipendula* y su relación con el resto de los taxa del CBC.

A pesar de el gran potencial teórico de AFLPs, estos no han sido tan ampliamente usados en inferencias filogenéticas hasta ahora, ya que se consideran marcadores altamente homoplásticos por varias razones. La primera es que los fragmentos de la misma longitud pueden no ser homólogos. La segunda, cada carácter puede tomar solamente uno de dos estados (0 o 1) incrementando el riesgo de paralelismo o reversión (que un fragmento semejante no haya sido adquirido por ancestría común). Una tercera razón es que los fragmentos de AFLPs son marcadores dominantes (los heterocigotos no pueden ser distinguidos de los homocigotos dominantes), por lo tanto los marcadores de AFLPs codificados como caracteres binarios toman en realidad tres estados diferentes (0/0, 0/1 y 1/1). Todas estas fuentes de error introducen homoplasia a los datos de AFLPs. Por esta razón, los datos de AFLPs usualmente son analizados fenéticamente en lugar de cladísticamente. Sin embargo, el análisis fenético de datos provenientes de AFLPs se encuentra sujeto a el mismo tipo de errores al codificar los caracteres. La falta de resolución en estas hipótesis en particular, mas que resultar de homoplasias, es probable que sea resultado del hecho de que la mayoría de los polimorfismos de AFLPs no son específicos para una especie, o sea que existe la retención de polimorfismos ancestrales en linajes derivados (Koopman *et al*, 2001). Por otro lado, desde el punto

de vista técnico, los AFLPs pueden tener cierto grado de subjetividad debido a que las lecturas son realizadas de manera manual, por lo menos en este estudio. Las imágenes generadas de los geles de AFLPs mostraron un gran polimorfismo (Fig. 4), lo cual provocó dificultad al realizar la lectura de la presencia/ausencia de los marcadores. Asimismo, la posición sesgada de los peines al momento de cargar los geles provocaron en varios casos la inclinación de la imagen lo cual también contribuyó a un rango de error al momento de leer estas imágenes. No obstante los resultados muestran cierta congruencia general con las hipótesis filogenéticas generadas por las secuencias de núcleo y de plastidio. Comparando a la secuenciación de genes, la técnica de AFLPs permite obtener un gran número de marcadores ampliamente distribuidos a través del genoma de manera rápida, sin previo conocimiento de este genoma. En lugar de generar un árbol genético en particular, que no necesariamente refleje el verdadero árbol de la especie, especialmente entre especies altamente relacionadas y entre las cuales puede existir el entrecruzamiento, donde puede ocurrir la evolución reticulada como es el caso de *B. curtipendula*, el análisis simultáneo de varios loci representativos de todo el genoma tiene el potencial de generar un árbol más real de la especie (Després *et al.* 2002).

Los resultados de los AFLPs ponen de manifiesto el enorme polimorfismo de lo que tradicionalmente ha sido llamada *Bouteloua curtipendula* (Fig. 2, 3, 4 y 5). La amplia variación morfológica detectada en *B. curtipendula* ha resultado de la riqueza de niveles de ploidía (Morales *et al.* 2007) en los que el flujo genético entre los miembros es activo. Esto genera que los diferentes haplotipos se adapten a una amplia diversidad de ecosistemas, como ha sido documentado en otras especies que son apomícticas, además de *B. curtipendula* (Berthaud 2001). El polimorfismo obtenido puede atribuirse a que *B. curtipendula* es apomíctico, aneuploide, de polinización cruzada y altamente incompatible (Berthaud 2001). Los niveles de ploidía en *B. curtipendula* pueden variar de $2n = 20$ — más de 100 (Gould 1980, Siqueiros 2001), lo que resulta en linajes independientes, los diploides más basales de los cuales los poliploides emergieron. En la filogenia molecular de núcleo y plastidio (Siqueiros

2001) los diploides se agrupan en los clados basales, mientras que los poliploides están incluidos en el clado más derivado.

La mayor parte de las unidades taxonómicas del CBC cuya clasificación está basada en caracteres morfológicos tradicionales no son soportados por los análisis filogenéticos moleculares basados en datos tanto de núcleo como de plastidio o AFLPs, en especial en los taxa polimórficos como *B. media* y *B. curtispindula*. No obstante, los datos producidos por los AFLPs muestran que a pesar del gran polimorfismo de *B. curtispindula*, la mayor parte de las accesiones de esta especie incluidas en el estudio forman un grupo independiente (grupo II), y separados del resto de los otros taxa del complejo (grupo I), a excepción de dos accesiones (4530 y 4534; Fig. 5).

