



**UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS
DE HIDALGO**

FACULTAD DE BIOLOGÍA

Coordinación de Estudios de Posgrado

**FILOGEOGRAFÍA DE LA MOSCA FLORÍVORA *Zygothrica* sp.
(DIPTERA: Drosophilidae) EN RELACIÓN CON LA ESTRUCTURA
POBLACIONAL DE SU HOSPEDERO *Palicourea padifolia*
(Rubiaceae) EN MÉXICO.**

TESIS

PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE MAESTRA EN CIENCIAS
BIOLÓGICAS

PRESENTA:

Biól. Vanessa Elisabeth Sánchez Acevedo

Directores de tesis

Dr. Luis Felipe Mendoza Cuenca

Dr. Antonio González Rodríguez

Morelia, Michoacán, Agosto del 2012



FACULTAD
DE
BIOLOGÍA

Agradecimientos

Al Programa Institucional de Maestría Ciencias Biológicas de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo (UMSNH), por la oportunidad que me brindo para llevar a cabo la realización de mi proyecto de tesis de Maestría y por lo tanto la formación académica.

Al Consejo Nacional de Ciencias y Tecnología (CONACYT), por la beca otorgada durante la elaboración del proyecto de Maestría (No.239251) el cual otorgo me otorgo la beca de manutención para la elaboración de este proyecto.

A PROMEP por el financiamiento al proyecto de investigación en titulado "*La importancia de los antagonismos: Consecuencias Ecológicas y Evolutivas de la florivoría en Palicourea padifolia*" Financiado en la convocatoria 2007.

Al laboratorio del genética de la conservación del centro de investigaciones en ecosistemas campus Morelia de la Universidad Autónoma de México (UNAM), a cargo del Dr. Antonio González Rodríguez.

Al laboratorio de genética y biología molecular del centro de investigaciones en ecosistemas campus Morelia de la Universidad Autónoma de México (UNAM), a cargo del Dr. Ken Oyama.

Al laboratorio de conducta animal de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo (UMSNH), a cargo del Dr. Luis Mendoza Cuenca.

Al Dr. Luis Felipe Mendoza Cuenca y al Dr. Antonio González Rodríguez, por su apoyo en la colecta e infraestructura que permitió obtener secuencias fundamentales para el trabajo. Por el tiempo que dedicaron a la revisión de este trabajo así como por las observaciones y consejos que me dieron para mejorar la redacción del mismo. Gracias, por revisar, comentar y discutir el trabajo.

A mi comité tutorial, la Dra. Carla Gutiérrez Rodríguez, Dr. Horacio Cano Camacho y al

Dr. Pablo Cuevas Reyes por el asesoramiento, apoyo y comprensión que me brindaron durante la realización de este trabajo.

Al Dr. Víctor Rocha Ramírez, por su apoyo en cuestiones técnicas y por su enseñanza y paciencia en el laboratorio. Por su siempre disponibilidad ayudarme y orientarme en mis dudas y por proporcionarme información.

Al Dr. Juan Peñalosa por la ayuda en los análisis has sido parte fundamental para lograr terminar este proyecto. Gracias por su solidaridad, por todo su tiempo, esfuerzo y trabajo en estos meses finales.

A Paulina Hernández por todas sus enseñanzas sobre todo para los que empezamos desde la nada en las técnicas moleculares, por tu ayuda en la secuenciación de las muestras, gracias por tu amistad y confianza durante todo este tiempo.

A Cesar Andres Torres por su apoyo y enseñanza con los modelos de distribución potencial. Gracias por la disponibilidad, solidaridad y compañerismo que te caracteriza.

A mi familia, mis padres, mis hermanos, gracias por el ejemplo, las enseñanzas y el amor que siempre me han dado y me dan, y particularmente gracias a hija Mónica hubiese sido imposible salir de este proceso sin ella.

A mis compañeros y amigos por todos esos momentos divertidos que pasamos.

ÍNDICE

• RESUMEN	11
• INTRODUCCIÓN GENERAL	12
Marcadores moleculares en Filogeografía.....	14
Modelos de nicho ecológico y Filogeografía.....	15
Interacciones planta-insecto	15
Filogeografía comparada.....	19
La interacción <i>Zygothrica sp.</i> - <i>Palicourea padifolia</i>	20
Estructura de la tesis.....	21
• CAPÍTULO I. Conceptos básicos de marcadores moleculares, análisis de secuencias, filogenia y filogeografía.	
Introducción	23
ADN Mitocondrial como marcador molecular.....	23
Citocromo b.....	25
Citocromo oxidasa I.....	26
Análisis de secuencias y filogeografía.....	26
Reconstrucción filogenética.....	27
Métodos de máxima parsimonia.....	27
Caracteres.....	28
Grupos.....	29
Construcción de cladogramas.....	29
Método de máxima verosimilitud.....	29

Modelos de evolución.....	30
Método bayesiano.....	32
Métodos de análisis filogeográficos.....	33
Redes de haplotipos.....	33
Análisis de clados anidados.....	34
Análisis mismatch.....	35
Estructura genética.....	36
Diversidad haplotípica y nucleotídica.....	36
Diferenciación genética.....	38
Análisis de varianza molecular.....	38

- **CAPÍTULO II. Modelos de nicho ecológico de la mosca florívora *Zygothrica* sp. y de su hospedero *Palicourea padifolia* en los bosque mesófilos de México.**

Introducción.....	41
Materiales y métodos.....	43
Especie de estudio.....	43
Distribución.....	44
Género <i>Zygothrica</i>	46
Modelaje de nicho.....	46
Resultados.....	48
Discusión.....	52

- **CAPÍTULO III. Filogeografía de la mosca florívora *Zygothrica* sp. (Diptera: Drosophilidae) en relación con la estructura poblacional de su hospedero *Palicourea padifolia* (Rubiaceae) en México.**

Introducción.....	57
Interacción antagonista <i>Palicourea-Zygothrica</i>	58
Objetivo general.....	59
Objetivos particulares.....	59
Materiales y métodos.....	60
Métodos de campo.....	60
Métodos de laboratorio.....	60
Extracción de ADN.....	60
Amplificación de las regiones del ADNmt mediante PCR.....	61
Secuenciación.....	62
Análisis de datos.....	62
Resultados.....	64
Resultados.....	64
Reconstrucción filogenética bayesiana.....	65
Diversidad genética	67
Estructura genética.....	73
Discusión.....	75
Estructura filogeográfica de <i>Zygothrica</i> sp. en relación con su hospedero específico <i>Palicourea padifolia</i>	80
• CONCLUSIÓN GENERAL.....	83

• LITERATURA GENERAL.....	84
• GLOSARIO.....	107
• APENDICE.....	116

ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS

ÍNDICE DE TABLAS

- INTRODUCCIÓN GENERAL

Tabla 1. Se muestran las cinco categorías de patrones filogeográficos, divididas en dos grupos; 1) el patrón de divergencia discontinuo y 2) el patrón de divergencia continuo..... 13

- **CAPÍTULO I. Conceptos básicos de marcadores moleculares, Nanálisis de secuencias, filogenia y filogeografía.**

Tabla 1. Complejos de la cadena respiratoria mitocondrial. Su acción y constituyentes principales. (*) Entre paréntesis se recoge el número de péptidos codificados por el ADN mitocondrial..... 24

- **CAPÍTULO II. Modelos de nicho ecológico de la mosca florívora *Zygothrica* sp. y de su hospedero *Palicourea padifolia* en los bosque mesófilos de México.**

Tabla 1. Sitios de colecta de las poblaciones de *Zygothrica* sp. mostrando sus coordenadas de cada población (LAT/LONG)..... 46

Tabla 2. Valores de AUC, para los distintos escenarios de MAXENT utilizados para la mosca florívora *Zygothrica* sp. y *Palicourea padifolia*..... 48

- **CAPÍTULO III. Filogeografía de la mosca florívora *Zygothrica* sp. (Diptera: Drosophilidae) en relación con la estructura poblacional de su hospedero *Palicourea padifolia* (Rubiaceae) en México.**

Tabla 1. Poblaciones y número de ejemplares colectados de *Zygothrica* sp..... 60

Tabla 2. Secuencia de los primers usados para la amplificación de las muestras de <i>Zygothrica sp.</i>	61
Tabla 3. Número de secuencias de cada gen obtenidas por población de <i>Zygothrica sp.</i>	64
Tabla 4. Parámetros de diversidad genética y pruebas de neutralidad para el gen de la citocromo oxidasa I (COI) en cada una de las poblaciones de <i>Zygothrica sp.</i> Número de haplotipos (H), diversidad haplotípica (Hd), diversidad nucleotídica (π), prueba D de Tajima (Taj`D), prueba F_s de Fu (F_s).....	72
Tabla 5. Parámetros de diversidad genética y pruebas de neutralidad para el gen del citocromo b (Cyt b) en cada una de las poblaciones de <i>Zygothrica sp.</i> número de haplotipos (H), diversidad haplotípica (Hd), diversidad nucleotídica (π), prueba D de Tajima (Taj`D), prueba F_s de Fu (F_s).....	72
Tabla 6. Análisis de Varianza Molecular (AMOVA) para el gen de citocromo oxidasa I (COI).....	73
Tabla 7. Análisis de Varianza Molecular (AMOVA) para el gen del citocromo b (Cyt b).....	73
Tabla 8. Estimadores de diversidad genética para insectos, el cuadro muestra la diversidad haplotípica y nucleotídica.....	76
Tabla 9. Variación genética en poblaciones de insectos, en estudios realizados mediante Análisis de Varianza Molecular.....	76
Tabla 10. Valores de diferenciación genética (F_{st}), encontrados en poblaciones de insectos.....	77
Tabla 11. Tests de neutralidad, encontrados en poblaciones de insectos.....	78

ÍNDICES DE FIGURAS

- INTRODUCCIÓN GENERAL.

Figura 1. Ejemplo teórico de distintas interacciones, según signo y magnitud, actuando sobre un “individuo medio” de una población.....	4
--	---

- **CAPÍTULO I. Conceptos básicos de marcadores moleculares, análisis de**

secuencias, filogenia y filogeografía.

Figura 1. Muestra la terminología usada para describir los diferentes patrones de estados de carácter ancestrales y derivados..... 28

- **CAPÍTULO II. Modelos de nicho ecológico de la mosca florívora *Zygothrica sp.* y de su hospedero *Palicourea padifolia* en los bosque mesófilos de México.**

Figura 1. Distribución actual de *Palicourea padifolia* en la República Mexicana... 45

Figura 2. Modelos de nicho ecológico para la mosca florívora *Zygothrica sp.* y para su hospedero *Palicourea padifolia*. Mostrando la distribución potencial (área sombreada) para ambas especies en México, los mapas muestran el escenario para el último interglacial (LIG; ~120 000– 140 000 AP)..... 49

Figura 3. Modelos de nicho ecológico para la mosca florívora *Zygothrica sp.* y para su hospedero *Palicourea padifolia*. Mostrando la distribución potencial (área sombreada) para ambas especies en México, los mapas muestran el escenario para el último máximo glacial (LGM; Last Glacial Maximum ~21 000 AP) utilizando el modelo MIROC (Model for Interdisciplinary Research on Climate)..... 50

Figura 4. Modelos de nicho ecológico para la mosca florívora *Zygothrica sp.* y para su hospedero *Palicourea padifolia*. Mostrando la distribución potencial (área sombreada) para ambas especies en México, los mapas muestran el escenario para el último máximo glacial (LGM; Last Glacial Maximum ~21 000 AP) utilizando el modelo CCSM3 (Community Climate System Model)..... 51

Figura 5. Modelos de nicho ecológico para la mosca florívora *Zygothrica sp.* y para su hospedero *Palicourea padifolia*. Mostrando la distribución conocida y potencial de ambas especies en México..... 52

- **CAPÍTULO III. Filogeografía de la mosca florívora *Zygothrica sp.* (Diptera: Drosophilidae) en relación con la estructura poblacional de su hospedero *Palicourea padifolia* (Rubiaceae) en México.**

- Figura 1.** Filograma del análisis bayesiano del gen citocromo b. Todas las ramas presentaron probabilidades posteriores mayores al 95% y valores de bootstrap mayores de 75%..... 66
- Figura 2.** Filograma del análisis bayesiano del gen citocromo oxidasa I. Todas las ramas presentaron probabilidades posteriores mayores al 95% y valores de bootstrap mayores de 75%..... 66
- Figura 3.** Distribución y frecuencia de los 59 haplotipos identificados en la región Cyt B en las poblaciones de *Zygothrica sp.* Se muestran las provincias biogeográficas de México reconocidas por Arriaga et al. (1997). Aps, Altiplano Sur; bal, depresión del Balsas; chi, Los Altos de Chiapas; gm, Golfo de México; oax, Oaxaca; ptn, El péten; scn, Soconusco; sme, Sierra Madre Oriental; sms, Sierra Madre del Sur..... 68
- Figura 4.** Red de haplotipos para las poblaciones de *Zygothrica sp.* correspondiente al gen citocromo b, los círculos pequeños muestran haplotipos inexistentes que pudieron no haber sido muestreados o que existieron en algún momento y que desaparecieron..... 69
- Figura 5.** Distribución y frecuencia de los 29 haplotipos identificados en la región COI en las poblaciones de *Zygothrica sp.* Se muestran las provincias biogeográficas de México reconocidas por Arriaga et al. (1997). Aps, Altiplano Sur; bal, depresión del Balsas; chi, Los Altos de Chiapas; gm, Golfo de México; oax, Oaxaca; ptn, El péten; scn, Soconusco; sme, Sierra Madre Oriental; sms, Sierra Madre del Sur..... 70
- Figura 6.** Red de haplotipos para las poblaciones de *Zygothrica sp.* correspondiente al gen de la citocromo oxiadasa I. Los círculos rojos pequeños muestran haplotipos inexistentes que pudieron no haber sido muestreados o que existieron en algún momento y que desaparecieron..... 71

RESUMEN

Por el gran efecto que las interacciones bióticas tienen sobre los procesos demográficos y genealógicos tanto en plantas como en animales, son particularmente interesantes los estudios de filogeografía comparada, de los haplotipos citoplásmicos de especies co-distribuidas, con el objeto de estudiar patrones co-evolutivos comunes. En esta tesis se estudió la estructura filogeográfica de la mosca florívora *Zygothrica sp.* para evaluar si muestra congruencia con los patrones de distribución y estructura filogeográfica de su hospedero específico, la planta diestílica *Palicourea padifolia* (Rubiaceae), a lo largo de su distribución en los bosques mesófilos de México. Se colectaron 124 individuos de *Zygothrica sp.* en 9 poblaciones que comprenden una parte de la distribución reportada para *P. padifolia* en México. Se amplificaron por PCR los fragmentos del ADN mitocondrial correspondientes a la citocromo oxidasa I y al citocromo b, los cuales han sido ampliamente utilizados en estudios de filogeografía de insectos. Los resultados mostraron poca estructuración genética y altos niveles de diversidad genética dentro de las poblaciones de *Zygothrica sp.*, sugiriendo que ha existido suficiente flujo génico entre todas las poblaciones para homogeneizar la estructura genética. La mayor parte de la variación genética fue explicada por diferencias entre individuos dentro de las poblaciones y por diferencias entre grupos formados por poblaciones en diferentes parches del bosque mesófilo. Las poblaciones a ambos lados del Istmo de Tehuantepec no mostraron una diferenciación genética marcada contrario a las predicciones de los modelos de nicho ecológico, que sugerían el rompimiento de las poblaciones por el Istmo de Tehuantepec tanto de *Zygothrica sp.* como de su hospedero *P. padifolia*. y que son resultados consistentes con la evidencia biogeográfica y filogeográfica de otras especies, que muestran que el Istmo de Tehuantepec funcionó como corredor para las especies en algún periodo frío de inicios del Pleistoceno, y después como un barrera. Finalmente se encontró que no existe congruencia entre la estructura genética de la mosca florívora y de su hospedero *P. padifolia* a lo largo en los bosques mesófilos en México.

Palabras claves: florivoría, especialista, planta hospedera, díptero, ADNmt, bosques mesófilos.

INTRODUCCIÓN GENERAL.

La filogeografía es la rama de la biogeografía que trata de los principios y procesos que rigen las distribuciones geográficas de los linajes de genes, especialmente entre y dentro de especies cercanamente relacionadas (Avice, 1998; Avice, 2000). Este tipo de análisis, y su interpretación, requieren de datos provenientes de disciplinas como la genética molecular y de poblaciones, la demografía, la biología evolutiva, la sistemática filogenética, la paleontología, la geología y la geografía histórica. Esto hace de la filogeografía una disciplina integrativa que se encuentra en el cruce entre la macro- y la micro-evolución (Avice, 2000).

La filogeografía es una disciplina relativamente reciente que surgió a raíz de los estudios de variación genética realizados con isoenzimas, RAPDs, RFLPs y el descubrimiento del ADN mitocondrial (ADNmt) como molécula informativa para análisis filogenéticos y de genética de poblaciones. Los análisis filogeográficos han permitido obtener información sobre la forma, el momento y la magnitud con la que los eventos geológicos (e. g. elevación de continentes, formación de montañas, glaciaciones), procesos ecológicos (e. g. cambios en comunidades bióticas) y demográficos (e. g. colonización, extinción, aumento o reducción poblacional) han impactado en la distribución de la variación genética de las poblaciones de diversas especies (Avice, 1987; Avice, 2000). En filogeografía, la hipótesis principal, establece que la mayoría de las especies se componen de poblaciones estructuradas geográficamente, y que las diferentes poblaciones ocupan ramas o grupos filogenéticos distintos en una filogenia intraespecífica. Esta concordancia de los grupos filogenéticos con la distribución geográfica se conoce como patrón filogeográfico y puede ser marcado o moderado dependiendo del flujo de genes (Avice, 1987; Avice, 2000).

A partir de la hipótesis anterior se pueden derivar los siguientes escenarios: i) cuando las especies tienen un patrón filogeográfico moderado poseen historias de vida con amplios patrones de dispersión y no han tenido impedimentos al flujo génico y, ii) un patrón filogeográfico marcado está asociado a la existencia de barreras que limitan el flujo génico interpoblacional (Avice, 1987; Avice, 2000). Se ha demostrado que diversas especies de animales tienen un patrón filogeográfico marcado, lo cual implica que los linajes genealógicos tienen una alta concordancia con su distribución geográfica. Lo anterior se ha observado tanto en especies de vertebrados (e. g. Seutin, 1993; Hendersson y Hegdes, 1995; Ryan, 1996; Da Silvia y Patton, 1998; Perdise, 2002),

como de invertebrados (e.g. Wilcox, 1997; Wen- Bin, 2004; Hochkirch, 2009). No obstante, también hay casos de patrones filogeográficos moderados (Bermingham y Avise, 1986) o incluso ausentes (Chapco, 1992; McMillan y Bermingham, 1996; Zeh, 2003). Las explicaciones al origen de todos estos patrones filogeográficos se fundamenten principalmente en los niveles de flujo génico entre poblaciones y la presencia o ausencia de barreras que establecen diferentes niveles de aislamiento geográfico entre las poblaciones.

A partir de los datos generados en distintos taxa, se han propuesto cinco grandes categorías de patrones filogeográficos, a partir de filogenias derivadas del ADNmt (Avise, 1987; Avise, 2000). Estas categorías se pueden dividir en dos grupos de acuerdo a los patrones de divergencia genética. El patrón de divergencia discontinuo indica una separación filogenética pronunciada entre linajes, mientras que el patrón de divergencia continuo indica una escasa separación filogenética entre linajes (Tabla 1).

Tabla 1. Se muestran las cinco categorías de patrones filogeográficos, divididas en dos grupos; 1) el patrón de divergencia discontinuo y 2) el patrón de divergencia continuo.

Categoría	Patrón de divergencia genética	Distribución geográfica	Circunstancias evolutivas probables
I	Discontinuo	Grupos filogenéticos separados por muchas mutaciones y cada grupo se encuentra en regiones geográficas diferentes.	Barreras ancestrales al flujo génico o la extinción de linajes intermedios en especies de flujo génico
II	Discontinuo	Grupos filogenéticos separados por muchas mutaciones aunque ocupan las mismas regiones geográficas.	Migración reciente a esas regiones y/o existencia de barreras en la especie
III	Continuo	Grupos filogenéticos escasamente diferenciados. Ocupando regiones geográficas diferentes.	Flujo génico limitado en ausencia de barreras geográficas.
IV	Continuo	Grupos filogenéticos escasamente diferenciados ocupando las mismas regiones geográficas.	Flujo génico extensivo en ausencia de barreras geográficas.
V	Continuo	Grupos filogenéticos escasamente diferenciados, ocupando las mismas regiones geográficas y algunos grupos son mas frecuentes en regiones específicas.	Flujo génico intermedio en ausencias de barreras geográficas.

Marcadores moleculares en filogeografía

Se utilizan marcadores moleculares como herramienta básica en los estudios filogeográficos. Estas técnicas han integrado marcadores tales como el ADN mitocondrial en animales y el ADN del cloroplasto en plantas.

El ADN mitocondrial (ADNmt), presente en el citoplasma en animales ha sido ampliamente utilizado en estudios evolutivos y en estudios filogeográficos debido tanto a que no experimenta recombinación sexual como que al ser de herencia exclusivamente materna permite que los polimorfismos que ocurrieron miles de años atrás se presenten todavía en altas frecuencias y también al alto número de copias con las que se presenta dentro de la célula (Hwang & Kim, 1999). A pesar de no ser tan variable como otros marcadores y tener una baja tasa de mutación, nos permite crear genealogías de genes de linajes matrilineales y nos provee de información histórica preservada en sus secuencias a través de gran número de generaciones (Avise, 2000).

El ADNmt es una macromolécula común a todos los seres vivos, que puede considerarse como cronómetro molecular o documento de la historia evolutiva. Asumiendo que los cambios mutacionales se producen al azar y que aumentan con el tiempo de manera lineal, las diferencias en la secuencia de los monómeros (nucleótidos o aminoácidos) que integran macromoléculas homólogas presentes en dos especies, reflejan la distancia evolutiva existente entre ellas (Zuckerandl & Pauling, 1964)

Las secuencias de ADN mitocondrial y del cloroplasto muestran polimorfismos intraespecíficos, que pueden ser revelados por la longitud de los fragmentos de restricción de fragmentos de ADN amplificados por el método de reacción en cadena de la polimerasa (PCR-RFLP) (Kremer, 2002). El método de secuenciación también permite conocer polimorfismos intraespecíficos en fragmentos específicos de ADN. Ambos métodos detectan variación en las secuencia de nucleótidos, denominándose haplotipos a las variaciones en al menos un nucleótido en la secuencia (Lewin, 1994). En este mismo sentido los haplotipos se definen como una secuencia de alelos o genes ligados en una copia simple de un cromosoma o en el ADNmt (Hedrick, 2005). Dada una muestra de haplotipos, la relación puede ser reconstruida hacia atrás en el tiempo hasta el haplotipo ancestral común (Machado, 2003).

Modelos de nicho ecológico y filogeografía

Una herramienta complementaria para comparar y robustecer los estudios filogeográficos y las hipótesis biogeográficas es el uso de modelos de nicho ecológico, los cuales han contribuido a predecir las distribuciones pasadas y presentes de las especies (Waltari, 2009). Los modelos de nicho ecológico (ENMs) son una técnica que permite estimar áreas actuales o potenciales de distribución de una entidad (especies, poblaciones), usando principalmente registros de presencia y/o ausencia en el espacio de interés (Peterson, 2004). El modelo de nicho ecológico ha sido aplicado en disciplinas como ecología, biogeografía, genética del paisaje y biología de la conservación (Peterson, 2007). Los modelos de distribución potencial han sido ampliamente utilizados para reconstruir áreas de distribución geográfica de las especies en el pasado durante el último máximo glacial (LGM, por sus siglas en inglés, hace aproximadamente 20,000 años) y el último máximo interglacial (LIM, hace aproximadamente 140,000 años), lo cual ha ayudado a contrastar y complementar patrones filogeográficos obtenidos con marcadores moleculares (Jakob, 2009).

Interacciones planta-insecto.

Desde un punto de vista evolutivo, las interacciones han jugado un papel fundamental en la diversificación de las especies (Mendel, 1999) (Fig. 1), resultado de una serie de adaptaciones recíprocas entre pares o grupos de especies interactuantes. De tal manera que la gran diversidad de interacciones bióticas (e. g. mutualistas y antagonistas), puede influir en la evolución y dinámica poblacional, la abundancia, distribución y viabilidad en las poblaciones vegetales y animales.

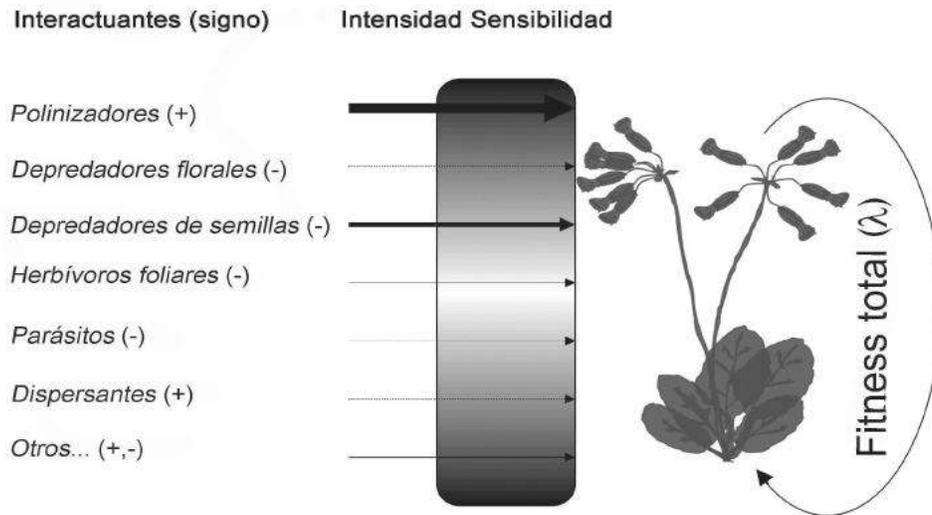


Figura 1. Ejemplo teórico de distintas interacciones, según signo y magnitud, actuando sobre un “individuo medio” de una población. La sensibilidad del organismo (representada mediante un filtro claroscuro) a cada interacción (representadas mediante flechas, cuyo grosor indica la intensidad) es fundamental para determinar si sus efectos son importantes (flechas sobre fondo blanco) o poco trascendentes (flechas sobre fondo oscuro). (Mendel 1999).

En su hábitat natural, las plantas reciben simultáneamente diferentes estímulos bióticos y abióticos, a los que deben responder de muy diversas formas. Por su gran diversidad, las plantas son consumidas por más de un millón de especies de insectos de diferentes grupos taxonómicos, que usan diversas estrategias de alimentación para obtener los nutrientes en diferentes estructuras de la planta (Camarena, 2003).

Se han documentado ejemplos del efecto que tiene la florivoría y la herbivoría en la dinámica poblacional de diversas especies de plantas. Por ejemplo la remoción de hojas puede no tener ningún efecto o un efecto negativo en el desempeño futuro de las plantas dependiendo del período en el que fue removido el tejido. Así una defoliación temprana en la temporada puede reducir la producción de semillas y el crecimiento futuro, mientras la remoción de hojas durante el desarrollo de los frutos afectará el desempeño del siguiente año (García & Ehrlen, 2002).

La florivoría por su parte puede afectar tanto la calidad de flores dañadas, como la cantidad y frecuencia de las visitas de polinizadores, y estos dos factores pueden interactuar de manera sinérgica o independiente afectando la adecuación de la plantas (Canela & Sazima 2003). Si el florívoro reduce la capacidad reproductiva de una planta,

la estructura genética de la población de esa planta se alterará, por lo tanto, podría esperarse que la presión selectiva que representan los insectos florívoros resulte en cambios evolutivos para las especie de plantas que sufren el ataque y dependiendo de la intensidad del daño o del efecto sobre la adecuación de las plantas puede darse el desarrollo de mecanismos de resistencia contra el florívoro o el desarrollo de tolerancia (Mendel, 2006).

Las plantas pueden ser tolerantes a los efectos de la florivoría al menos a través de tres mecanismos no excluyentes: 1) produciendo más flores después del daño o abortando las flores dañadas para ahorrar recursos para flores futuras especialmente cuando el daño floral ocurre temprano en la temporada de floración (Olesen, 1992), 2) reasignando recursos, de tal manera que flores, óvulos o frutos de reserva pueden ser selectivamente madurados cuando otras estructuras reproductivas sean dañadas o removidas (Ashman, 2004), 3) incrementando el atractivo o la fecundidad potencial de las flores individuales, a través de incrementar el tamaño floral o el número de granos de polen después del ataque.

Sin embargo, las plantas también han desarrollado diversas estrategias para resistir a sus enemigos naturales, lo que sugiere que requieren una serie de mecanismos de defensa para combatir efectivamente la gran diversidad de enemigos naturales que pueden comprender desde la invasión por patógenos, hasta el ataque por insectos florívoros y herbívoros. Estos mecanismos incluyen barreras físicas y químicas preexistentes, también como respuestas de defensa, activadas por la infección de patógeno o de la herbivoría por insectos, las cual ayudan a la planta a minimizar el daño causado por el depredador. Además dentro de los múltiples factores que estarían regulando la interacción insecto-planta y la evolución de la especialización de los insectos fitófagos hacia uno o varios hospederos, uno de los más importantes es la química de compuestos secundarios (Ehrlich & Raven, 1964; Rausher, 1984; Keese, 1997).

En este sentido la teoría de defensa óptima predice que los mayores niveles de defensa deben estar asociados con los tejidos de la planta que son más valiosos en términos de adecuación. Sin embargo los niveles de defensa floral pueden modificarse por costos ecológicos y de asignación, ya que rasgos que se utilizan en la defensa contra florívoros pueden actuar en contra de la atracción de polinizadores (Strauss, 2002), y las

plantas pueden experimentar presiones selectivas opuestas en sus rasgos florales a través de la polinización vs. la florivoría (Ashman, 2004). Si los costos ecológicos y de asignación de las defensas florales superan los beneficios en términos de adecuación asociados con la reducción de la florivoría, entonces, reducir o inducir las defensas en las flores puede ser favorecido por la presencia de altos niveles de defensas constitutivas (Strauss & Irwin, 2004). Un supuesto importante de la teoría de defensa óptima es que las plantas son capaces de regular los niveles de defensa en diferentes tejidos de manera independiente. Algunos estudios ecológicos han sugerido que dicha regulación independiente puede ocurrir, incluyendo evidencia respecto a que las defensas en los tejidos florales son tan inducibles como en los tejidos foliares (Wackers & Bonifay, 2004; Strauss et al., 2004). Incluso algunos estudios moleculares han identificado altos niveles de expresión génica en tejidos florales que no han sido reportados en otros tejidos vegetales (Hause, 2000).

La florivoría puede tener consecuencias en varios componentes de adecuación. Un ejemplo es la variación en el número de flores de *Lathyrus vernus*, especie en la que, un aumento de la producción floral conlleva un mayor éxito en la fructificación, pero también conlleva un mayor riesgo de herbivoría floral (aumento de hasta el 30%). Las plantas producen menos semillas cuando son atacadas, además de producir menos flores al siguiente año (y por lo tanto de nuevo menos semillas) (Mendel, 1999).

Por otro lado un ejemplo mejor documentado y convincente de coevolución entre insectos herbívoros y defensa química de las plantas es la interacción planta-herbívoro que se establece entre *Pastinaca sativa* y las orugas de *Depressaria pastinacella*. La planta es una umbelífera que posee defensas químicas, específicamente varias furanocumarinas, que protegen sus inflorescencias. Su enemigo natural es capaz de detoxificar las defensas químicas (furanocumarinas) en distinto grado. En la interacción con su enemigo natural, la planta se ha tenido que re-adaptar incrementando sus defensas químicas, mientras que la oruga incrementa una enzima detoxificadora (Zangerl & Berenbaum, 2005).

Sin embargo no todas las plantas responden igual a la herbivoría. Por tanto, la interacción tiene el potencial de variar entre comunidades desde mutualismo y comensalismo, hasta antagonismo, dependiendo del contexto de comunidad (Thompson & Cunningham, 2002). Está documentado que en las interacciones existen componentes

ecológicos que pueden influir en la evolución de la especialización trófica en insectos fitófagos como son la disponibilidad de recursos, la sincronización de la fenología insecto-planta (Feeny, 1970), la presencia de depredadores y parasitoides, la arquitectura de la planta y la calidad nutricional del hospedero (Fuentes & Yates, 1994).

Filogeografía comparada

Un desarrollo importante de los estudios filogeográficos es la oportunidad de realizar análisis de filogeografía comparada entre diversos taxa simpátricos tanto animales como vegetales lo que nos permite entender la relación existente entre la historia geológica, climática y la diversificación de los organismos (Arbogast & Kenagy, 2001).

Los análisis de filogeografía comparada pueden revelar patrones biogeográficos previamente no reconocidos que sugieren que la vicarianza ha jugado el papel preponderante en el desarrollo histórico de las asociaciones contemporáneas de los organismos (Riddle, 2000; Arbogast & Kenagy, 2001). Son estudios de alta resolución, que permiten evaluar las asociaciones entre procesos poblacionales de diferentes taxones que han evolucionado independientemente, pero en las que los patrones regionales filogenéticos y geográficos son concordantes, lo que se considera como evidencia de la influencia de factores ecológicos y/o evolutivos en la estructura y la distribución actual de las especies.

Los patrones concordantes de diversidad genética pueden así facilitar estrategias de conservación, dado que pueden designarse áreas de protección estratégicas (Evans, 2003). El hecho de que una región tenga una historia evolutiva y ecológica propia, hace que tenga un valor propio de conservación (Riddle et al., 2000). Es evidente que la filogeografía comparada ha contribuido a mejorar áreas para protección que maximicen la representación no sólo de riqueza y diversidad de especies, sino que incorporen explícitamente su persistencia (i.e. que protejan los procesos que sostienen dicha diversidad; Ferrier, 2002).

En lo que respecta a las asociaciones e interacciones ecológicas, los sistemas parásito-hospedero han sido modelos ideales para explorar historias evolutivas en los estudios de filogeografía comparada, debido a que los procesos históricos y las barreras geográficas que afectan al anfitrión también pueden afectar a sus especies asociadas, como consecuencia causando patrones filogeográficos congruentes (Razo-Mendivil,

2010). Sin embargo, existen pocos trabajos que hayan evaluado la filogeografía comparada de dos especies antagonistas que representan una interacción especialista como es el caso de la interacción de la mosca florívora *Zygothrica sp.* y su planta hospedera *Palicourea padifolia*, que es el caso de estudio de este trabajo.

La interacción *Zygothrica sp.*- *Palicourea padifolia*

Las especies del género *Zygothrica sp.* (Drosophilidae) ocurren en la ecozona Neotropical e Indopacífico. Todas las especies son florívoras durante la etapa larvaria y sus hospederos de oviposición son predominantemente flores de diferentes especies de plantas, aunque prefieren flores voluminosas y carnosas, donde la larva puede alimentarse de los tejidos reproductivos principalmente estilo, pétalos y brácteas (Grimaldi, 1987).