Desafortunadamente, no todas las muestras incluidas en los análisis de las secuencias pudieron ser incluidas en los análisis de AFLPs debido a la antigüedad de las muestras de ADN, ya que esto afecta su calidad. Por esta razón se tuvieron que incluir colectas diferentes más recientes que afectan la congruencia entre ambos resultados. No obstante, permiten inferir ciertos patrones congruentes con los resultados de las secuencias. Por un lado, muestran que la mayoría de las accesiones de *B. curtispindula* se asocian en un solo grupo separado del resto de las especies del complejo incluyendo a *B. purpurea*, tal y como ocurre en las hipótesis de núcleo y plastidio, y nos permite reconocer al menos tres linajes de *B. curtispindula* independientes. Uno formado por el grupo II, el cual corresponde al linaje más derivado en las filogenias de los tres marcadores estudiados, y otros dos asociados a linajes más basales del complejo. Debido a que las muestras incluidas en los AFLPs y las secuencias de núcleo y plastidio son diferentes, las congruencias encontradas entre estos marcadores moleculares no son muy claras, sin embargo refuerzan la evidencia de que los haplotipos incluidos en el grupo I, son diferentes del resto. De tal modo que la accesión de *B. curtispindula* 4530 incluida en grupo I, tanto en los AFLPs como en las secuencias se asocia a miembros basales del CBC. La accesión 4534 no está secuenciada, sin embargo, por su posición en el agrupamiento de los AFLPs, se infiere

que se trata de una población diploide de *Bouteloua curtipendula*, perteneciente a un linaje diferente y basal.

Bouteloua curtipendula sensu stricto fue representada en este estudio por accesiones representativas de toda su área de distribución, siendo la especie mas ampliamente distribuida del complejo. Las tres variedades propuestas por Gould y Kapadia (1964) — *caespitosa*, *curtipendula* y *tenuis* — de acuerdo a nuestros análisis son artificiales, y están basadas en caracteres morfológicos homoplásicos que no reflejan sus afinidades evolutivas. De acuerdo a los resultados arrojados por las secuencias y por los AFLPs, se observa que ninguna de las tres variedades forma grupos monofiléticos, y al menos las accesiones de las variedades *caespitosa* y *tenuis*, están dispersas a lo largo de toda las hipótesis. *Bouteloua curtipendula* var. *curtipendula* parece ser el taxa mas cohesivo en las hipótesis de ITS y combinada, asociándose en ambas topologías a *B. purpurea* y *B. vaneedenii*. No obstante, en el dendrograma producido por los AFLPs no mantienen el mismo patrón, asociándose a otras accesiones de las variedades *caespitosa* y *tenuis* (Fig. 5). *Bouteloua curtipendula* var. *curtipendula* es la variedad mas fácil de reconocer por sus largos rizomas y distribución restringida a el Norte de los Estado Unidos de Norteamérica, sin embargo en ocasiones es muy complicado distinguir entre las variedades debido a su patrón continuo de variación morfológica, alta incidencia de poliploidía, probable hibridación y apomixis (Harlan 1949, Freter y Brown 1955, Gould 1959, Gould 1980, Gould y Kapadia 1962 a, b, 1964, Kapadia y Gould 1964 a,b, Mohamed y Gould 1966, Siqueiros 2001).

El grupo II incluye el resto de las accesiones de *B. curtipendula*, y aunque los grupos por haplotipo no son evidentes propone un grupo geográficamente aislado de accesiones del centro y norte de México (114, 143, 125, 177, 4468, 4487, 128, 148 y 126) y se agrupan con un alto soporte (96% bootstrap) dos accesiones de *B. curtipendula* var. *caespitosa* 114 y 125 de Coahuila y una accesión de *B. curtipendula* var. *tenuis* 143 de la misma localidad. Otro grupo con buen soporte (81% bootstrap)

une a dos accesiones *B. curtipendula* var. *caespitosa* 177 y 4468, ambas de Guanajuato. Con un 91% de bootstrap se agrupan *B. curtipendula* var. *caespitosa* 128 y 148 de Coahuila y Zacatecas (frontera con Coahuila), respectivamente. Se esperaba que *B. purpurea* se agrupara con *B. curtipendula* var. *curtipendula*, como ocurrió en las hipótesis filogenéticas de las secuencias, sin embargo no fue así. La única accesión de *B. purpurea* (2337) incluida en este estudio se asocia sin gran soporte con *B. curtipendula* var. *tenuis* (4455) de Puebla. A pesar de que *B. purpurea* no formó el grupo esperado con la variedad *curtipendula*, se puede inferir que es parte del linaje de los *B. curtipendula* poliploides, apoyando los resultados de Siqueiros (2001).

Las redes de haplotipos por otro lado, reforzaron algunas de las inferencias basadas en los análisis de secuencias y AFLPS. Las inferencias son totalmente congruentes con las hipótesis filogenéticas de los marcadores analizados (ITS; plastidio y combinada), ya que fueron generadas a partir de las mismas secuencias, no obstante, las redes de haplotipos aportan datos interesantes en cuanto a las relaciones internas de *B. curtipendula* y otras especies del complejo que las secuencias no pudieron resolver. De las 14 redes formadas para ITS, 11 formaron redes independientes con un solo haplotipo por red, sin embargo la red N° 1 conecta 26 haplotipos con 28 accesiones (las accesiones 171, 150 6 183 presentan el mismo haplotipo), todos correspondientes al clado B2 de la hipótesis de ITS y combinada. La mayoría son accesiones de *B. curtipendula*, además de *B. media*, *B. purpurea* y *B. vaneedenii*, y propone al haplotipo 171 como el más ancestral, y del cual derivan el resto de los miembros de la red con diferente número de cambios. Se observa que el grupo de *B. curtipendula* var. *curtipendula*, *B. purpurea* y *B. vaneedenii* se mantiene como el más divergente de esta red. No obstante, es interesante remarcar que dos accesiones de *B. curtipendula* (2276 y 2124), y las cuatro accesiones de *B. disticha*, aparecen como haplotipos independientes, sugiriendo que son entidades evolutivas distintas, no relacionadas con el resto de la red. La red N° 4 agrupa los taxa del clado A de las hipótesis de ITS y combinada, excepto *B. media* 2420, *B. reflexa* y *B. warnockii* 1492, los cuales aparecen como haplotipos individuales. Aunque se pudiera pensar

que hay circularidad en los análisis de haplotipos, estos nos permiten sin lugar a dudas observar relaciones mas claras entre taxa que no se resolvieron en los análisis de secuencias y reafirmar las relaciones propuestas.

Es importante mencionar que las relaciones entre los taxa del clado A, se mantienen consistentes en la filogenia de ITS y la combinada, así como en los haplotipos. En AFLPs, los taxa de *B. curtipendula* pertenecientes a este clado, permanecen separados del resto de los haplotipos de *B. curtipendula*. Así mismo, otra asociación que parece consistente, excepto en AFLPs, es la relación de *B. curtipendula* var. *curtipendula*, *B. purpurea* y *B. vaneedenii*, que se mantiene en todas las hipótesis y es apoyada por las redes. El clado B1, es otra asociación consistente en todas las filogenias con un alto soporte, y es mantenida por las redes de haplotipos, excepto *B. triaena* y *B. distans*, las cuales aparecen como haplotipos individuales. *Bouteloua triaena* es la única especie que se ha reportado como monofilética (Siqueiros 2001, Siqueiros et al. en prensa), por lo que al parecer su haplotipo es distinto al resto como lo demuestra la longitud de su rama en el filograma (no mostrado) de ITS.

CONCLUSION

Las hipótesis filogenéticas de ITS, plastidio y la combinación de ambas, así como el análisis de AFLPs no respaldan la monofilia de *B. curtipendula*. Los análisis muestran al menos tres linajes distintos de *Bouteloua curtipendula*, uno formado por poblaciones muy polimórficas y poliploides asociados a *B. purpurea* y *B. vaneedenii*, otro asociado al linaje *B. distans* — *pedicellata* — *uniflora* — *triaena*, y un último asociado a los taxa más basales del CBC como *B. warnockii*, *B. reflexa*, y las poblaciones basales de *B. media* de Oaxaca y Sudamérica. A diferencia de otros miembros de la familia Chloridoideae, el loci *trnC*—*rpoB* de plastidio no mejora la resolución de la hipótesis filogenética del complejo *Bouteloua curtipendula*, ya que no presenta un alto grado de variación. Las variedades propuestas por Gould y Kapadia (1964): *caespitosa*, *curtipendula* y *tenuis* son artificiales. No existen caracteres morfológicos que nos ayuden a circunscribir a la especie. La falta de resolución en el árbol generado por el análisis de datos de AFLPs puede atribuirse a una rápida y reciente radiación de *B. curtipendula*, y/o que el actual flujo genético entre esta especie y otras del complejo BC esté desapareciendo la diferenciación genética previa. Lo que hoy conocemos como *Bouteloua curtipendula* es un conjunto de linajes independientes que han convergido a la misma morfología por cuestiones adaptativas (homoplasias).

LITERATURA CITADA

- Agepati S. Raghavendra y Rowan F. Sage. 2011. C₄ Photosynthesis and Related CO₂ Concentrating Mechanisms. Springer Science+Business Media B.V. pp. 319—338.
- Berthaud, J. 2001. Apomixis and management of diversity. *En*: Savidan, Y. J., Carman, and T. Dresselhaus (eds). The Flowering of Apomixis. From Mechanisms to Genetic Engineering. CIMMYT-IRD pp: 8-23.
- Blum, J. M., K. Jun Bando, Matthew Katz and Donald R. Strong. 2007. Geographic structure, genetic diversity and source tracking of *Spartina alterniflora*. *Journal of Biogeography* 34: 2055-2069.
- Clement, M.; Posada, D. and Crandall, K. A. (2000) TCS: a computer program to estimate gene genealogies. *Mol. Ecol.*, 9, 1657-1659.
- Chapman, G. P. 1996. The biology of grasses. Wallingford: CAB International. Pp. 273.
- Columbus J. T., M. S. Kinney, R. Pant, y M. E. Siqueiros-Delgado. 1998. Cladistic parsimony analysis of internal transcribed spacer region (nrDNA) sequences of *Bouteloua* and relatives (Gramineae: Chloridoideae) *Aliso* 17: 99-130.
- Columbus J.T., M.S. Kineey, M.E. Siqueiros y J.M Porter. 2002. Phylogenetics of *Bouteloua* and relatives (Gramineae: Chloridoideae): cladistic parsimony análisis of internal transcribed spacer (nrDNA) and trnL-F (cpDNA) sequences. Pp. 189-194 in S.W.L. Jacobs and J. Everett (eds.), *Grasses: systematics and evolution*. Victoria, Australia: CASIRO Publishing.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

Crandall KA, Templeton AR (1993) Empirical tests of some predictions from coalescent theory with applications to intraspecific phylogeny reconstruction. *Genetics*,**134**, 959—969.