En la interacción entre *Zygothrica sp.* y su hospedero, la planta diestílica *Palicourea padifolia* (Rubiaceae), la hembra de la mosca oviposita en los botones florales de la planta y la larva se desarrolla dentro del botón y se alimenta de los granos de polen. Típicamente el botón floral atacado cae al suelo antes de abrir como flor y es donde la larva pupa y de donde emergerá el adulto para completar el ciclo. La incidencia de ataque de las moscas de *Zygothrica sp.* varía entre poblaciones pero pueden atacar hasta el 84% de los botones florales de *P. padifolia* en una sola temporada, por lo que la actividad de los florívoros representan una importante reducción en la adecuación de su hospedero (Martínez-Rodríguez et al., *en prep.*).

Un antecedente importante para este estudio es el análisis genético de poblaciones de *P. padifolia* utilizando ADN de cloroplasto, en el que se encontraron altos niveles de diversidad y flujo génico tanto al interior de las poblaciones, como entre fragmentos diferentes de bosque mesófilo en México (Gutiérrez-Rodríguez et al., 2011). Sin embargo, Gutiérrez-Rodríguez et al. (2011) encontraron también dos grupos genéticamente diferenciados, con las poblaciones de Hidalgo, Oaxaca, Puebla y Veracruz formando un grupo bien soportado y las poblaciones de Chiapas representando un grupo genéticamente aislado. Tal estructura filogeográfica sugiere un factor que contribuyó a la estructura genética de *P. padifolia* y resalta el papel del Istmo de Tehuantepec como una barrera geográfica ante la dispersión de los individuos y genes de las poblaciones de *P. padifolia* en México.

La interacción entre la mosca florívora *Zygothrica sp.* y su hospedero específico, la planta diestílica *P.padifolia*, ofrece una excelente oportunidad de estudiar la filogeografía comparada de una interacción antagonista insecto-planta. Por lo tanto, el presente trabajo se enfocó en analizar la filogeografía de la mosca florívora *Zygothrica sp.* y evaluar si existe congruencia con los patrones de distribución geográfica y estructura genética de su hospedero específico *Palicourea padifolia* (Rubiaceae) a lo largo de su distribución en los bosques mesófilos de México.

Estructura de la tesis

La presente tesis se divide en tres capítulos. El primer capítulo se hace una revisión general de conceptos básicos de análisis de secuencias y filogeografía.

En el segundo se presentan modelos de nicho ecológico de *Zygothrica sp.* y *Palicourea padifolia*. El objetivo particular de este capítulo fue modelar la distribución geográfica potencial (i. e. pasada y presente) de las poblaciones de *Zygothrica sp.* y *P. padifolia* en los bosques mesófilos de México.

En el tercer capítulo se estudió la variación en el ADN mitocondrial de los genes de la citocromo oxidasa I y de el citocromo b de *Zygothrica sp.* a través de su de distribución en los bosque mesófilos de México, para determinar la estructura filogeográfica. Los objetivos particulares en este capítulo fueron: (1) Estimar los niveles de variación genética en las poblaciones de *Zygothrica sp.* con base en el ADNmt (2) Conocer la estructura genética de *Zygothrica sp.* a escala geográfica de su distribución geográfica (3) Comparar los patrones filogeográficos de *Zygotricha sp.* con los de su hospedero específico *P. padifolia* y determinar si están correlacionados.

CAPÍTULO I

*Conceptos básicos de marcadores moleculares,
análisis de secuencias, filogenia y filogeografía.*

Introducción.

En 1987 Avise acuñó el término filogeografía y lo definió como el estudio de los principios y procesos que gobiernan la distribución geográfica de especies y grupos de especies cercanamente relacionadas. La filogeografía se ha considerado una subdisciplina de la biogeografía histórica por que trata aspectos históricos de la distribución actual de los linajes (Lomolino, 2005)

Esta disciplina es el resultado de la unión del estudio de procesos microevolutivos y macroevolutivos (Avise, 2004). La filogeografía integra varias disciplinas, entre ellas genética molecular, genética de poblaciones, etología, biología filogenética, paleontología, geología y geografía histórica (Avise, 2000). De esta manera las inferencias filogeográficas son muy robustas permitiendo plantear hipótesis históricas.

ADN mitocondrial como marcador molecular

La filogeografía utiliza como herramienta marcadores de herencia citoplasmática, como el ADNmt y el ADN de cloroplasto (ADNcp), ya que ambos frecuentemente son heredados por vía materna, lo que permite detectar linajes matrilineales, no están sujetos a recombinación, constituyen linajes jerárquicos y no muestran una relación entre individuos (Irwin, 2002).

Las mitocondrias son organelos citoplasmáticos implicados en la fosforilación oxidativa. La cadena respiratoria mitocondrial está compuesta por cinco complejos (tabla 1) y dos moléculas que actúan a modo de nexo de unión o lanzadera, la Coenzima Q y el Citocromo C.

La función mitocondrial está regulada por un doble sistema genético, uno propio, el ADN mitocondrial (ADNmt), que procede exclusivamente del óvulo, integrado por 16,569 pares de bases que codifican 22 ARN de transferencia, 2 ARN ribosómicos y 13 péptidos de la cadena respiratoria mitocondrial (Tabla 1) (Arenas, 1996).

Tabla 1. Complejos de la cadena respiratoria mitocondrial. Su acción y constituyentes principales. (*) Entre paréntesis se recoge el número de péptidos codificados por el ADN mitocondrial.

Complejo	Nombre	Constituyente	Acción
I	NADH-CoQ oxidorreductasa	25 polipéptidos (7)	Oxidación NADH
II	Succinato CoQ oxidorreductasa	5 polipéptidos (0)	Oxidación sustratos FADH2 dependientes
III	QH2 citocromo C oxidorreductasa	11 subunidades (1)	Oxidación sustratos NADH y FADH2 dependientes
IV	Citocromo C oxidasa (CO)	13 subunidades (3)	Transfiere equivalentes reductores del Citocromo C al
V	ATP sintasa	2 subunidades 12-14 polipéptidos (2)	Convierte gradiente transmembrana en energía (ADP pasa a ATP)

Dentro del análisis molecular en animales, el ADNmt es uno de los marcadores genéticos más utilizados. El ADNmt de vertebrados es una molécula circular de entre 16 y 18 kb con una disposición conservada.

El ADNmt ha jugado un papel fundamental en el desarrollo de la genética de poblaciones y en la genética evolutiva (Rand, 2001). El ADNmt presenta características únicas como marcador molecular, permitiendo diversas aplicaciones en el entendimiento de los patrones de variación genética debido a los altos niveles de variación intra-específica que muestra, a que posee una herencia materna, que no presenta recombinación génica, tiene una alta tasa de mutación, carece de ADN repetitivo (pseudogenes, transposones e intrones) y el tipo de cambio genético es mayormente por sustitución y algunas eliminaciones o adiciones que ocurren en pocos nucleótidos (Avise, 2000).

Las células somáticas típicas poseen cientos de miles de mitocondrias, cada una con varias copias de ADNmt, sin embargo, en general existe un haplotipo mitocondrial preponderante por cada individuo. Esta característica denominada homoplasia, resulta fundamental para poder realizar un análisis filogeográfico donde las unidades de estudio son los individuos. Por otro lado el rol genético del ADNmt parece haberse conservado de manera universal, y exhibe una sorprendente variación en cuanto a su conformación y tamaño, así como en su contenido génico, la organización de sus componentes y sus patrones de expresión (Burge & Lang, 1999).

El ADNmt también ha sido usado en análisis filogenéticos, por su herencia materna independientemente del ADN nuclear. En particular el ADNmt es usado para inferir las relaciones filogenéticas de especies que divergieron recientemente. Las secuencias del ADNmt que han recibido mayor atención son los genes del ARN ribosomal (12S y 16S), la Citocromo Oxidasa I y II, así como el Citocromo b, y la región control (Avise, 1987). Cuando se analizan secuencias de genes mitocondriales, las unidades terminales del análisis filogenético son los haplotipos mitocondriales o variantes del ADNmt. El número de haplotipos presentes en una especie o población brinda una estimación de su diversidad genética y permite realizar inferencias sobre su historia evolutiva (Gómez-Zurita, 2000; Juan *et al.*, 2000).

En este estudio se seleccionó el gen de la Citocromo Oxidasa I y el gen del Citocromo b por ser de los genes mitocondriales más utilizados en el estudio filogeográfico de variación intra-específica en insectos. El elevado número de trabajos publicados aplicando esta metodología permite que la amplificación de dicho gen sea rápida y eficiente, y que se puedan realizar comparaciones de los resultados con los obtenidos para otras especies (Scataglini, 2006; Sequeira, 2008).

Citocromo b

El citocromo b se encuentra en la mitocondria de todos los organismos eucarióticos. La proteína del citocromo b está localizada en el Complejo III de la membrana interna de la mitocondria junto con otras proteínas formando a su vez el complejo citocromo bc1. El citocromo b es uno de los citocromos involucrados en el transporte de electrones en la cadena respiratoria de la mitocondria. Este contiene ocho hélices transmembranales conectadas por dominios intra o extramembranales (Esposti, 1993).

Esta proteína ha sido de mucha utilidad en estudios de diferentes organismos para inferir relaciones evolutivas (Irwin, 1991) y filogenéticas (Wright, 1999), además de su amplia utilidad en los estudios filogeográficos (Avise, 1987)

Citocromo Oxidasa I

La Citocromo Oxidasa I (COI) es un gen codificante que se encuentra en las mitocondrias de todos los organismos eucarióticos. En general es una región conservada en todos los organismos aerobios investigados (Saraste, 1990).

La región COI ha sido ampliamente utilizada para inferir la historia y/o la estructura poblacional de una amplia variedad de organismos. Algunas características que le hacen particularmente conveniente para estudios evolutivos son que es una región codificante y lo suficientemente conservada como para mostrar la historia matrilineal de los linajes (Lunt, 1996). Además, se ha convertido en una de las moléculas claves para resolver uno de los problemas más antiguos de la Biología: la identificación de especies (Tautz, 2003), pues un segmento del gen COI de aproximadamente 700 bp fue elegido como marcador universal en el proyecto “código de barras de la vida” debido a la existencia de primers universales (Folmer, 1994) y una alta tasa de mutación en la tercera posición de los codones, que le confiere una posibilidad de cambio tres veces mayor a la de otros marcadores. Además, esta sección casi no presenta inserciones o deleciones (indels), por tanto, los alineamientos son mucho más sencillos de realizar al no presentarse gaps (Hebert, 2003).

ANÁLISIS DE SECUENCIAS Y FILOGEOGRAFÍA

Las diferencias fenotípicas y genotípicas en las poblaciones de una misma especie a lo largo de su distribución es conocida como variación geográfica (Futuyma, 1998). Las inferencias de las fuerzas evolutivas, como selección natural, diferenciación alopátrica y su efecto en las poblaciones, se han estudiado comúnmente por medio de variación morfológica, aunque en ocasiones esta pueda no existir o sea difícil de percibir. Debido a ello y a que la variación genética permite hacer inferencias sobre los procesos evolutivos, se han aplicado métodos moleculares capaces de revelar la asociación entre la variación geográfica y la variación genética (Zink, 1994)

Una de las formas en que pueda estudiarse la variación genética de las especies y sus poblaciones es la filogeografía, la cual permite evaluar los aspectos históricos de la distribución espacial contemporánea de linajes de genes. Mediante esta disciplina, ha sido posible precisar la relación entre la distribución geográfica y los patrones de

diversidad y estructura genética de las especies, además de los procesos evolutivos asociados. Con ello se ha conseguido un mejor entendimiento de patrones de colonización, migración y diversificación de las especies (Avice, 1998).

En este mismo sentido en los últimos años, el desarrollo de marcadores moleculares basados en el ADN ha tenido un gran impacto en el estudio de la variación a nivel genético, el mapeo de genes y en la exploración de las secuencias de ADN y la comprensión de los eventos genéticos y evolutivos (Dodgson et al., 1997).

El presente escrito tiene como objetivo hacer una revisión de los diferentes métodos de análisis de secuencias de ADN y filogeografía con la finalidad de determinar posteriormente los patrones filogeográficos de la mosca florívora *Zygothrica* sp.

RECONSTRUCCIÓN FILOGENÉTICA

En relación con los métodos de análisis filogenéticos más utilizados para inferir patrones filogeográficos son los basados en los criterios de Máxima Parsimonia y de Máxima Verosimilitud, así como las reconstrucciones basadas en inferencia Bayesiana.

MÉTODOS DE MÁXIMA PARSIMONIA

Con el desarrollo de la Sistemática Filogenética (Henning, 1950), se concretó una teoría coherente para investigar y entender las relaciones de ancestro descendencia que existen entre las especies, a través del estudio de los procesos de transformación morfológica y la especiación. La finalidad del cladismo es formar grupos hermanos, usando caracteres morfológicos, ecológicos, fisiológicos o moleculares, aplicando un criterio de selección de hipótesis en donde la solución más simple es la mejor, minimizando así el número de hipótesis (*i.e* homoplasias) sobre una filogenia (Egan & Crandall 2006). Los resultados son expresados en diagramas de ramas ó cladogramas, que hacen referencia a las relaciones genealógicas (Page y Holmes, 1998). El análisis con Máxima Parsimonia funciona de manera eficiente con el análisis de secuencias de ADN con divergencia moderada, aunque puede ser poco preciso cuando las secuencias presentan una gran divergencia, ya que si algunas ramas en una filogenia han evolucionado a una tasa mayor que otras es posible que acumulen homoplasias y analizar con Máxima Parsimonia tiende a agrupar esas ramas (atracción de ramas largas) rindiendo inferencias filogenéticas erróneas (Egan & Crandall, 2006).

Caracteres

En 1950 Henning definió a los caracteres que se encuentran en la morfología ancestral de un linaje como plesiomórficos, mientras que los caracteres con morfología lejana del ancestro como apomórficos. Los grupos hermanos son formados por la identificación de caracteres sinapomórficos, que derivan del ancestro común más reciente (Fig. 1) (Kitching et al., 1998). Henning identificó también otros caracteres:

1. Caracteres autopomórficos: como aquellos rasgos distintivos de taxa terminales.
2. Caracteres simplesiomórficos son rasgos más primitivos heredados de un ancestro más remoto que el ancestro común, sin embargo, estos caracteres son irrelevantes para el cladismo.
3. Caracteres homoplásicos son reconocidos como convergencias, regresiones o paralelismos.

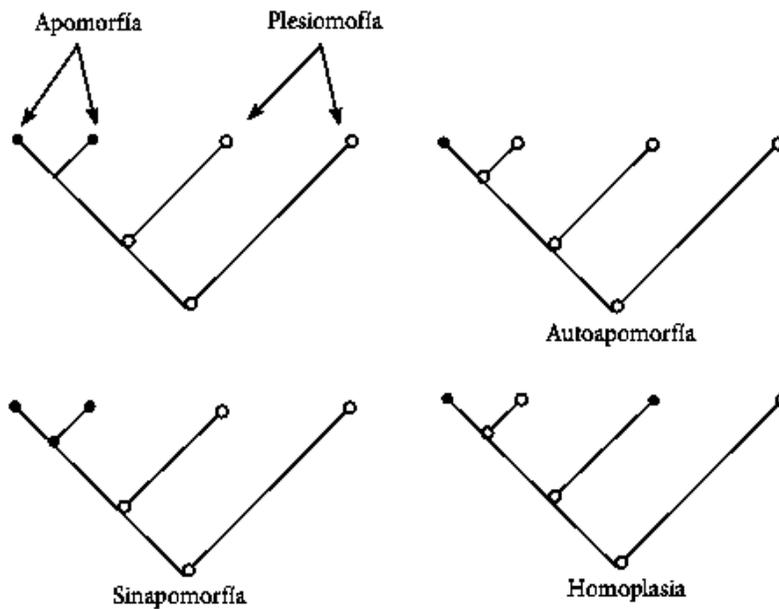


Figura 1. Muestra la terminología usada para describir los diferentes patrones de estados de carácter ancestrales (○) y derivados (●). Tomado de Page y Holmes (1998).

Grupos

Según Henning, existen tres tipos de grupos basados en los estados de carácter:

1. Grupo monofilético, incluye al ancestro común y a todos sus descendientes.
2. Grupo parafilético, es aquel en el que no todos los taxa supuestamente descendientes de un ancestro común son incluidos en el grupo.
3. Grupo polifilético. Presenta convergencias o conflictos de no-homología. La relación de los grupos polifiléticos no son claras debido a que no tienen una historia filogenética común o real y no pueden ser consideradas como caracteres derivados compartidos (sinapomorfías).

Construcción de Cladogramas

Los métodos computacionales basados en la escuela cladista se dividen en exactos y heurísticos. Los métodos exactos garantizan encontrar uno o todos los cladogramas con el menor número de pasos. Con estas búsquedas, todas las topologías posibles son estimadas a partir de un cladograma inicial sin raíz, al que se le adicionan individualmente todos los taxa, calculándose la longitud de cada cladograma hasta encontrar el más corto. Inicialmente tres taxa son seleccionados para formar un árbol sin raíz totalmente resuelto, posteriormente, se adiciona un cuarto taxón a cada una de las tres ramas del árbol inicial. En seguida, se agrega un quinto taxón que es probado en cada una de las cinco ramas de los tres cladogramas previos. Lo que resulta en quince topologías posibles. Este procedimiento se continúa hasta que todos los taxa son adicionados al cladograma. Finalmente, se calcula la longitud de todos los cladogramas y el árbol más corto es seleccionado como el idóneo o el más parsimonioso. En la práctica, la búsqueda del cladograma más parsimonioso se convierte en un problema computacional ya que la adición de un nuevo taxón aumenta exponencialmente el número de cladogramas por analizar. Para una búsqueda que incluye seis taxa se evalúan alrededor de 105 cladogramas y así sucesivamente. Por esta razón las búsquedas exhaustivas se realizan generalmente en números reducidos de taxa (Swofford, 2000).