Després L., L. Gielly, B. Redoutet, y P. Taberlet. 2003. Using AFLP to resolve phylogenetic relationships in a morphologically diversified plant species complex when nuclear and chloroplast sequences fail to reveal variability. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 27: 185—196

Dice, Lee R. (1945). Measures of the Amount of ecologic association between species. *Ecology*. 26 (3): 297—302.

Donnelly P, Tavaré S (1986) The ages of alleles and a coalescent. *Advances in Applied Probability*,**18**, 1—19.

Drummond A.J., Ashton B., Cheung M., Heled J., Kearse M., Moir R., Stones-Havas S., Thierer T. Y Wilson A. 2009. Geneious v4.7. <http://www.geneious.com>

Excoffier L, Smouse PE (1994) Using allele frequencies and geographic subdivision to reconstruct gene trees within a species: Molecular variance parsimony. *Genetics*,**136**, 343—359.

Freter L.E y W.V. Brown. 1955. A cytotoxic study of *Bouteloua curtipendula* and *B. uniflora*. *Bull. Torrey Bot. Club* 82: 176-181.

Gene Codes Corporation. 2009. <http://www.genecodes.com>

Georgiadis N, Bischof L, Templeton A *et al.*(1994) Structure and history of African elephant populations: I. Eastern and Southern Africa. *Journal of Heredity*,**85**, 100—104.

Gerber AS, Templeton AR (1996) Population sizes and within-deme movement of *Trimerotropis saxatilis* (Acrididae), a grasshopper with a fragmented distribution. *Oecologia*, **105**, 343—350.

Gómez-Zurita J, Petitpierre E, Juan C (2000) Nested cladistic analysis, phylogeography and speciation in the *Timarcha goettingensis* complex (Coleoptera, Chrysomelidae). *Molecular Ecology*, **9**, 557—570.

Gould F.W. 1959. Notes on apomixis in sideoats gramma. *J. Range Manag.* 12:25-28.

Gould F. W. 1980. The Genus *Bouteloua* (Poaceae). *Annals of the Missouri Botanical Garden* 66: 348-416.

Gould F.W. y Z.J. Kapadia. 1962a. A new *Bouteloua* from the Southwest. *Southwestern naturalist* 7: 176- 181.

Gould F.W. y Z.J. Kapadia. 1962b. 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. y Z. J. Kapadia. 1964. Biosystematic studies in the *Bouteloua curtispindula* complex II. Taxonomy. *Brittonia* 16: 182- 207

Griffiths, D. 1912. The gramma grasses: *Bouteloua* and related genera. *Contr. U. S. Natl. Herb.* 14: 343- 428

Hampl V., Pavlíček A., y Flegr J. 2001.

<http://web.natur.cuni.cz/flegr/programs/freetree.htm>

- Hattersley, P.W. 1986. Variations in Photosynthetic Pathway. International Grass Symposium. 1968: 49-64
- Harlan J.R. 1949. Apomixis in side-oats grama. American Journal of Botany. 36: 495-499
- Herrera A. Y., P. M. Peterson y M. de la Cerda Lemus. 2004. Revisión de *Bouteloua* Lag. (POACEAE). Ed. Filo de Agua. CONABIO. México. pags
- Hersch-Green E. I. y R. Cronn. 2009. Tangled Trios?: characterizing a hybrid zone in *Castilleja* (Orobanchaceae). American Journal of Botany. 96 (8): 1519—1531.
- Hitchcock A. S. 1951. Manual of the grasses of the United States. 2nd ed. USDA Misc. Publ. 200: 1- 1051.
- Huelsenbeck JP, Hillis DM (1993) Success of phylogenetic methods in the four-taxon case. *Systematic Biology*, **42**, 247—264.
- Innan, H., R. Terauchi y N. T. Miyashita. 1997. Microsatellite Polymorphism in Natural Populations of the Wild Plant *Arabidopsis thaliana*. Genetics. 146: 1441-1452.
- Jones T. A., S. R. Larson, D. C. Nilson, S. A. Young, N. J. Chatterton, y A. J. Palazzo. 2002. Registration of P-7 bluebunch wheatgrass germplasm. Crop Sci. 42: 1754-1755.
- Kapadia Z. J. y F. W. Gould. 1964. Biosystematic studies in the *Bouteloua curtipendula* complex. IV. Dynamics of variation in *B. curtipendula* var. *caespitosa*. Bull. Torrey Botanical club. 91: 465-478