MÉTODO DE MÁXIMA VEROSIMILITUD

Cuando se cuenta con modelos de evolución de los caracteres, se pueden usar métodos estadísticos estándar para estimar la filogenia (Felsenstein, 2004). El método más aplicado es la Máxima Verosimilitud, este método fue introducido a la sistemática

molecular por Cavalli-Sforza & Edwards (1967) quienes los utilizaron para estimar la filogenia con frecuencias alélicas. Este método se basa en un árbol con longitudes de rama y un modelo evolutivo que permite calcular probabilidades de cambio de los estados de carácter a lo largo de ese árbol. El método en general busca la topología que muestre el mejor ajuste entre los datos y el modelo (Felsenstein, 2004). Una de las propiedades de este método es que presenta consistencia, lo que en este caso significa que el método converge en la filogenia correcta conforme los datos disponibles tienden al infinito (Felsenstein, 2004). A pesar de usar criterios diferentes para elegir una hipótesis filogenética, la Máxima Parsimonia y la Máxima Verosimilitud usan las mismas estrategias de búsqueda (*i.e.* heurística) y los mismos métodos de reordenamiento de ramas (*i.e.* TBR) para explorar el espacio de topologías posibles.

El método de Máxima Verosimilitud requiere un modelo de probabilidad para calcular la sustitución de nucleótidos. Cada modelo de evolución estima la probabilidad de cambio de un nucleótido a otro para cada rama en un intervalo de tiempo.

El método de Máxima Verosimilitud asume que los nucleótidos evolucionan independiente por lo que la probabilidad se estima para cada sitio y finalmente se calcula un valor de verosimilitud total. Para calcular la verosimilitud de un sitio “j”, se consideran todas las posibilidades de evolución para cada sitio, esto es $4 \times 4 = 16$ posibilidades consideradas en cada sitio. Una vez calculado el logaritmo de la verosimilitud de cada sitio, se estima la suma logarítmica de todos los sitios y se obtiene un promedio.

Modelos de evolución

Cuando se utiliza el método de máxima verosimilitud es necesario indicar un modelo de evolución. Estos son incluidos en la familia de Tiempo Reversible General (General-Time-Reversible; GTR). Los diferentes modelos son mencionados a continuación:

1. Jukes-Cantor (JC): Asume una frecuencia de bases igual, es decir que todas las sustituciones son clasificadas de igual manera (Jukes y Cantor, 1969).
2. Kimura 2 Parámetros (K80): Asume frecuencias de bases igual y frecuencias variables en transiciones y transversiones (Kimura, 1980).

3. Kimura 3 Parámetros (K3P): Asume frecuencia de bases variable, igual frecuencia en transiciones, y frecuencia variable en tranversiones (Kimura, 1981).
4. Felsenstein 1981 (F81): Asume frecuencias de bases variable y que todas las substituciones son iguales (Felsenstein, 1981).
5. Proporción de sitios invariables (I): Asume sitios constantes de una base de datos (Hasegawa, et al., 1985)
6. Distribución Gamma (G): Asume una tasa de variación de sitio a sitio (Rodríguez, 1990).
7. Tiempo Reversible General (GTR): Asume frecuencia de bases variables con matriz de sustitución simétrica (Rodríguez, 1990).
8. Modelo de Transversión (TVM): Asume frecuencia de base variable, frecuencia variable en transversiones y frecuencias iguales en transiciones (Rodríguez, 1990).
9. Tamura-Nei (TrN): Asume frecuencias de bases variable e igual frecuencia de transversiones y transiciones (Tamura y Nei, 1993).
10. Hasegawa- Kishino- Yano (HKY): Asume frecuencias de bases variable y frecuencias variables en transiciones y transversiones (Hasegawa, 1995).
11. Modelo de Transición (TIM): Asume frecuencia de base variable, frecuencia en transiciones variable e igual frecuencia en tranversiones.
12. Modelo simétrico (SYM): Asume igual frecuencia de bases con matriz de substitución.

Tasa heterogénea a través de los sitios: Para todos estos modelos la probabilidad de cambio del estado “i” al estado “j” depende de la interacción del tiempo de duración “t” y de la tasa de substitución μ , a través de un producto μt (Felsenstein, 1981). Una rama puede ser larga porque puede representar un largo periodo de tiempo evolutivo o

por qué la tasa de sustitución es alta.

Los modelos de Máxima Verosimilitud asumen que todos los sitios evolucionan a la misma tasa, la violación a este supuesto puede traer grandes consecuencias. Por ejemplo, algunas inferencias que usaron el modelo de Máxima Verosimilitud asumiendo una tasa de cambio homogénea, pueden ser inconsistentes cuando el verdadero proceso evolutivo tiene una tasa variable entre cada sitio, aun cuando todos los otros aspectos del proceso son modelados perfectamente (Gaut & Lewis, 1995). Si los sitios tienen una fuerte variación, entonces los sitios que son resistentes al cambio, debido a una restricción selectiva positiva, pueden ocultar la cantidad de cambio real y por lo tanto los sitios parecen evolucionar más rápidamente. Esto conduce a que el método de Máxima Verosimilitud sobreestime la cantidad de sustituciones y por lo tanto muestre ramas grandes, lo que se define como un error positivo, es decir que una alta tasa de divergencia entre las secuencias pueden aparentar grupos cercanamente relacionados cuando no lo son (Felsenstein, 1981).

La distribución continua comúnmente usada para modelar la tasa heterogénea es la distribución gamma (Yang, 1993). La distribución gamma tiene dos parámetros, la forma del parámetro α y la escala β . La forma del parámetro α es igual al inverso del coeficiente al cuadrado de variación de la tasa de sustitución, así que cuando α incrementa la distribución converge en un modelo de una tasa igual.

MÉTODO BAYESIANO

En relación con el método bayesiano el cual se basa en la probabilidad de un árbol, una medida que puede ser interpretada como la probabilidad de que un árbol dado sea el que describe correctamente la historia de la muestra taxonómica que estamos estudiando (Huelsenbeck et al., 2001). El método bayesiano requiere un modelo de cambio de caracteres y en que los mejores árboles son aquellos que son consistentes tanto con ese modelo como con los datos del alineamiento. Hace un acercamiento a la mejor estimación de una filogenia, la mejor filogenia es el árbol que tenga la máxima probabilidad de ser observado dado un modelo de sustitución y el alineamiento. Por otro lado en este análisis, tanto los datos como los parámetros, son considerados como variables aleatorias, lo que significa que la incertidumbre acerca de un parámetro está descrita por la distribución de probabilidad posterior.

Para calcular la probabilidad posterior se requiere hacer sumas de todos los

árboles posibles y para cada árbol, integrar sobre todas las posibles combinaciones de longitudes de ramas y todos los posibles valores de los parámetros de los modelos de sustitución (Huelsenbeck et al., 2001). Para calcular esta probabilidad existen métodos numéricos para obtener una aproximación de la probabilidad posterior de un árbol. Probablemente el método numérico más útil en inferencia filogenética bayesiana sea el método de Monte Carlo con cadenas de Markov (MCMC Huelsenbeck et al., 2001). La idea del algoritmo MCMC es que en cada iteración del algoritmo se propone un nuevo árbol (lo que incluye variaciones en la topología, los parámetros del modelo de sustitución y el vector de longitudes de ramas). El nuevo árbol se obtiene por perturbación de un árbol que se había propuesto previamente, por lo que es probable que ambos sean más o menos parecidos. Si el nuevo árbol tiene una mejor probabilidad posterior que el viejo, se toma como punto de partida para la siguiente iteración (es “aceptado”); si, en cambio, el nuevo árbol tiene una menor probabilidad posterior que el viejo, sólo es aceptado si el cociente entre su probabilidad y la del árbol actual es mayor que un número tomado al azar en el intervalo 0,1 (Lewis & Holder, 2003). Si los primeros desplazamientos en el espacio de los árboles se descartan, la distribución de los puntos visitados es una buena aproximación de las regiones con árboles de mayor probabilidad posterior.

La probabilidad posterior se basa en la distribución condicional (condicionada a los modelos) de la probabilidad de los parámetros después de analizar los datos. Un punto importante del método bayesiano es que permite usar modelos evolutivos muy complejos, que incluyan, por ejemplo, combinaciones de secuencias biológicas cada una de las cuales puede estar sujeta a circunstancias evolutivas diferentes e incluso permiten analizar conjuntamente datos de secuencias moleculares (de ácidos nucleicos y aminoácidos), datos de patrones obtenidos con enzimas de restricción y datos morfológicos (Holder & Lewis, 2003).

MÉTODOS DE ANÁLISIS FILOGEOGRÁFICOS

REDES DE HAPLOTIPOS

Este método, que se basa en diferentes algoritmos, ayuda a tener otra forma de presentar las relaciones entre un conjunto de haplotipos en donde éstos no se ubican solo en los terminales sino también en los nodos, formando una red que une los haplotipos por sus distancias mutacionales (Posada & Crandall, 2001).

En las redes de haplotipos, en la cual un haplotipo único puede dar origen a muchos haplotipos creando lo que se conoce como redes (conexiones entre haplotipos dadas por el mínimo número posible de mutaciones entre ellos) (Vázquez, 2009). En la actualidad existen programas de cómputo que construyen estas redes filogenéticas a partir de secuencias de ADN. El algoritmo conecta los haplotipos que difieren por una sola mutación, seguido de los que difieren por dos mutaciones, luego tres y así sucesivamente, hasta que se alcance el límite o hasta que se unan todos los haplotipos (Vázquez, 2009). El resultado final es una red que muestra las relaciones genealógicas entre todos los haplotipos con base en el número mínimo de mutaciones. Las relaciones entre los haplotipos representan eventos coalescentes, por lo que pueden hacerse, a partir de la red de parsimonia y con base en los principios de coalescencia, las siguientes predicciones (Clement *et al.*, 2000): a) Los haplotipos que se presentan con mayor frecuencia tienen una alta probabilidad de ser alelos ancestrales. b) Los haplotipos que tienen múltiples conexiones muy probablemente son ancestrales. c) Dentro de la red, los haplotipos ancestrales son interiores y los haplotipos nuevos tienen mayor probabilidad de ser periféricos (de punta). d) Se espera que los haplotipos ancestrales tengan una amplia distribución geográfica (básicamente porque los individuos que tienen esos haplotipos han tenido más tiempo para dispersarse). e) Los haplotipos con una única conexión están unidos a haplotipos de la misma población (dado que han evolucionado recientemente y por lo tanto sin tiempo suficiente para diferenciarse).

ANÁLISIS DE CLADOS ANIDADOS

Ahora bien, en su forma básica los métodos filogeográficos superponen una hipótesis de relaciones entre haplotipos a la distribución geográfica de los mismos y sobre esto se desarrollan las interpretaciones de la historia del linaje estudiado. Sin embargo, en muchos casos este método puede resultar subjetivo. Por esta razón se desarrolló un método conocido como Análisis de Clados Anidados (Templeton *et al.* 1995, Templeton, 2004) que mediante la aleatorización de la información geográfica y filogenética pone a prueba estadísticamente la hipótesis de no-asociación geográfica de los haplotipos. Además, según los proponentes del método (Templeton *et al.* 1995; Templeton, 2004) los resultados del análisis pueden ser sometidos a una clave de inferencia (serie de preguntas verbales sobre los valores obtenidos del análisis) para proponer diferentes procesos históricos (*i.e.* vicarianza, aislamiento por distancia)

implicados en la distribución geográfica de los haplotipos. A pesar de su amplia utilización, el Análisis de Clados Anidados ha sido muy criticado especialmente por el aparente exceso de falsos positivos que reporta en pruebas con simulaciones computacionales (*i.e.*, Petit, 2007; Knowles, 2008), pero existen réplicas a tales críticas (Templeton, 2008).

Para poner a prueba hipótesis sobre los procesos que determinan la distribución espacial de los haplotipos existen procedimientos basados en la teoría de coalescencia. La teoría de coalescencia considera que toda la diversidad genética actual de un linaje coalesce en un solo ancestro en común o haplotipo en el pasado (Avice, 2000). Considerando que las hembras de una población producen hijas de acuerdo con una distribución de frecuencia particular, con media y varianza definida, es posible calcular la probabilidad de extinción de una línea materna después de “**n**” generaciones (Avice, 2000) y del mismo modo se puede calcular la probabilidad de que los haplotipos presentes en una población coalescan **n** generaciones en el pasado a uno solo.

El tiempo de coalescencia de los haplotipos de una población se relaciona directamente con el tamaño histórico de la población. Por esta razón los eventos demográficos impactan el proceso de ramificación de los linajes y la distribución actual de los haplotipos (Avice, 2000). La utilización de modelos basados en coalescencia permite poner a prueba hipótesis particulares sobre la historia de los linajes al comparar de forma estadística el patrón de los datos observados con el patrón propuesto por el modelo. Actualmente existen procedimientos que permiten estimar diferentes parámetros poblacionales (*i.e.* Kuhner, 2006) que unidos a cálculos tradicionales de genética de poblaciones (FST, AMOVA, *mismatch distributions*, etc) hacen posible completar el entendimiento de la distribución de la diversidad genética de las especies en el espacio y en el tiempo (Kuhner, 2009).

ANALISIS MISMATCH

El análisis mismatch se basa en el análisis de las diferencias pareadas de las secuencias y permite hacer inferencias de eventos demográficos antiguos, debido a que los cambios poblacionales tienden a dejar marcas reconocibles en los patrones de diversidad nucleotídica (Rogers et al. 1992). La genealogía de una población en crecimiento constante o en equilibrio se espera que tenga ramas largas y profundas y las mutaciones que ocurren en esas ramas pueden ser compartidas por diversos linajes que pueden resultar en una distribución irregular de las diferencias pareadas de las secuencias

(distribución bimodal). Por otro lado, la genealogía de una población que ha tenido un crecimiento sustancial tiene ramas largas terminales y las mutaciones que ocurren en esas ramas podrían ser muchas, generalmente específicas a un linaje representado en una distribución unimodal. De esta manera las diferencias apareadas en las secuencias contienen información acerca de la historia de la población.

ESTRUCTURA GENÉTICA

La estructura genética de las poblaciones analiza la distribución de la variación genética entre y dentro de las poblaciones e involucra la distribución de los alelos o haplotipos en el tiempo y el espacio. Esta estructura es el resultado de las fuerzas evolutivas que han estado operando a lo largo de la historia de las poblaciones, como puede ser la mutación, la deriva génica, la selección natural y el flujo génico (Hartl y Clark, 1989). Todas estas fuerzas pueden llevar a la diferenciación genética de las poblaciones, sin embargo es el flujo génico la que determina principalmente el grado de conectividad genética, ya que si el flujo génico es alto tiende a homogenizar la variación genética, pero si es bajo es cuando las otras fuerzas que actúan en cada una de las poblaciones por separado pueden llevar a la diferenciación genética de estas (Hedrick, 2003)

La estructura genética de una población y el establecimiento de linajes evolutivamente independientes están fuertemente influenciados por el patrón de intercambio genético entre y dentro de las poblaciones, es así que el mecanismo por el cual los genes migran es un factor determinante en la estructura genética.

En este estudio se emplearán diferentes algoritmos para determinar la estructura genética, a continuación menciono algunas técnicas de análisis ampliamente utilizadas.

Diversidad haplotídica y nucleotídica

La probabilidad de que dos individuos tomados al azar en una población pertenezcan a linajes mitocondriales distintos se define como la diversidad haplotípica (h). Es el equivalente a la heterocigosidad esperada para datos diploides y estima la variabilidad genética en términos del número de haplotipos presentes en la muestra y sus respectivas frecuencias (Nei, 1987). La diversidad nucleotídica (π), es el número promedio de las diferencias por posición nucleotídica entre pares de haplotipos mitocondriales (Nei, 1987). La divergencia neta entre poblaciones (D_a), se define como el número neto de

sustituciones nucleotídicas por sitio entre poblaciones (Nei, 1987) y el número promedio de diferencias nucleotídicas entre poblaciones.

La forma de calcular la diversidad haplotípica (H_d) según Nei (1987), se expresa de la siguiente manera:

$$H = \frac{n}{n-1} \left(1 - \sum_{i=1}^k p_i^2 \right)$$

Donde:

n = tamaño de la muestra.

k = número de haplotipos.

p_i = frecuencia del haplotipo de la muestra

La diversidad haplotípica promedio dentro de las poblaciones se estima a partir de la siguiente fórmula:

$$H_s = 1 - \sum_k w_k \sum_i x_{ki}^2$$

Donde:

s = número de subpoblaciones en que está dividida una población,

x_{ki} = frecuencia del i -ésimo alelo en la k -ésima subpoblación

w_k = dada por la relación $w_k = 1/s$.

En relación con la diversidad nucleotídica según Nei (1979), se calcula con la siguiente fórmula:

$$= \sum_{ij} X_i X_j$$

Donde:

X_{ij} = frecuencia en la población de la secuencia i de ADN analizada y

d_{ij} = proporción de nucleótidos diferentes i y j de las secuencias de ADN.

En una población de apareamiento al azar, π es simplemente la heterocigosidad a nivel de nucleótidos.

DIFERENCIACIÓN GENÉTICA

El grado de diferenciación genética interpoblacional (F_{ST}), es un parámetro que describe el grado de diferenciación entre poblaciones, y se define como la correlación de los estados alélicos entre los genes muestreados de las poblaciones (Excoffier et al 1992), o como la correlación de genes en diferentes individuos de la misma población, es decir co-ancestría (Weir y Cockerham, 1984). Una de las suposiciones es que la tasa de mutación es baja, al menos mucho más baja que la tasa de migración. F_{ST} toma valores entre 0 (indica que no existe diferenciación genética) y 1 (indica que existe diferenciación genética total) y describe la reducción total en la heterocigosidad de un individuo con respecto a la población total; los valores de las comparaciones por pares de poblaciones son expresados en una matriz.

El parámetro anterior solo describe la estructura genética de las poblaciones, sin embargo no distingue entre los efectos históricos de los procesos recurrentes (Schaal et al., 1998). Por ejemplo en especies donde el flujo génico a lo largo de su rango es restringido, serían los eventos históricos como las expansiones, fragmentaciones y cuellos de botella los determinantes más fuertes en la estructura sobre los procesos actuales y la similitud genética entre esas poblaciones se debería a ancestría común, es decir a sus relaciones filogenéticas.

Análisis de Variación Molecular

El análisis de variación molecular (AMOVA) toma en cuenta el número de mutaciones entre los diferentes haplotipos. Divide la varianza total en componentes aditivos organizados jerárquicamente: dentro de las poblaciones, entre poblaciones dentro de grupos y entre grupos. Los resultados del AMOVA permiten evaluar el grado de significancia de la diferenciación genética existentes entre los componentes.

El total de la varianza molecular (σ^2) se estima por la suma de los elementos de covarianza, en donde σ_c^2 representa las diferencias entre haplotipos dentro de una población, σ_b^2 representa las diferencias entre haplotipos en poblaciones dentro de un grupo y σ_a^2 representa las diferencias entre poblaciones. Se utiliza un método de permutación no paramétrica para justificar si los índices estimados son significativos, realizándose la permutación entre todas las agrupaciones posibles. Este proceso se repite varias veces y después de cada permutación los índices son nuevamente estimados para construir una distribución aleatorizada de θ .

CAPÍTULO II

*Modelos de nicho ecológico de la mosca florívora
Zygothrica sp. y de su hospedero Palicourea
padifolia en los bosque mesófilos de México.*

Introducción

Los modelos de nicho ecológico permiten determinar la distribución geográfica potencial de una especie con base en sus requerimientos abióticos, o las condiciones ecológicas que determinan las áreas de ocurrencia, por lo tanto son usados para desarrollar relaciones entre los valores ambientales y los datos de presencia, presencia-ausencia y/o abundancia conocidos (i.e. actuales) de las especies (Graham, 2004)

Los modelos de nicho ecológico son mapas que representan la extensión territorial que es potencialmente adecuada para la existencia de una especie concreta, es decir estos modelos reflejan un nicho climático favorable para esa especie basándose en coordenadas geográficas (Richards, 2007). En años recientes, los modelos de nicho ecológico han sido ampliamente utilizados y aplicados en disciplinas como ecología, biogeografía, filogeografía, genética del paisaje y biología de la conservación. (Peterson, 2007). Particularmente su uso ha sido muy extensivo en áreas como la biogeografía, ya que el objetivo de los modelos de nicho es predecir las áreas de distribución geográfica potencial de la especie de interés y así hacer inferencias sobre patrones biogeográficos (gradientes de riqueza, disyunción) (Crisci, 2006).

Los modelos de nicho ecológico han sido de gran utilidad para crear mapas de distribución de sitios potencialmente adecuados para la existencia de una especie concreta, cuantificar la abundancia y la riqueza de especies, la evaluación y el manejo de especies invasivas, además de evaluar los efectos del cambio climático (Peterson, 2001).

Entre los diferentes algoritmos para realizar modelos de nicho ecológico, se encuentran BIOCLIM (Busby, 1991), GARP (Stockwell y Peters 1999) y MAXENT (Philips, 2006). En este estudio utilizaremos GARP y MAXENT dos de los algoritmos más utilizados para la modelación de nichos ecológicos los cuales han demostrado un buen desempeño y poder de predictibilidad.

GARP (Genetic Algorithm for Rule-Set Prediction, Stockwell y Peters, 1999). es un algoritmo genético que crea un modelo de nicho ecológico para una especie que representa las condiciones ambientales donde dicha especie sería capaz de mantener su población. Este algoritmo realiza una búsqueda de asociaciones entre variables ambientales y la ocurrencia conocida de las especies, contrastándolas con las características ambientales a lo largo de toda el área de estudio. Es decir, se basa en

información sobre las localidades de muestreo, con referencia geográfica (longitud y latitud). GARP trabaja iterativamente aplicando distintas reglas de modelado, generando y evaluando en cada bucle de cálculo un modelo de distribución binario distinto. Para evaluar si una regla es incorporada o no al modelo de nicho se utilizan los cambios (incremento) en la precisión de predicción de una iteración a otra, con base en 1000 iteraciones o hasta que la adición de nuevas reglas no pueda incrementar más la precisión predictiva del modelo. Lo que hace GARP es escoger un subconjunto de puntos al azar lo que equivale a particionar los datos (también se podrían incluir nuevos puntos de muestreo o de verificación). Una parte de los datos servirá para hacer los modelos (training data) y la otra servirá para probarlos (testing data). Finalmente, Desktop GARP da la opción de obtener los mejores modelos con base en ciertos umbrales de omisión (sin predicción en donde la especie se encuentra) y comisión (predicciones en donde la especie no se encuentra).

El algoritmo de máxima entropía “MAXENT” (Steven, 2006), es un método de inteligencia artificial que aplica el principio de máxima entropía (lo más uniforme posible) para calcular la distribución geográfica más probable para una especie. MAXENT estima la probabilidad de ocurrencia de la especie buscando la distribución de máxima entropía sujeta a la condición de que el valor esperado de cada variable ambiental según esta distribución coincida con su media empírica. El resultado del modelo expresa el valor de idoneidad del hábitat para la especie como una función de las variables ambientales. En ese sentido, un valor alto de la función de distribución en una celda determinada, indica que se presentan condiciones muy favorables para la presencia de la especie. MAXENT puede utilizar variables cualitativas, otorgando a cada valor de la variable un peso relativo al número total de puntos de presencia que contiene, el programa proporciona las curvas de respuesta de la especie ante las distintas variables ambientales y estima la importancia de cada variable en la distribución de la especie.

En este estudio se utilizó GARP y MAXENT para obtener el perfil bioclimático de las poblaciones de la mosca florívora *Zygothrica sp.* y su hospedero *Palicourea padifolia* en México. El objetivo fue modelar la distribución geográfica potencial (i. e. pasada y presente) de las poblaciones de *Zygothrica sp.* y *Palicourea padifolia* en los bosques mesófilos de México, con la finalidad de determinar las discontinuidades en la distribución del hospedero *P. padifolia* que pudieran predecir patrones de diferenciación

genética en *Zygothrica sp.* En esta interacción antagonista donde el parásito presenta especialización hacia su hospedero, se esperaría que el florívoro tenga la misma área de distribución y que además estén actuando las mismas barreras geográficas, así como procesos ecológicos similares a los que han moldeado la distribución de su hospedero *P. Padifolia*

Materiales y Métodos

Especies de estudio.

Palicourea padifolia (Roem. and Schult.) C. M. Taylor y Lorence (Rubiaceae) es un arbusto de vida larga de entre 2-7 m (Ree, 1997). Es una especie diestílica (Hernández y Ornelas, 2003), con completa incompatibilidad intramorfo (Contreras y Ornelas, 1999). Los individuos de *P. padifolia* presentan entre 30-80 inflorescencias, cada una con entre 80 y 90 botones florales amarillos que maduran asincrónicamente durante todo el periodo de floración que se extiende desde mediados de marzo hasta agosto (Contreras y Ornelas, 1999; Ornelas et al., 2004b). Existen diversas diferencias entre morfos florales basados en rasgos comúnmente asociados con la diestílica (Contreras y Ornelas, 1999; Ornelas et al., 2004a, González et al. 2005). Las flores duran abiertas un día, miden aproximadamente 1.5 cm de longitud, la corola tubular es estrecha de aproximadamente 2.5 mm y son más largas en las plantas de estilo corto (de aquí en adelante EC), con respecto a las de estilo largo (de aquí en adelante EL; Contreras y Ornelas, 1999). Las flores de EC producen más néctar (0.73 μ l/h/flor, 15.7% azúcar), que las flores de EL (0.59 μ l/h/flor, 17.5% azúcar; Ornelas, 2004b). El polimorfismo diestílico en *P. padifolia* está también caracterizado por un marcado dimorfismo en el tamaño y número de granos de polen, así como en el tamaño y forma del estigma. Las anteras de las flores EL tienen aproximadamente 1.3 más granos de polen que es 6.5 veces más pequeño que las flores EC (Ornelas et al., 2004a). El estigma de ambos morfos es bilobulado, pero los lóbulos de las plantas EC son aproximadamente 2.5 veces más largos que en las flores EL (Ornelas et al., 2004a). Las flores de ambos morfos son visitadas por colibríes, pequeñas abejas, abejorros y mariposas. Los colibríes (82% de las visitas florales por planta) transfieren polen más efectivamente de las flores EL hacia las flores EC, y la recepción natural de polen resulta en una mezcla de cargas de polen compuesta por más polen legítimo en estigmas de las flores EC que en las flores EL (Ornelas, 2004a). El desarrollo de los frutos generalmente empieza en

mayo pero una maduración asincrónica puede empezar en agosto y extenderse hasta octubre (Ornelas et al., 2004b). Los frutos maduros con típicamente dos semillas son consumidos y presumiblemente dispersados por aves.

Distribución

Palicourea padifolia ocurre a elevaciones medias de los bosques mesófilos desde el sureste de México a Panamá (Taylor, 1989) (Fig. 1). De acuerdo al sistema de clasificación de la vegetación de México propuesto por Rzedowski en 1978, el bosque mesófilo de montaña (BMM) es un tipo de vegetación de zonas montañosas, en donde prevalece un clima fresco y altos niveles de humedad. El BMM generalmente se desarrolla en altitudes de 600 a 2,700 m en zonas de transición entre la tierra caliente y la templada, en donde la precipitación anual varía de 1,000 a 3,000 msnm, y la temperatura promedio anual fluctúa entre los 12 y 23°C.

En México, el BMM ocupa entre 0.5 y 1 % del territorio nacional, y se encuentra distribuido principalmente en la Sierra Madre Oriental, desde el sur de Tamaulipas hasta el norte de Oaxaca, y en algunas áreas del Macizo Central y la Sierra Madre de Chiapas. En la vertiente del Pacífico, la distribución de este tipo de vegetación es limitada y fragmentada, encontrándose solo en pequeños manchones de la Sierra Madre Occidental, y en algunas áreas de la Sierra Sur de Guerrero y Oaxaca (Rzedowski, 1978)



Figura 1. Distribución actual de *Palicourea padifolia* en la República Mexicana. Los puntos muestra la distribución conocida.

Género *Zygothrica*.

Zygothrica junto con los géneros *Hirtodrosophila*, *Mycodrosophila*, *Paramycodrosophila* y *Paraliodrosophila*, forman un grupo monofilético (Grimaldi, 1990; De Salle & Grimaldi, 1991), descrito en 1830 por Wiedemann (1770-1840). Las especies de este género ocurren en la ecozona neotropical e Indo pacífico, sus hospederos de oviposición son predominantemente flores de diferentes especies de plantas, generalmente se encuentran en pequeños enjambres, predominan en flores voluminosas y carnosas, donde las larvas se alimentan de los tejidos reproductivos, principalmente el estilo, pétalos y brácteas. Actualmente se han reportado diez familias de las angiospermas que sirven como principal alimento de *Zygothrica*, pero regularmente se encuentran asociadas a una sola especie o a un género de planta. Habitualmente se les encuentra peleando, cortejando o alimentándose sobre diferentes especies de hongos macroscópicos, son especies de ámbitos hogareños reducidos, que rara vez se encuentran lejos de su hospedero, además de que las especies de este género son altamente específicas a su hospedero (Grimaldi, 1987). En relación a sus características morfológicas, el género se caracteriza por presentar carinas faciales prominentes y afiladas, por tener el margen oral mediamente hendido, y una probóscide esclerotizada con una juntura aguda entre el mentón y submentón, así como un ovipositor esclerotizado, elongado, lo que está asociado al hábito de ovipositar en botones florales. El género *Zygothrica* está dividido en cinco secciones (Grimaldi, 1987).

Modelaje de nicho.

Para obtener los modelos de nicho ecológico se utilizaron reportes de ocurrencia de las poblaciones de *P. padifolia*, tomados del portal del GBIF (Global Biodiversity Information Facility, <http://www.gbif.org/>). Se obtuvieron 137 puntos de presencia para la especie, correspondientes a 4 reportes en Puebla, 7 en Hidalgo, 36 en Veracruz, 44 en Oaxaca y 46 en Chiapas. Cabe resaltar que *P. padifolia* ocurre a elevaciones medias de los bosques mesófilos desde el sureste de México a Panamá (Taylor, 1989), sin embargo en este estudio solo se utilizaron los puntos de ocurrencia en la República Mexicana, ya que es el área de distribución de interés del presente proyecto.

Por otra parte, no se encontraron registros de *Zygothrica sp.* en la base de datos del GBIF. Por lo tanto para esta especie utilizamos los datos de los sitios en los que realizamos la colecta de muestras de *Zygothrica sp.* para el capítulo 3 (Tabla 1).

Tabla 1. Sitios de colecta de las poblaciones de *Zygothrica sp.* mostrando sus coordenadas de cada población (LAT/LONG).

Localidad	Estado	Latitud (N)	Longitud (O)	Altitud (msnm)	Tipo de Vegetación
Apulco	Puebla	19°55'15''	97°06'24''	1407	Bosque Mesófilo
Apantlazol	Hidalgo	20°59'05''	98°37'38''	1050	Bosque Mesófilo (fragmento)
Santiago Lachiuguri	Oaxaca	16°44'54''	95°27'24''	1127	Bosque Mesófilo
Banderilla	Veracruz	19°35'18''	95°57'07''	1601	Bosque Mesófilo
Briones	Veracruz	19°30'28''	96°57'36''	1319	Bosque Mesófilo
Huatusco	Veracruz	19°09'58''	96°58'07''	1382	Bosque Mesófilo
Xalapa	Veracruz	19°30'47''	96°56'28''	1359	Bosque Mesófilo
Motozintla	Chiapas	15°21'29.8''	92°14'43.8''	1338	Bosque Mesófilo (fragmento)
Montebello	Chiapas	16°07'42''	91°43'39.5''	1487	Bosque Mesófilo

Por otro lado, MAXENT y GARP trabajan con variables bioclimáticas. En este proyecto utilice las 19 variables bioclimáticas biológicamente más significativas para definir la tolerancia eco-fisiológica de una especie (Graham y Hijmans, 2006; ver Apéndice 1). Estas variables bioclimáticas se obtuvieron de la base de datos de WorldClim (Hijmans, 2005; <http://www.worldclim.org/bioclim.htm>). Dentro de la base de datos de WorldClim, hay variables bioclimáticas derivadas de la temperatura mensual y valores de precipitación para generar las variables más significativas biológicamente, que a menudo se utilizan en los modelos de nicho ecológico. Las variables bioclimáticas representan las tendencias anuales (e.g. la temperatura media anual, la precipitación anual), la estacionalidad (e.g. el rango anual de temperatura y precipitación) y la extrema o la limitación de los factores ambientales (e.g. temperatura

del mes más cálido y más frío y la precipitación de los trimestres más húmedo y más seco).

En este estudio se obtuvieron modelos de distribución potencial de *P. padifolia* y *Zygothrica sp.* para el último interglacial (LIG; ~120 – 140 ka), el último máximo glacial (LGM; ~21 ka) y para el presente (Otto-Bliesner, 2006) mediante MAXENT (Phillips, 2006) y GARP. Cabe mencionar, que los modelos bioclimáticos de la distribución potencial presente constan de un promedio de la información climática del año 1950 al 2000, mientras que para el LGM (Last Glacial Maximum ~21 ka) (Braconnot, 2007) se utilizaron los modelos MIROC (Model for Interdisciplinary Research on Climate) y CCSM (Community Climate System Model).

Para el caso de GARP, la omisión que se utilice para modelar la distribución de las dos especies es del 10% (Anderson et al., 2003). Se generaron 100 modelos para cada especie y se seleccionaron los mejores que cubrieron las siguientes condiciones: A) los 10 modelos en los que los errores de omisión (es decir, predecir ausencia de la especie, cuando en realidad está presente) fueron mínimos, B) de esos 100 modelos, se seleccionaron 10 modelos que estuvieran más cercanos a la mediana del porcentaje del área predicha con respecto al total del área de estudio, los cuales se sumaron mediante un proceso conocido como "álgebra de mapas", a través de una función que combina los valores de cada matriz raster, para obtener un mapa de consenso de distribución potencial actual. Es decir, el mapa final tiene valores de 0 a 10, en donde los valores de 0 son áreas en donde todos los modelos coinciden en que la especie está ausente, 10 significa que todos los modelos predicen la presencia de la especie, 5 indica que la mitad de los modelos predijeron la presencia de la especie en esas áreas. La predicción final se proyectó en un mapa digital (grid) y se interpreta como la distribución potencial de la especie. Para realizar la suma de los mapas de distribución potencial de cada una de las seleccionadas (álgebra de mapas) se utilizó la herramienta Raster Calculator de Spatial Analyst.

En relación con MAXENT, los puntos de validación fueron utilizados para evaluar la exactitud del modelo utilizando el área bajo la curva (AUC) de la curva ROC (análisis de sensibilidad y especificidad; Phillips, 2006). El AUC mide la capacidad del modelo de discriminar entre sitios donde la especie está presente, versus donde está ausente (Hanley y McNeil 1983). El AUC fluctúa entre 0 y 1, en donde un valor de 1

indica discriminación perfecta, un valor de 0,5 implica que la discriminación predictiva entre sitios no es mejor que una selección al azar, y un valor menor a 0,5 indica un desempeño inferior que el azar.

Un punto importante en el uso de MAXENT es que en especies con sesgos en su colecta o con muy pocos registros, como es caso de *Zygothrica sp.* este algoritmo presenta valores bajos de comisión (predicciones en donde la especie no se encuentra) y altos niveles de omisión (sin predicción en donde la especie se encuentra). Por otro lado, con el fin de estimar cuales son las variables más importantes en el modelo, se realizó el análisis de Jackknife de las 19 variables utilizadas.