- Kikuchi S. y Y. Isagi. 2002. Microsatellite genetic variation in small and isolated populations of *Magnolia sieboldii* ssp. *japonica*. *Heredity*
- Koopman, W. J. M., M.J. Zevenbergen, R.G. Van-den-Berg. 2001. Species relationships in *Lactuca* S. L. (Lactuceae, Asteraceae) inferred from AFLP fingerprints. *American Journal of Botany* 88, 1881—1887
- McVaugh, R. 1983. Gramineae Vol 14. *En* W.R. Anderson, *Flora Novo Galiciana: A descriptive account of the vascular plants of western Mexico*. Univ. Of Michigan Press, Ann Arbor, Mich, USA.
- Menchari Y., C. Délye y V. Le Corre. 2007. Genetic variation and population structure in black-grass (*Alopecurus myosuroides* Huds.), a successful, herbicide resistant, annual grass weed of winter cereal fields. *Molecular Ecology*. 16: 3161—3172.
- Meudt H. M. y A. C. Clarke. 2006. Almost Forgotten or Latest Practice? AFLP applications, analyses and advances. *Trends in Plant Science*. 12 (3): 106- 117.
- Mohamed A.H. y 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 C., A. Quero-Carrillo, O. Le-Blanc, A. Hernández-Garay, J. Pérez-Pérez y S. González-Muñoz. Native Grass *Bouteloua curtipendula* Michx. Torr. 2006. Diversity Characterization using AFLP Markers. *Agrociencia* 40: 711—720.
- Mueller U.G. y L. L. Wolfenbarger. 1999. AFLP genotyping and fingerprinting. *Tree*. 14 (10): 389—394.

Nei, M., and W.-H. Li. 1979. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 76:5269—5273.

Page, R. D. M. 1996. TREEVIEW: An application to display phylogenetic trees on personal computers. *Computer Applications in the Biosciences*. 12: 357—358.

Pavlicek, A., Hrda, S. & Flegr, J. 1999. Free-Tree * freeware program for construction of phylogenetic trees on the basis of distance data and bootstrap/jackknife analysis of the tree robustness. Application in the RAPD analysis of genus *Frenkelia*. *Folia Biologica*, 45(3),97–99.

Posada C. Y K.A. Crandall. 1998. Modeltest: testing the model of DNA substitution. *Bioinformatics* 14: 817—818.

Potenza, CL, Slaughter AL, Yeater KM, Barrow JR. 2007. Genetic diversity studies of *Bouteloua eriopoda* (Black grama grass) in southern New Mexico: Spatial and temporal variations. American Society of Plant Biologists.

Rambaut, A. 2007. FigTree. <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>

Roalson. EH. 2011. Chapter 16 C4 Photosynthesis Origins in the Monocots: A Review and Reanalysis C4 Photosynthesis and related CO2 concentrating mechanisms. *Advances in Photosynthesis and Respiration*. 32 (4): 319-338

Shaw J., Lickey E. B., Beck J. T., Farmer S. B., Liu W., Miller J., Siripun K. C., Winder C. T., Schilling E. E. y Small R. L. 2005. The tortoise and the hare II: relative utility of 21 noncoding chloroplast DNA sequences for phylogenetic analysis. *American Journal of Botany*. 92: 142—166.

Simmons M.P. y H. Ochoterena. 2000. Gaps as characters in sequence-based phylogenetic analyses. *Systematic Biology* 49: 369—381.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

Siqueiros- Delgado M.E. 2001. Phylogenetics of the *Bouteloua curtipendula* complex (Gramineae:Chloridoideae). Ph.D. Diss. Claremont Graduate University. 97 Pp.

Siqueiros-Delgado M.E. 2007. Culm Anatomy of *Bouteloua* and Relatives (Gramineae: Chloridoideae: Boutelouinae) Acta Botanica Mexicana. 78: 39— 59.

Siqueiros-Delgado, M.E., M. Ainouche, A. Ainouche y J. T. Columbus. En prensa. Phylogeny of the *Bouteloua curtipendula* complex (Gramineae: Chloridoideae) based on nuclear ribosomal and chloroplast DNA sequences.

SoftGenetics. 2010. Software *PowerTools* for Genetic Analysis. <http://www.softgenetics.com/downloads.html>

Swofford, D. L. 1999. PAUP*. Phylogenetic analysis using parsimony. Vers. 4.0 beta 1. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts. Computer software.

Rambaut A. 2007. <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/seal/>

Rzwdowski J. 1978. Vegetación de México. Ed. Limusa. México, D. F.

Templeton AR, Crandall KA, Sing CF (1992) A cladistic analysis of phenotypic associations with haplotypes inferred from restriction endonuclease mapping and DNA sequence data. III. Cladogram estimation. *Genetics*, **132**, 619—633.

Valipour K. H. , S. A. A. Korori, M. Pirseyedi, A. Shirvany y A. Danehkar. 2008. Genetic variation of mangrove species *Avicennia marina* in Iran revealed by microsatellite markers. African Journal of Biotechnology, 7 (17): 3017-3021

Vos, P., R. Hogers, M. Bleeker, M. Reijans, T. Van de Lee, M. Hornes, A. Frijters, J. Pot, J.

Peleman, M. Kuiper, y M. Zabeau. 1995. AFLP: A new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Res.* 23: 4407— 4414.

Wageningen UR. 2010.

http://www.plantbreeding.wur.nl/UK/software_crosschecker.html

Watterson GA, Guess HA (1977) Is the most frequent allele the oldest? *Theoretical Population Biology*, **11**, 141—160.



Anexo 1. Taxa, muestra y origen de las accesiones utilizadas en este estudio. La X señala para qué análisis fueron utilizadas las muestras.

TAXA	MUESTRA	ORIGEN	Secuencias/ Haplotipos	AFLPs
B. americana	Worthington 22775	Grananda		X
B. chondrosioides	Columbus 2422		X	
B. curtipendula var. caespitosa	Columbus 2124	USA: Texas	X	
B. curtipendula var. caespitosa	Columbus 2213	USA: New Mexico	X	
B. curtipendula var. caespitosa	Columbus 2276	USA: Arizona	X	X
B. curtipendula var. caespitosa	Columbus 2500	USA: Arizona	X	
B. curtipendula var. caespitosa	Columbus 3189	Argentina: Dpt. Volcan	X	
B. curtipendula var. caespitosa	Columbus 3247	USA: Arizona	X	X
B. curtipendula var. caespitosa	Columbus 3283	USA: New Mexico	X	X
B. curtipendula var. caespitosa	Columbus 3314	USA: Texas	X	
B. curtipendula var. caespitosa	Columbus 4534	Mexico: Coahuila	X	
B. curtipendula var. caespitosa	Herrera 1307	Mexico: Aguascalientes	X	
B. curtipendula var. caespitosa	Herrera 1334	Mexico: Sonora (HUAA)	X	
B. curtipendula var. caespitosa	Herrera 1343		X	
B. curtipendula var. caespitosa	Palomeque 116	Mexico: Coahuila	X	
B. curtipendula var. caespitosa	Palomeque 118	Mexico: Coahuila	X	
B. curtipendula var. caespitosa	Palomeque 128	Mexico: Coahuila	X	
B. curtipendula var. caespitosa	Palomeque 152	Mexico: Guanajuato	X	
B. curtipendula var. caespitosa	Palomeque 171	Mexico: Guanajuato	X	X
B. curtipendula var. caespitosa	Palomeque 177	Mexico: Guanajuato	X	X
B. curtipendula var. caespitosa	Palomeque 183	Mexico: Queretaro	X	
B. curtipendula var. caespitosa	Siqueiros 4468	Mexico: Guanajuato	X	
B. curtipendula var. caespitosa	Siqueiros 4471	Mexico: Zacatecas	X	X
B. curtipendula var. caespitosa	Siqueiros 4475	Mexico: Chihuahua	X	
B. curtipendula var. caespitosa	Siqueiros 4476	USA: New Mexico	X	
B. curtipendula var. caespitosa	Siqueiros 4483	Mexico: Coahuila	X	
B. curtipendula var. caespitosa	Siqueiros 4487	Mexico: Coahuila	X	

B. curtipendula var. caespitosa	Siqueiros 4490	Mexico: Coahuila	X	
B. curtipendula var. caespitosa	Siqueiros 4500	Mexico: San Luis Potosi	X	
B. curtipendula var. caespitosa	Siqueiros 4530	Mexico: Puebla	X	X
B. curtipendula var. caespitosa	Columbus 4534	Mexico: Coahuila		X
B. curtipendula var. caespitosa	Palomeque 173	Mexico: Guanajuato		X
B. curtipendula var. caespitosa	Palomeque 126	Mexico: Coahuila		X
B. curtipendula var. caespitosa	Palomeque 148	Mexico: Zacatecas		X
B. curtipendula var. caespitosa	Palomeque 128	Mexico: Coahuila		X
B. curtipendula var. caespitosa	Siqueiros 4487	Mexico: Coahuila		X
B. curtipendula var. caespitosa	Siqueiros 4468	Mexico: Guanajuato		X
B. curtipendula var. caespitosa	Palomeque 125	Mexico: Coahuila		X
B. curtipendula var. caespitosa	Palomeque 143	Mexico: Coahuila		X
B. curtipendula var. caespitosa	Palomeque 114	Mexico: Coahuila		X
B. curtipendula var. curtipendula	Columbus 3209	USA: Missouri	X	X
B. curtipendula var. curtipendula	Columbus 3226	USA: Wyoming	X	X
B. curtipendula var. curtipendula	Columbus 3357	USA: Oklahoma	X	X
B. curtipendula var. tenuis	Columbus 2275	USA: Arizona	X	
B. curtipendula var. tenuis	Columbus 2331	Mexico: Hidalgo	X	X
B. curtipendula var. tenuis	Columbus 3465	Peru: Cajamarca	X	
B. curtipendula var. tenuis	Palomeque 150	Mexico: Jalisco	X	
B. curtipendula var. tenuis	Siqueiros 4455	Mexico: Puebla	X	X
B. curtipendula var. tenuis	Siqueiros 4478	Mexico: Coahuila	X	
B. curtipendula var. tenuis	Siqueiros 4519	Mexico: Oaxaca	X	
B. curtipendula var. tenuis	Columbus 4516	Mexico: Oaxaca		X
B. curtipendula var. tenuis	Siqueiros 4500A	Mexico: San Luis Potosi		X
B. curtipendula x uniflora	Palomeque 130	Mexico: Coahuila	X	
B. distans	Siqueiros 4449	Mexico: Oaxaca	X	
B. disticha	Columbus 2376	Mexico: Michoacan	X	X
B. disticha	Columbus 3425	Peru: Piura	X	
B. disticha	Siqueiros 4534	Costa Rica	X	
B. disticha	Siqueiros 4539	Galapagos: New Seymour	X	
B. disticha	Columbus 4327	Venezuela		X
B. hirsuta	Columbus 2900		X	
B. johnstonii	Columbus 2851		X	
B. media	Columbus 2420	Mexico: Oaxaca	X	