La razón de utilizar los dos algoritmos es para disminuir los sesgos metodológicos y obtener proyecciones más robustas. En este estudio se obtuvieron buenos modelos para el escenario actual y las proyecciones del pasado, ambos algoritmos coincidieron en gran medida.

Resultados

Se obtuvieron altos valores de AUC en todos los modelos realizados con el programa MAXENT para ambas especies, lo que sugiere un adecuado nivel de confiabilidad (Tabla 2).

Tabla 2. Valores de AUC, para los distintos escenarios de MAXENT utilizados para la mosca florívora *Zygothrica sp.* y *Palicourea padifolia*.

Especie	Escenario	Análisis de sensibilidad y especificidad (AUC)
<i>P. padifolia</i>	Presente (promedio de la información climática del año 1950 al 2000)	0.956
<i>P. padifolia</i>	Último máximo glacial (LGM; Last Glacial Maximum ~21 ka) utilizando el modelo MIROC (Model for Interdisciplinary Research on Climate)	0.967
<i>P. padifolia</i>	Último máximo glacial (LGM; Last Glacial Maximum ~21 ka) utilizando el modelo CCSM3 (Community Climate System Model).	0.848
<i>P. padifolia</i>	Último interglacial (LIG; ~120 – 140 ka.	0.988
<i>Zygothrica sp.</i>	Presente (promedio de la información climática del año 1950 al 2000)	0.992
<i>Zygothrica sp.</i>	Último máximo glacial (LGM; Last Glacial Maximum ~21 ka) utilizando el modelo MIROC (Model for Interdisciplinary Research	0.996

	on Climate).	
<i>Zygothrica</i> sp.	Último máximo glacial (LGM; Last Glacial Maximum ~21 ka) utilizando el modelo CCSM3 (Community Climate System Model).	0.879
<i>Zygothrica</i> sp.	Último interglacial (LIG; ~120 – 140 ka).	0.989

Por otro lado, con el fin de estimar cuales son las variables más importantes en los modelos de nicho ecológico realizados con MAXENT, se realizó el análisis de jackknife de las 19 variables utilizadas. Las mas importantes para todos los modelos fueron la oscilación anual de temperatura (cociente entre la temperatura máxima del mes más cálido y la temperatura media del mes mas frío), seguida de la estacionalidad de la temperatura.

Los modelos obtenidos mediante GARP y MAXENT para ambas especies y los distintos escenarios se muestran en las Figuras 2, 3, 4 y 5.

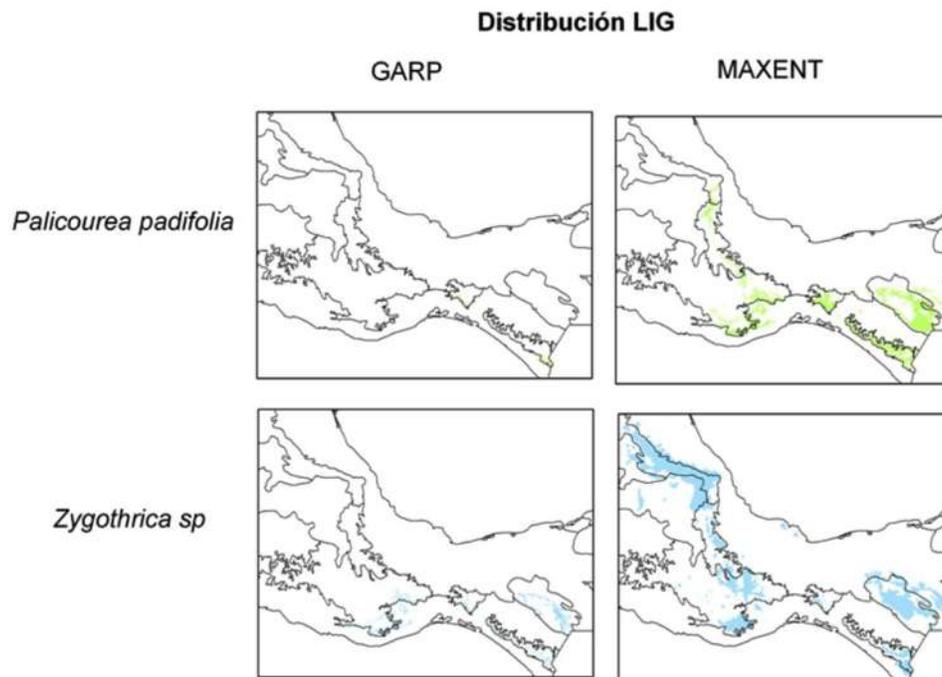


Figura 2. Modelos de nicho ecológico para la mosca florívora *Zygothrica* sp. y para su hospedero *Palicourea padifolia*. Mostrando la distribución potencial (área sombreada) para ambas especies en México, los mapas muestran el escenario para el último interglacial (LIG; ~120 – 140 ka).

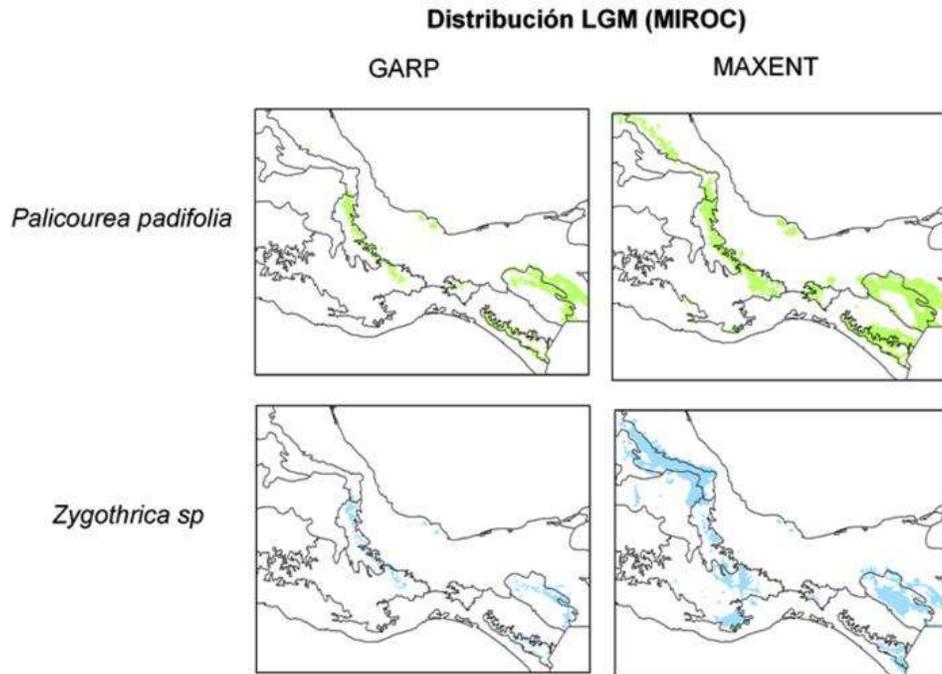


Figura 3. Modelos de nicho ecológico para la mosca florívora *Zygothrica sp.* y para su hospedero *Palicourea padifolia*. Mostrando la distribución potencial (área sombreada) para ambas especies en México, los mapas muestran el escenario para el último máximo glacial (LGM; Last Glacial Maximum ~21 ka) utilizando el modelo MIROC (Model for Interdisciplinary Research on Climate).

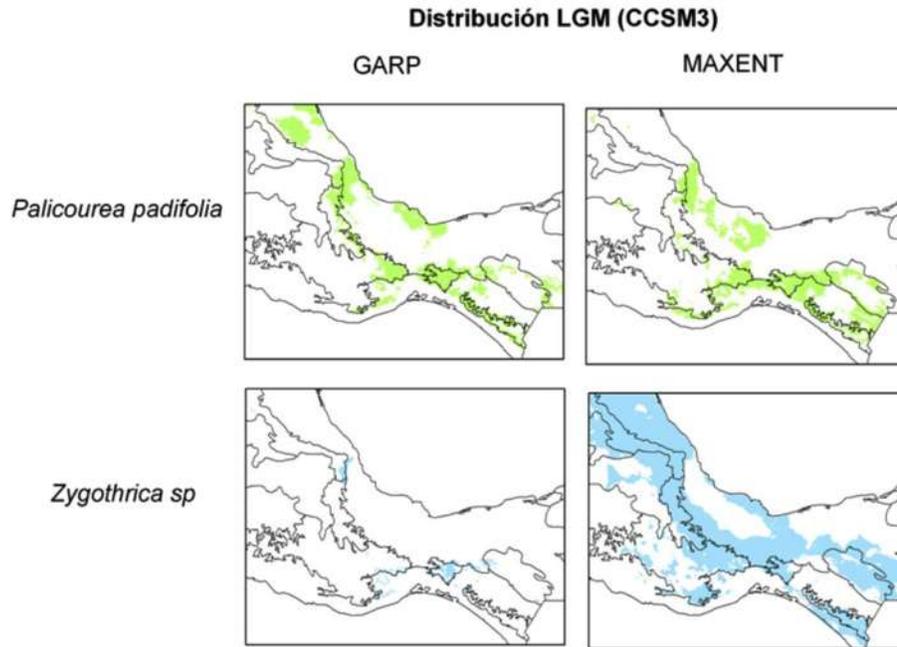


Figura 4. Modelos de nicho ecológico para la mosca florívora *Zygothrica sp.* y para su hospedero *Palicourea padifolia*. Mostrando la distribución potencial (área sombreada) para ambas especies en México, los mapas muestran el escenario para el último máximo glacial (LGM; Last Glacial Maximum ~21 ka) utilizando el modelo CCSM3 (Community Climate System Model).

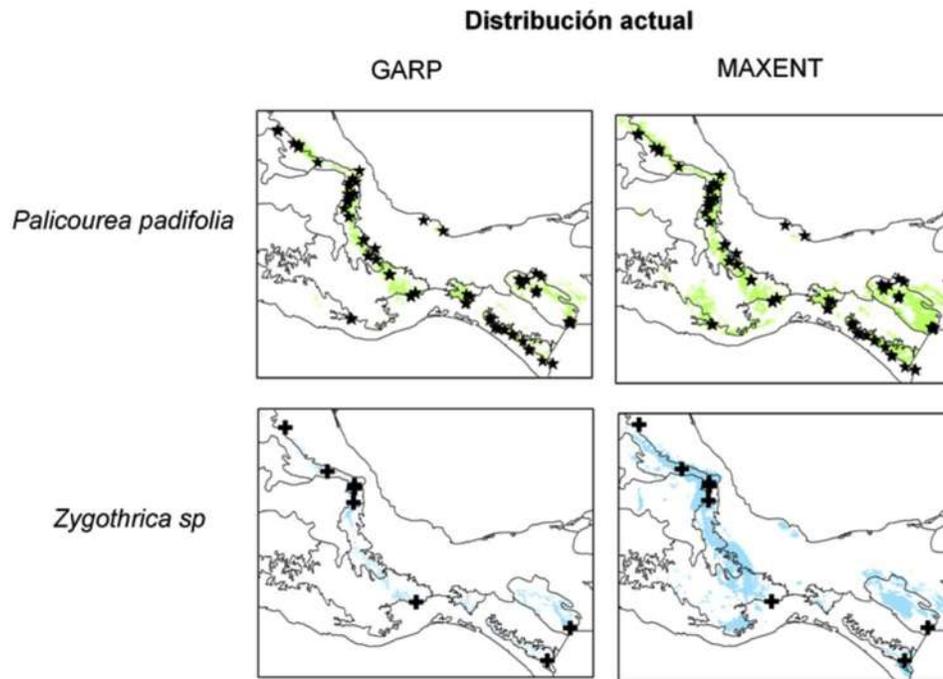


Figura 5. Modelos de nicho ecológico para la mosca florívora *Zygothrica sp.* y para su hospedero *Palicourea padifolia*. Mostrando la distribución conocida (estrellas y cruces) y potencial (área sombreada) de ambas especies en México.

Discusión

En este estudio se generaron modelos que predicen las zonas de mayor riqueza potencial de *Zygothrica sp.* y *P. padifolia*, con mapas correspondientes a los escenarios del último interglacial (LIG) y el último máximo glacial (LGM) y para el presente. Nuestros resultados muestran que la distribución potencial de la mosca florivora corresponde en su mayoría con la distribución de su hospedero *P. padifolia* en los bosques mesófilo de México. Los modelos generados con ambos algoritmos a partir de la información recabada en la base de datos y en campo sobre la presencia de *Zygothrica sp.* y *P. padifolia*, reflejan de manera precisa a la distribución que actualmente muestran las especies, debido a que los puntos de la distribución conocida coinciden con en el área de la distribución potencial.

El algoritmo de modelación más adecuado es aquel con la menor cantidad de sobrepredicciones (Anderson, 2003). Para las bases de datos con que se trabajó, GARP y MAXENT cumplieron con ese requisito, con excepción del escenario para el último máximo glacial utilizando el modelo CCSM3, pues los mapas generados con este modelo sobrestimaron el área de distribución potencial de las especies, y no son congruentes con ninguno de los demás escenarios. Por lo tanto para el último máximo glacial se consideró más adecuado el modelo MIROC (Model for Interdisciplinary Research on Climate).

En el modelo generado con MAXENT, al analizar las variables ambientales que influyen en la presencia de *Zygothrica sp.* y de *P. palicourea*, el análisis jackknife mostró que para ambas especies fue principalmente la oscilación anual de temperatura (cociente entre temperatura máxima del mes más cálido y temperatura media del mes más frío), seguida de la estacionalidad de la temperatura. El papel de estas variables se asocia a las características ambientales del bosque mesófilo de montaña, el cual se desarrolla generalmente en sitios con clima templado y húmedo, de hecho más húmedo que los bosques de pino o encino, y sus temperaturas son bajas, llegando incluso a los 0° C. Su época de lluvias dura de 8 a 12 meses y la precipitación anual va de los 1500 a los 3000 mm (Rzedowski, 1978)

Al considerar su distribución histórica, los escenarios de distribución potencial para las poblaciones de *Zygothrica sp.* y *P. palicourea* muestran una importante expansión entre el último interglacial hace 140 ka y hasta el último máximo glacial hace 21 ka. Sin embargo, a partir de este periodo y hasta el presente los modelos sugieren una contracción en las áreas ocupadas por ambas especies. Una reducción tan substancial podría estar ligada a los cambios en el clima, pues en el caso del bosque mesófilo de montaña en México se propone que fragmentos extensos de bosque mesófilo divergieron y se aislaron secuencialmente de un bosque ancestral continuo (Luna y Alcántara, 2001). Este aislamiento se ha relacionado con la contracción de los bosques mesófilo de montaña y de pino-encino que también estuvieron influenciados por los cambios climáticos. El ciclo de colonización y aislamiento pudo haber ocurrido varias veces durante el Pleistoceno, y haber contribuido a la compleja historia biogeográfica de la región (Toledo, 1982).

La separaciones entre las poblaciones del bosque mesófilo de Mesoamérica también han sido relacionadas con la presencia de barreras geográficas. Una de las principales barreras para las especies montañas es el Istmo de Tehuantepec (Sánchez, 2007). El Istmo de Tehuantepec se reconoce como una zona de alta complejidad biogeográfica (Ferrusquía-Villafranca, 1993), donde hubo varios eventos tectónicos, fluctuaciones en el nivel del mar y un levantamiento continental que unió a México con América Central durante el Plioceno-Pleistoceno. El Istmo de Tehuantepec es considerado como una barrera geográfica ya que durante mucho tiempo estuvo sumergido bajo el agua, y aun al emerger (durante el Plioceno) (Perry, 1991), debido a su baja elevación, los habitats ecológicos que presentan son distintos a los de las elevaciones que separa (Marshall y Liebherr, 2000).

En este sentido nuestros modelos de nicho ecológico sugieren la separación de las poblaciones tanto de *Zygothrica sp.* como de *P. padifolia* por el Istmo de Tehuantepec. Además, ambas especies posiblemente han tenido una historia intermitente de aislamiento, con separaciones previas al LIG y aislamiento reciente posterior al LGM hasta el presente. Lo anterior concuerda con el estudio de estructura filogeográfica de *P. padifolia* donde se resalta el papel del Istmo de Tehuantepec como una barrera geográfica ante la dispersión de los individuos y genes de las poblaciones de *P. padifolia* en México.

Por lo que ante los escenarios propuestos por nuestros modelos y ante lo estricto de la relación *Zygothrica-Palicourea* los resultados de los modelos y los datos filogeográficos de *P. padifolia* reforzarían la predicción respecto a la estructura genética de las poblaciones de la mosca *Zygothrica sp.* sería congruente con lo reportada para su hospedero específico *P. padifolia* (Gutiérrez-Rodríguez et al. 2011).

CAPÍTULO III

**Filogeografía de la mosca florívora *Zygothrica* sp.
(Diptera: Drosophilidae) en relación con la estructura
poblacional de su hospedero *Palicourea padifolia*
(Rubiaceae) en México.**

Introducción

La filogeografía infiere los factores que determinan los niveles de diversidad genética, tomando en cuenta aspectos ecológicos, históricos y de distribución en el espacio geográfico. Esta disciplina es el resultado de la unión del estudio de procesos microevolutivos y macroevolutivos (Avice, 2004). De manera que podemos conocer la distribución de los genes en el tiempo y en el espacio, además de evaluar procesos como flujo génico, cuellos de botella, hibridación, expansión demográfica, estimar tiempos de divergencia, eventos de vicarianza, disyunción, especiación, migración y dispersión en un contexto histórico (i. e. geológico e histórico) (Vázquez-Domínguez, 2009; Avice, 1987). El flujo de genes interpoblacional, es una de las fuerzas determinantes del grado de conectividad entre poblaciones; ésta fuerza evolutiva está en función del entorno ambiental histórico y actual de las poblaciones de una especie.