B. media	Columbus 3468	Peru: Cajamarca	X	
B. media	Siqueiros 4511	Mexico: Puebla	X	
B. media	Siqueiros 4533	Costa Rica: Guanacaste	X	
B. media	Columbus 4618	México: Veracruz		X
B. pedicellata	Columbus 2634	Mexico: Puebla	X	
B. purpurea	Columbus 2337	Mexico: Mexico	X	X
B. purpurea	Palomeque 185	Mexico: Guanajuato	X	
B. radicata	Columbus 2462	USA: Arizona		X
B. reflexa	R 3510	Mexico: Baja California Sur	X	
B. reflexa	Columbus 4763	Mexico: Baja California Sur		X
B. triaena	Columbus 4587	Mexico: Michoacan	X	X
B. uniflora var. coahuilensis	Siqueiros 4489	Mexico: Coahuila	X	
B. uniflora var. coahuilensis	Siqueiros 4531	Mexico: Aguascalientes	X	
B. uniflora var. coahuilensis	Columbus 4535	Mexico: Coahuila		X
B. uniflora var. uniflora	Columbus 2901	USA: Texas	X	
B. uniflora var. uniflora	Columbus 3319	USA: Texas	X	
B. uniflora var. uniflora	Palomeque 161	Mexico: Guanajuato	X	X
B. uniflora var. uniflora	Siqueiros 4486	Mexico: Coahuila	X	
B. vaneedenii	Siqueiros 4685	Cuba	X	
B. warnockii	Columbus 3282	USA: New Mexico	X	
B. warnockii	Herrera 1492	Mexico: Coahuila	X	
B. warnockii	Columbus 5415	USA: Texas		X

Anexo 2. Base de datos de caracteres morfológicos de *B. curtipendula*.

NUMERO	Variedad	Hábito	Morfología Hoja	Pubescencia de la hoja	Lígula	Inflorescencia	Forma del rudimento
4395		(estolones)	con pelos glandulares (amarillenta) marginales largos	no	pubescente: numerosos pelos largos y gruesos	terminal	1 arista
4429	tenuis	estolones	bordes aserrados y glándulas marginales	si	"	"	1 arista larga obscura + 2 aristas laterales mas cortas
4473	caespitosa		con pelos glandulares (amarillenta) marginales largos	no	"	"	1 arista larga + 2 hojas laterales mas cortas
4474	caespitosa	cespitoso	con pelos glandulares (amarillenta) marginales largos	no	"	"	1 arista
4497	caespitosa		con pelos glandulares (amarillenta) marginales largos	no	"	"	1 pequeña arista bifurcada
4498	caespitosa		con pelos glandulares (amarillenta) marginales largos	no	"	"	1 arista / 1 hoja
4499			con pelos glandulares (amarillenta) marginales largos	no	"	"	flósculo rudimentario
4500	caespitosa	cespitoso	con pelos glandulares (amarillenta) marginales largos	no	"	"	1 arista larga en medio + 2 aristas laterales mas cortas de cada lado/ 1 arista (= a la lema) + 2 aristas laterales mas

							cortas
4500A	caespitosa	rizomas	con pelos glandulares (amarillenta) marginales largos	no	"	"	1 arista corta/ 1 hoja/ 1 lema infértil (1 arista larga+ 2 hojas laterales+ 2 aristas laterales/
4506			con pelos glandulares (amarillenta) marginales largos	no	"	"	1 arista/ lema infértil /1 arista larga + 2 aristas laterales mas cortas)
4507			con pelos glandulares (amarillenta) marginales largos	no	"	"	lema infértil (arista larga + 2 aristas mas cortas)
4516	tenuis	estolones	con pelos glandulares (amarillenta) marginales largos	no	"	"	1 arista/ lema infértil /1 arista larga + 2 aristas laterales mas cortas)
4517	tenuis	estolones	con pelos glandulares (amarillenta) marginales largos	algunas hojas con pocos pelos largos	"	"	lema infértil (1 arista larga + 2 aristas laterales mas cortas)
4519	tenuis	estolones	con pelos glandulares (amarillenta) marginales largos	"	"	"	1 arista/ flósculo rudimentario/ lema infértil (1 arista larga + 2 aristas laterales mas cortas)/ en 1 de las espiguillas de c/ rama la arista mucho mas larga sobresale de la rama
4520	tenuis	estolones	con pelos glandulares (amarillenta) marginales	no	"	"	1 arista larga + 2 aristas laterales mas cortas / lema

			largos				infértil
4540	caespitosa		con pelos glandulares (amarillenta) marginales largos	no	"	"	1 arista/ 1 arista muy pequeña
4545			muy pocos pelos largos marginales sin glándula	algunas hojas con pocos pelos largos	"	"	1 arista/ 1 arista + 2 aristas laterales muy pequeñas
4547			con pelos glandulares (obscura) marginales largos	no	"	"	NO
4549			con pelos glandulares (amarillenta) marginales largos	no	"	"	NO
4562			con pelos glandulares (amarillenta) marginales largos	si	"	"	1 arista
4643		rizomas	con pelos glandulares (amarillenta) marginales largos	si	"	"	1 hoja/ 1 arista larga + 2 aristas laterales mas cortas / lema infértil
4644		cespitoso	con pelos glandulares (amarillenta) marginales largos	si	"	"	1 arista/ 1 arista + 2 hojas laterales/ lema infértil

GLOSARIO

Árbol de consenso: Los árboles de consenso son un tipo de árbol que pueden ser considerados como árboles derivados. Estos árboles se construyen a partir de otros árboles y resumen a un conjunto de árboles. Suele tener dos aplicaciones básicas. Una es la de unir la información obtenida para la misma filogenia pero realizada con datos diferentes, por ejemplo, unir un árbol formado a partir de datos morfológicos y otro de datos moleculares. La otra aplicación que es la más frecuente es para reunir en un solo árbol la presencia de varios árboles resultado de ser los más parsimoniosos en el análisis cladista.

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.

Autapomorfo: apomorfía exclusiva de una especie. Por extensión apomorfía compartida únicamente por un grupo supraespecífico.

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

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 sinapomorfias. Los cladogramas son dirigidos ya que de otro modo no se pueden identificar los clados.

Clasificación. Acción de ordenar los seres vivos en grupos, es decir, distribuirlos por categorías en función de las relaciones de parentesco

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.

Convergencia: Parecido adquirido independientemente en diferentes taxones, por consecuencia no heredados de la especie ancestral a estos taxones. Si la convergencia es en grupos cercanos es paralelismo.

Dendrograma: Cualquier diagrama semejante a un árbol.

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

Fenograma: Dendrograma que clasifica los taxones en función del grado de similitud global. Se calcula a partir de una distancia y se utilizan algoritmos basados en el análisis multivariante.

Filogenética: Corresponde a los postulados de la Sistemática Filogenética.

Filogenia (=filogénesis, genealogía): Historia del desarrollo evolutivo de las especies. Curso histórico de la descendencia de los seres vivos.

Filograma: Un árbol que muestra relaciones genealógicas entre organismos. Difiere del cladograma en que las ramas se dibujan proporcionales a la cantidad de cambio evolutivo. Es propio del evolucionismo. También se le llama dendrograma tipológico.

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.

Índice de consistencia: En un cladograma, mide el grado de homoplasia de los caracteres individuales o del árbol completo. Para los caracteres se define como: $ci=m/s$ siendo m el número de estados menos uno del carácter y s el número de cambios de estado observados. Para el árbol el índice (CI) se calcula como $CI=M/S$, siendo M y S , es decir, la relación entre la longitud del árbol y su longitud mínima.

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.

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

Paralelismo: parecido adquirido independientemente en distintos taxones: un mismo estado apomorfo es adquirido en varios niveles de forma independiente a partir de un mismo carácter ancestral.

Parsimonia: Regla científica que postula que si existen dos respuesta a un problema o cuestiones, entonces la más simple de las dos es la más correcta. En cladística la reconstrucción filogenética que requiere menos cambios (pasos evolutivos) es más parsimoniosa que otra que requiera más pasos.

Plesiomórfico: Estado primitivo (ancestral) de un carácter.

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.

Politomía: un nodo sin bifurcación en un cladograma (tritomía, tetratomía, etc.). Se les llaman también "nodos sin resolver".

Raíz: En un árbol filogenético es el nodo que da origen a todos los terminales. El nodo más reciente a todos los clados es la raíz del árbol.

Simplesiomorfo: Carácter plesiomorfo presente en dos o más taxones.

Sinapomorfo: Carácter apomorfo compartido por dos o más taxones.

Sistemática: Ciencia de la clasificación natural de los seres vivos.

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

Taxón natural: Es un grupo de organismos que existe en la naturaleza. En el ámbito de la Sistemática Filogenética se entiende a una especie particular o a cualquier grupo de organismos monofilético.

Taxón artificial: Son aquellos que no existen en la naturaleza. Son grupos de organismos no monofiléticos.

Taxonomía: La clasificación de organismos vivos en taxones.

Taxonomía filogenética: Rama de la cladística concerniente con la representación verbal (más que con la reconstrucción o estimación) de las relaciones filogenéticas.