Los estudios filogeográficos se basan en la Teoría de Coalescencia (Laneri & Confalonieri, 2003), la cual sugiere que los linajes maternos contemporáneos cuando se retraen en el tiempo coalescen o se fusionan en un ancestro común. La teoría de coalescencia propone: a) todos los miembros de una genealogía están unidos; b) hay bosques de genes en una población o en una especie; c) la genealogía y la demografía histórica están entrelazadas; d) las poblaciones espacialmente estructuradas están ligadas genealógicamente; e) la concordancia genealógica es evidencia de filogeografía (Avice, 2009).

La filogeografía utiliza como herramienta marcadores citoplásmicos, como el ADNmt y el ADN de cloroplasto (ADNcp), heredados por vía materna, lo que permite detectar linajes matrilineales. Además, no están sujetos a recombinación, y constituyen linajes jerárquicamente anidados (Irwin, 2002). Otra característica importante por la cual se utiliza este marcador es que su tamaño efectivo poblacional es de un cuarto respecto al del genoma nuclear (Riddle, 2000), lo cual permite que se pueda trabajar con números de muestras relativamente pequeños. Otro punto importante del ADNmt es que presenta una tasa de mutación relativamente alta, además de que acumula variabilidad de manera rápida en ausencia de flujo génico, por lo que los estudios filogeográficos que utilizan marcadores moleculares, ofrecen una mayor resolución de los patrones intra-específicos de la variación geográfica.

Por el gran efecto que las interacciones bióticas tienen sobre los procesos demográficos y genealógicos tanto en plantas como en animales, son particularmente interesantes los estudios de filogeografía comparada, los cuales tienen por objeto analizar las relaciones filogenéticas de los haplotipos citoplásmicos de especies co-distribuidas, con el objeto de establecer patrones en común. Si varias especies co-distribuidas están estructuradas filogeográficamente de modo similar, se puede interpretar que reflejan o comparten una historia común y que han sido afectadas por factores evolutivos y/o ecológicos similares. Es decir, la filogeografía comparada estudia los efectos de la historia y la biogeografía en la distribución de la variación genética de varias especies de una comunidad. La resolución de este tipo de estudios es mayor, puesto que permite evaluar las asociaciones entre procesos poblacionales de diferentes taxa que han evolucionado de manera independiente, pero en los que los patrones regionales filogenéticos y geográficos son concordantes, lo que se considera como evidencia de la influencia de factores ecológicos y/o evolutivos similares en la estructura y la distribución actual de las especies (Kholodova, 2009).

El análisis filogeográfico brinda una herramienta para realizar estudios destinados a determinar la distribución original o ancestral de las especies, así como sus principales vías de dispersión; el grado de estructuración poblacional que ellas presentan; y el tipo de especiación (simpátrica o múltiple divergencia alopátrica). Además, la filogeografía comparada permite ponderar la influencia de la dispersión y la vicarianza en la evolución de especies co-distribuidas e identificar áreas de concentración de la diversidad genética, candidatas a ser elegidas como prioritarias para su conservación (Confalonieri, 1998, 2003; Avise, 2000; Lanteri & Confalonieri, 2003).

Interacción antagonista *Palicourea-Zygothrica*

Las moscas de la especie *Zygothrica sp.* (Drosophilidae) (Grimaldi, *comunicación personal*), parasitan flores de *P. padifolia* (Contreras y Ornelas, 1999). Las hembras de la mosca introducen el ovipositor a través de la corola cuando las flores aún son pequeños botones en el segundo estadio de desarrollo ($5 \leq 7.5$ mm), y típicamente depositan un solo huevo por botón floral. Una pequeña marca rojiza por fuera del botón revela la ubicación de una oviposición reciente. La larva eclosiona y se alimenta enteramente del polen de las anteras inmaduras conforme el botón se desarrolla. El tejido de la corola puede ser parcialmente consumido o colateralmente dañado (debido a que las anteras están insertas en el tubo de la corola, la cual se torna oscura en caso de

haber sido dañada), y menos comúnmente también puede ser dañado el estilo o estigma en desarrollo u otros tejidos florales. Después de aproximadamente tres semanas, y justo antes de la anthesis, el botón completamente desarrollado pero esterilizado en su función masculina (i. e., sin polen), y también potencialmente en su función femenina, típicamente cae al suelo con la larva en el interior. Presumiblemente la larva pupa en el suelo y la mosca adulta emerge de la pupa después de unas semanas (Mendoza- Cuenca et al., *en prep.*).

Las hembras de *Zygothrica sp.* pueden atacar hasta el 84% de los botones florales de una población de *P. padifolia* (Mendoza-Cuenca et al., *en prep.*). Sin embargo, acorde con las predicciones de la teoría de defensa óptima, la variación en los niveles de florivoría entre poblaciones de *P. padifolia* resulta en una asignación diferencial en los niveles de defensa química de las flores, incrementando los niveles de defensa floral en las poblaciones con mayor incidencia de florivoría. Sin embargo, la variación en los niveles de ataque, así como la presencia-ausencia de poblaciones de *Zygothrica sp.* a lo largo de la distribución de las poblaciones de *P. padifolia*, es el resultado de mecanismos de resistencia, defensa y en algunos casos a la tolerancia a la mosca florívora (Mendoza- Cuenca et al., *en prep.*).

Por la alta especificidad de las interacciones que presentan las moscas del género *Zygothrica*, esperamos que estructura genética y filogeográfica de *Zygothrica sp.* sea congruente con las de su hospedero *Palicourea padifolia*.

Objetivo General

Estudiar la filogeografía de la mosca florívora *Zygothrica sp.* y evaluar si existe congruencia con los patrones de distribución geográfica y estructura genética de su hospedero específico *Palicourea padifolia* (Rubiaceae) a lo largo de su distribución en los bosques mesófilos de México.

Objetivos Particulares

- 1) Estimar los niveles de variación genética en las poblaciones de *Zygothrica sp.* con base en ADN mitocondrial.
- 2) Conocer la estructura genética y los niveles de flujo génico de *Zygothrica sp.* a escala de su distribución geográfica con base en el ADN mitocondrial.

- 3) Determinar las distancias genéticas entre cada una de las poblaciones de *Zygotricha sp.*, así como si existe una correlación entre distancia genética y geográfica.
- 4) Comparar los patrones filogeográficos de *Zygotricha sp.* con los de su hospedero específico *P. padifolia* y determinar si están correlacionados.

MATERIALES Y MÉTODOS

Métodos de campo

Se visitaron todas las localidades en las que se distribuye *P. padifolia* en los bosques mesófilos de México (Gutiérrez-Rodríguez et al., 2011). En cada localidad se hizo una revisión exhaustiva en los botones de ambos morfos florales de *P. padifolia* buscando evidencias de parasitismo por *Zygotricha sp.* Se encontraron evidencias de florivoría únicamente en 9 poblaciones que comprenden todos los estados de la distribución reportada para su hospedero (Tabla 1). En cada población, se colectaron al azar 10-15 inflorescencias de 10 individuos de cada morfo floral. Se revisó individualmente cada botón floral y en caso de presentar larva de *Zygotricha sp.* esta se extrajo del botón y se colocó en etanol al 100% y se almacenó posteriormente en un ultracongelador (a -80 °C). En total se obtuvieron 124 larvas de *Zygotricha sp.*

Tabla 1. Poblaciones y número de ejemplares colectados de *Zygotricha sp.*

Localidad	Estado	Latitud (N)	Longitud (W)	Muestras
Apulco	Puebla	19°55'15''	97°06'24''	13
Apantlazol	Hidalgo	20°59'05''	98°37'38''	4
Santiago Lachiuguiri	Oaxaca	16°44'54''	95° 27'24''	1
Banderilla	Veracruz	19°35'18''	95° 57'07''	2
Briones	Veracruz	19°30'28''	96° 57'36''	49
Huatusco	Veracruz	19°09'58''	96° 58'07''	2
Xalapa	Veracruz	19°30'47''	96° 56'28''	22
Motozintla	Chiapas	15°19'42''	92°16'50''	14
Montebello	Chiapas	16° 07'07''	91° 43'39''	17

Métodos de laboratorio

Extracción de ADN

El ADN se extrajo de las larvas colectadas y congeladas a -72°C , según el protocolo de extracción de QIAamp DNA Mini Kit and QIAamp DNA Blood Mini Kit Hand book, con modificaciones menores. El ADN genómico total aislado se visualizó en geles de agarosa al 0.8% teñidos con bromuro de etidio y luz ultravioleta en el equipo Multiimager tmLight (Alpha Innotec Corporation). Cada muestra de ADN se almacenó a -20°C para las reacciones subsecuentes.

Amplificación de las regiones del ADNmt mediante PCR

Las pruebas de amplificación por PCR se realizaron en reacciones de 15 μL de volumen final. Cada reacción se preparó con 7.4 μL de H_2O , 0.5 μL de primer *forward* (Cyt B, 296.95 picomol/ μL), 0.5 μL de primer *reverse* (Cyt B, 302.84 picomol/ μL), 2 μL Taq polymerasa (*Pharmacia*, 5 unidades / μL), 0.5 μL de BSA, 3.6 μL de solución maestra y 0.5 μL de ADN. Mientras que la reacción para el gen de COI consistió en 7.4 μL de H_2O , 0.5 μL de primer *forward* (COI, 283.78 picomol/ μL), 0.5 μL de primer *reverse* (COI, 298.55 picomol/ μL), 2 μL Taq polymerasa (*Pharmacia*, 5 unidades / μL), 0.5 μL de BSA, 3.6 μL de solución maestra y 0.5 μL de ADN. Se realizaron varias pruebas con las combinaciones posibles de temperaturas de alineación que variaron entre los 40°C y 60°C , que permitieron establecer las condiciones idóneas para la amplificación de los fragmentos de ADNmt. La amplificación de COI consistió en 5 min a 95°C para la desnaturalización del ADN, y posteriormente 35 ciclos de 1 min a 95°C , 1 min a 45.8°C para la alineación, y polimerización a 72°C por 1.5 min. Finalmente, un paso de extensión a 72°C por 10 min. Las condiciones para la amplificación de Cyt B fueron las mismas, excepto por la temperatura de alineación, que fue de 58.1°C . Los primers usados en las reacciones de amplificación se muestran en la Tabla 2. Los oligonucleótidos utilizados para el gen de Cyt B fueron diseñados a partir de una secuencia de 488 pb correspondiente al género *Zygothrica*, obtenida en el gen bank con número de acceso EU494296.

Tabla 2. Secuencia de los primers usados para la amplificación de las muestras de *Zygothrica* sp.

Clave OLIGO	Tamaño PB	Secuencia
Cyt b F	26	5' TATGTACTACCATGAGGACAAATATC 3'

	R	26	5' ATTACACCTCCTAATTTATTAGGAAT 3'
COI	F	23	5' TCWACMAATCATAAARATATTGG 3'
	R	26	5' CCTATTGAWARAACATARTGAAAATG 3'

Los productos de la amplificación del PCR se visualizaron con luz ultravioleta en geles de agarosa al 1% teñidos con bromuro de etidio, en el equipo Multiimager tmLight Cabinet (Alpha Innotec Corporation). Al obtenerse bandas únicas en la amplificación, las reacciones de PCR fueron purificadas directamente siguiendo las especificaciones del PCR Purification Kit (QIAGEN).

Secuenciación

Las reacciones de PCR para secuenciación se realizaron con el kit comercial BigDye3.0 (Applied Biosystems) siguiendo las instrucciones de la compañía y usando las siguientes cantidades cada uno de los reactivos 2 µL Pro Mix, 1 µL de primer, 6 µL de buffer, 10 µL de agua y 1 µL de la reacción de PCR. El programa de secuenciación constó de 40 ciclos, cada uno con un paso de desnaturalización a 94 °C por 10 s, un paso de alineamiento a 50°C por 15 s y un paso de polimerización a 60 °C por 4 min. Las reacciones de secuenciación se prepararon para su lectura en el secuenciador mediante purificación en columnas de Sephadex y posteriormente agregando 10 µL de HIDI en una placa de secuenciación. La lectura de las reacciones de secuenciación se realizó en un secuenciador automático ABI 377 o ABI 3700 (Applied Biosystems).

Las secuencias obtenidas y sus electroferogramas fueron revisadas visualmente y corregidas manualmente usando el software Sequencher 5.0. Se utilizó el banco de datos NCBI y el programa BLAST (Zhang *et al.*, 2003) para comparar las secuencias obtenidas. Así mismo, se consultó la base de datos en Gen Bank y se revisó la existencia de secuencias de la misma especie de las que se obtuvieron los marcadores en el presente trabajo.

Análisis de datos. Se realizaron análisis filogenéticos de las secuencias con el programa MrBayes 3.2. (Huelsenbeck y Ronquist, 2001), con la finalidad de determinar como los haplotipos están relacionados entre sí. Se construyeron dos árboles filogenéticos, uno para cada una de las dos regiones del ADNmt analizadas. El grupo externo para el árbol del gen Cyt b se estableció con dos secuencias una de *Zygothrica sp.* y la otra de *Drosophila hypercephala*, obtenidas en Genbank (EU494296, HQ232354), mientras

que para la COI los grupos externos fueron *Drosophila luguensis* y *Drosophila hypercephala* obtenidas en la base de datos del Genbank (EF216247, HQ232352) las secuencias fueron utilizadas como grupo de referencia en la reconstrucción filogenética. Posteriormente se corrieron 3 cadenas independientes, cada una con 1.0×10^7 de generaciones, muestreadas cada 100 iteraciones. Se usaron cuatro cadenas calientes con un factor escalar $T=0.18$. De acuerdo al programa MODELTEST, el modelo de evolución que mejor describe el segmento analizado para el gen de Cyt b fue TrNef+G y para COI fue el HKY+G. Se descartaron el 10% de los árboles y con los 180, 000 árboles restantes se construyó un árbol de consenso de mayoría del 50%.

En muchas ocasiones las relaciones intraespecíficas no pueden ser representadas adecuadamente con un árbol filogenético, por ejemplo cuando varios haplotipos pueden estar relacionados y solo diferir en uno sitio polimórfico, lo cual resulta en una politomía. Por lo tanto, realizamos redes de haplotipos empleando el método de parsimonia estadística mediante el programa Network 4.5.1.0 (Bandelt et al. 1999). Las redes de haplotipos constituyen una buena representación de las relaciones filogenéticas al nivel intraespecífico, debido a que esta clase de datos consisten de secuencias muy similares, algunas de las cuales pueden ser ancestrales (Posada & Crandall, 2001).

Los niveles de variación genética intrapoblacional se estimaron calculando la diversidad haplotípica (h), y la diversidad nucleotídica (π). Para detectar posibles desviaciones de la neutralidad debidas a expansiones poblacionales recientes o al efecto de la selección natural, se calcularon los estadísticos FS (Fu, 1997) y D (Tajima, 1989). Todos los estadísticos anteriormente mencionados se calcularon con el programa DNASP 5.10 (Rozas et al., 2009). Sin embargo, para estos análisis de diversidad solo se utilizaron aquellas poblaciones que tuvieran más de tres individuos por población.

Se utilizó un análisis jerárquico de varianza molecular (AMOVA) para determinar la estructura genética poblacional mediante el programa ARLEQUIN 3.1 (Excoffier et al., 2005). En primer lugar se consideró la diferenciación entre dos grupos de poblaciones, el primero formado por las poblaciones de la Sierra Madre Oriental (es decir, al noroeste del Istmo de Tehuantepec), y el segundo por las poblaciones de Chiapas (es decir, aquellas situadas al sureste del Istmo de Tehuantepec). Igualmente, se determinaron las proporciones de la variación genética entre poblaciones dentro de cada grupo, y dentro de poblaciones (Excoffier et al., 2005). Adicionalmente, se determinó el

grado de diferenciación genética entre cada una de las poblaciones muestreadas calculando F_{ST} pareadas y el grado de significancia se determinó con 1000 permutaciones. Estos análisis también se realizaron con el programa ARLEQUIN.

Se utilizó el programa IBD (Bohonak, 2002) para establecer si existe una correlación entre la distancia geográfica y la distancia genética entre las poblaciones de *Zygothrica sp.* mediante una prueba de Mantel con 10,000 permutaciones. Las distancias genéticas entre poblaciones se obtuvieron en ARLEQUIN (Schneider *et al.* 2000) y las distancias geográficas fueron calculadas a partir de coordenadas geográficas de cada sitio de colecta.

Por último, la posibilidad de una correlación entre la diferenciación genética de la planta hospedera y la del florívoro se analizó mediante el cálculo de la regresión de los valores pareados de F_{ST} de la planta y los valores pareados de F_{ST} del florívoro utilizando una prueba de Mantel como se describió anteriormente. Los datos de F_{ST} pareados fueron amablemente proporcionados por la Dra. Carla Gutiérrez.

RESULTADOS

Se obtuvieron 71 secuencias de un tamaño de 135 pb, de la región de Cyt B, mientras que para la región COI se obtuvieron 30 secuencias de un tamaño de 354 pb (Tabla 3). Para ninguno de los dos genes se obtuvieron secuencias para las poblaciones de Banderilla y Huatusco.

Tabla 3. Número de secuencias de cada gen obtenidas por población de *Zygothrica sp.*

Localidad	Estado	Citocromo B	Citocromo oxidasa I
Apulco	Puebla	4	2
Apantlazol	Hidalgo	5	1
Santiago Lachiuguiri	Oaxaca	1	0
Briones	Veracruz	22	12
Xalapa	Veracruz	19	7
Motozintla	Chiapas	5	3
Montebello	Chiapas	15	6

Reconstrucción filogenética Bayesiana

En los árboles de cada una de las regiones del ADNmt analizadas se obtuvieron valores de soporte para las ramas, que se determinaron por la máxima probabilidad posterior (50%-100%) con un 95% en el índice de consistencia (IC 95%). Cabe resaltar que para la construcción de los árboles, se llevó a cabo un consenso de mayoría de 50% en adelante. Se encontró que la topología de ambos árboles es muy similar, ya que en ambos se encontraron tres clados principales bien diferenciados y con alto valor de la probabilidad posterior (Figs. 1 y 2 respectivamente). Los árboles muestran la distribución homogénea de los haplotipos, lo que sugiere un patrón filogeográfico indefinido congruente con la presencia de flujo genético entre poblaciones.

Para el Cyt B el haplotipo más basal corresponde a un individuo de Xalapa. Posteriormente se originan tres clados: 1) el CLADO A que incluye 2 individuos de Xalapa, 2 de Briones, 1 de Motozintla, 2 de Montebello y uno de Apulco, 2) el CLADO B, formado por 7 individuos de Xalapa, 7 de Montebello, 3 Motozintla, uno de Oaxaca, y uno de Apantlazol y, 3) el CLADO C, formado por 16 haplotipos de Briones, 10 de Xalapa, 6 de Montebello y 3 de Apulco.

En el árbol correspondiente a la región COI se pueden ver tres clados principales. El CLADO A, es el más basal y se forma por 2 individuos de Xalapa, 2 de Briones, 1 de Motozintla, 2 de Montebello y 1 de Apulco. El CLADO B, es el clado más pequeño formado por 2 individuos de Xalapa, 3 de Briones y uno de Motozintla. Finalmente, el CLADO C, es el más grande, con 5 individuos de Briones, 4 de Xalapa, 4 de Montebello, 1 de Motozintla y 1 de Apulco.

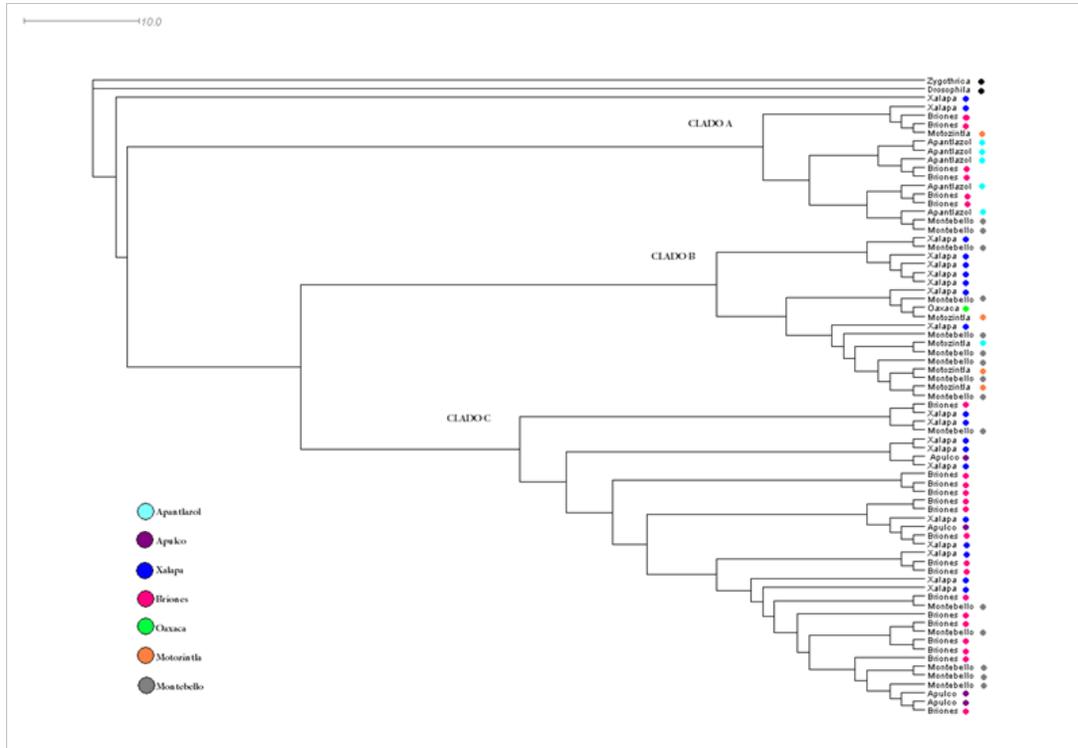


Figura 1. Árbol filogenético del análisis bayesiano del gen citocromo b. Todas las ramas presentaron probabilidades posteriores mayores al 95%.

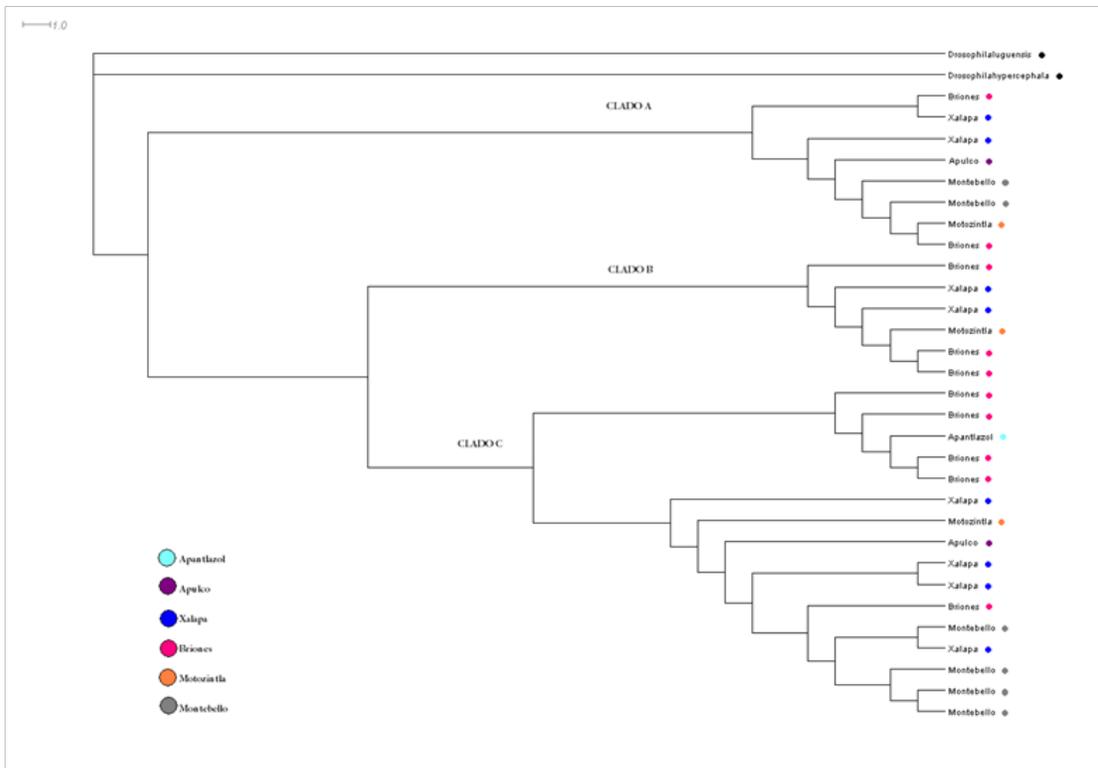


Figura 2. Árbol filogenético del análisis bayesiano del gen citocromo oxidasa I. Todas las ramas presentaron probabilidades posteriores mayores al 95%.

Diversidad genética

Para la región Cyt B encontré un total de 59 haplotipos en las 71 secuencias obtenidas. La población Briones (Veracruz) tiene la mayor cantidad de haplotipos con 21 (en 22 individuos). Únicamente tres de estos haplotipos son compartidos (h5, h7 y h28, presentes también en las poblaciones Apantlazol, Apulco y Xalapa, respectivamente) (Figs. 3 y 4). La población Xalapa (Veracruz) presentó 15 haplotipos (en 19 individuos), de los cuales tres son compartidos (h6 con Apulco, h28 con Briones y h30 con Montebello). La población Montebello mostró 14 haplotipos (de los 15 individuos), de los cuales dos son compartidos (h30 con Xalapa y el h45 con Motozintla). La población de Apantlazol (Hidalgo) tuvo 5 haplotipos (de los 5 individuos que forman la población), con un haplotipo compartido (el h5 compartido con dos individuos de la población Briones). La población de Motozintla (Chiapas) presentó 5 haplotipos (en 5 individuos que forman la población) con un haplotipo compartido (h45 con dos individuos de Montebello) y los demás haplotipos fueron únicos, tales como el h43, h44, h46, h47 (Figs. 3 y 4). La población Apulco (Puebla) presentó 4 haplotipos (en 4 individuos), con dos haplotipos compartidos (h6 compartido con Xalapa y el h7 compartido con Briones). Finalmente Oaxaca es la población para la que se obtuvo únicamente un individuo, cuyo haplotipo (h42) no es compartido (Figs. 3 y 4).

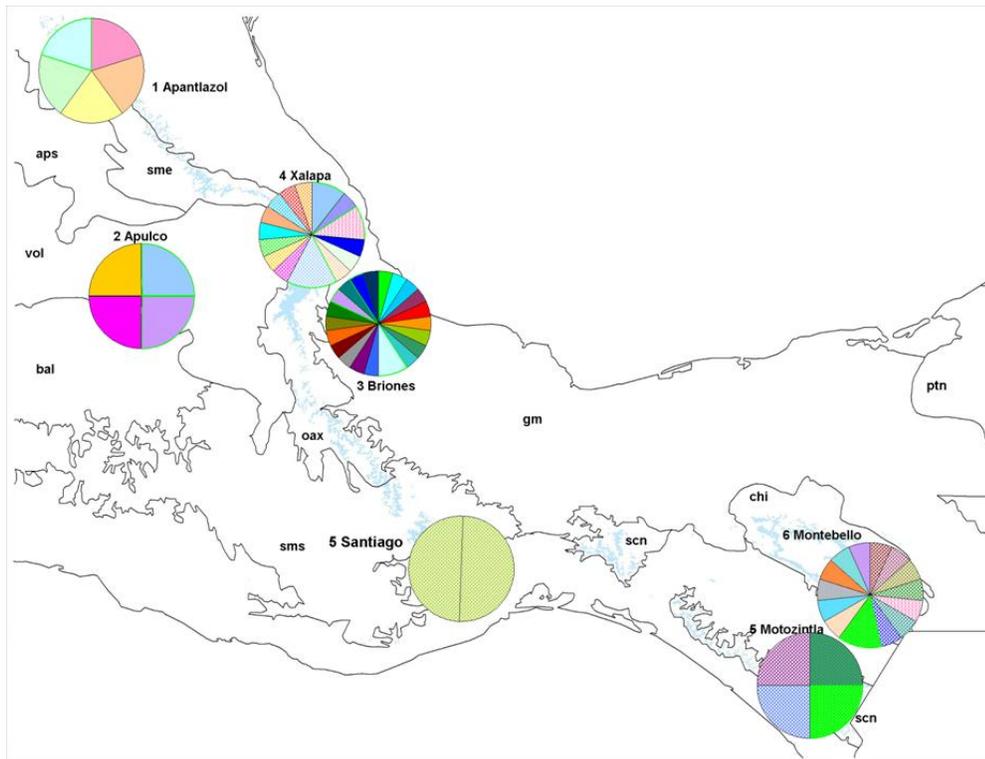


Figura 3. Distribución y frecuencia de los 59 haplotipos identificados en la región Cyt B en las poblaciones de *Zygothrica sp.* Los círculos representan cada localidad. Los diferentes colores al interior de cada círculo corresponde al número de haplotipos. El número junto a los nombres de las localidades indica el número de la población de muestreo. Se muestran las provincias biogeográficas de México reconocidas por Arriaga et al. (1997). Aps, Altiplano Sur; bal, depresión del Balsas; chi, Los Altos de Chiapas; gm, Golfo de México; oax, Oaxaca; ptn, El Péten; scn, Soconusco; sme, Sierra Madre Oriental; sms, Sierra Madre del Sur.

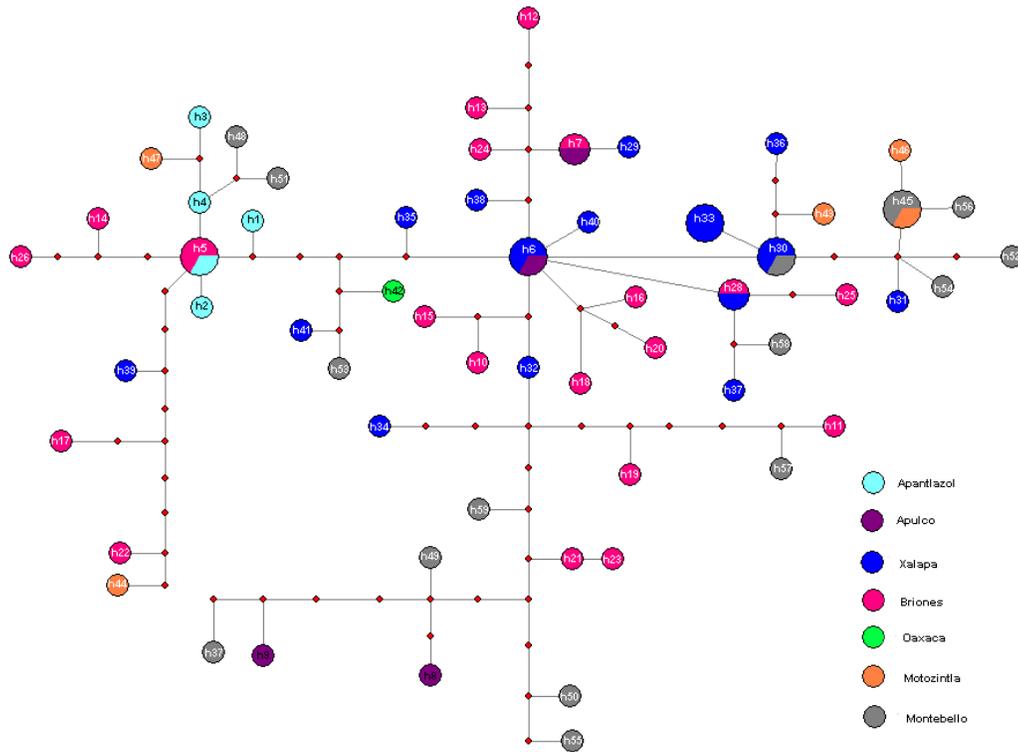


Figura 4. Red de haplotipos para las poblaciones de *Zythrica sp.* correspondiente al gen Cyt B, Los círculos rojos pequeños muestran haplotipos inexistentes que pudieron no haber sido muestreados o que existieron en algún momento y que desaparecieron.

Para el gen de la citocromo oxidasa I se encontraron un total de 29 haplotipos (*H*) en las 30 secuencias obtenidas. Con excepción del haplotipo h2, que se comparte entre 2 individuos de Briones, el resto de los haplotipos de COI son únicos (Figs. 5 y 6).

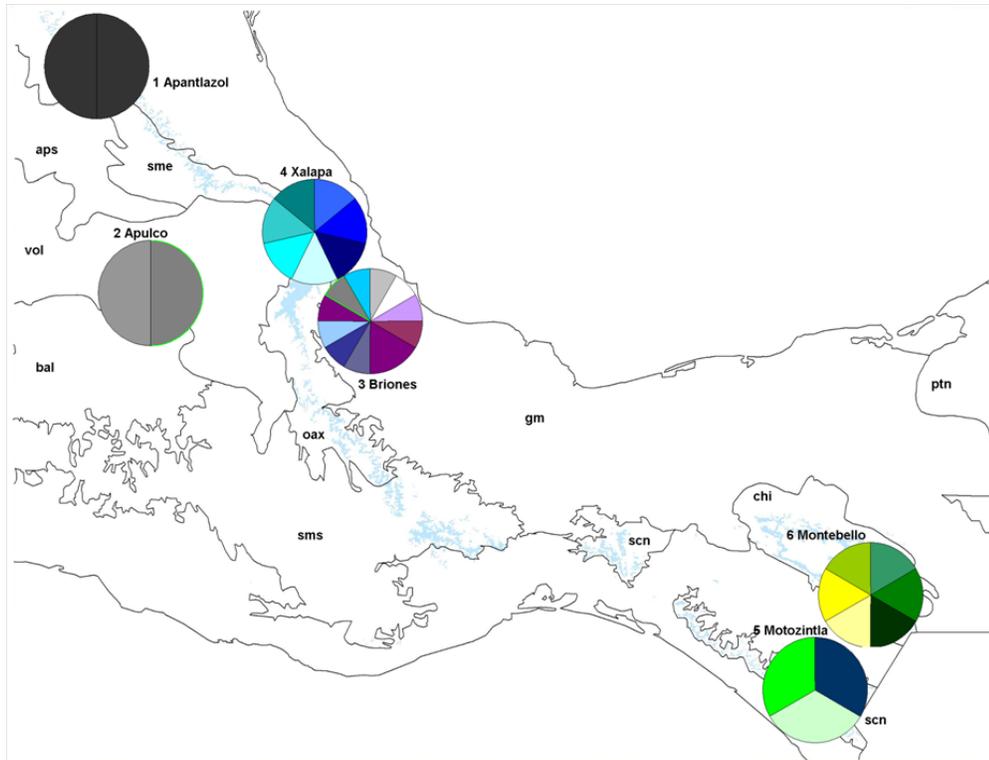


Figura 5. Distribución y frecuencia de los 29 haplotipos identificados en la región COI en las poblaciones de *Zygothrica sp.* Los círculos representan cada localidad. Los diferentes colores al interior de cada círculo corresponde al número de haplotipos. El número junto a los nombres de las localidades indica el número de la población de muestreo. Se muestran las provincias biogeográficas de México reconocidas por Arriaga et al. (1997). Aps, Altiplano Sur; bal, depresión del Balsas; chi, Los Altos de Chiapas; gm, Golfo de México; oax, Oaxaca; ptn, El Péten; scn, Soconusco; sme, Sierra Madre Oriental; sms, Sierra Madre del Sur.

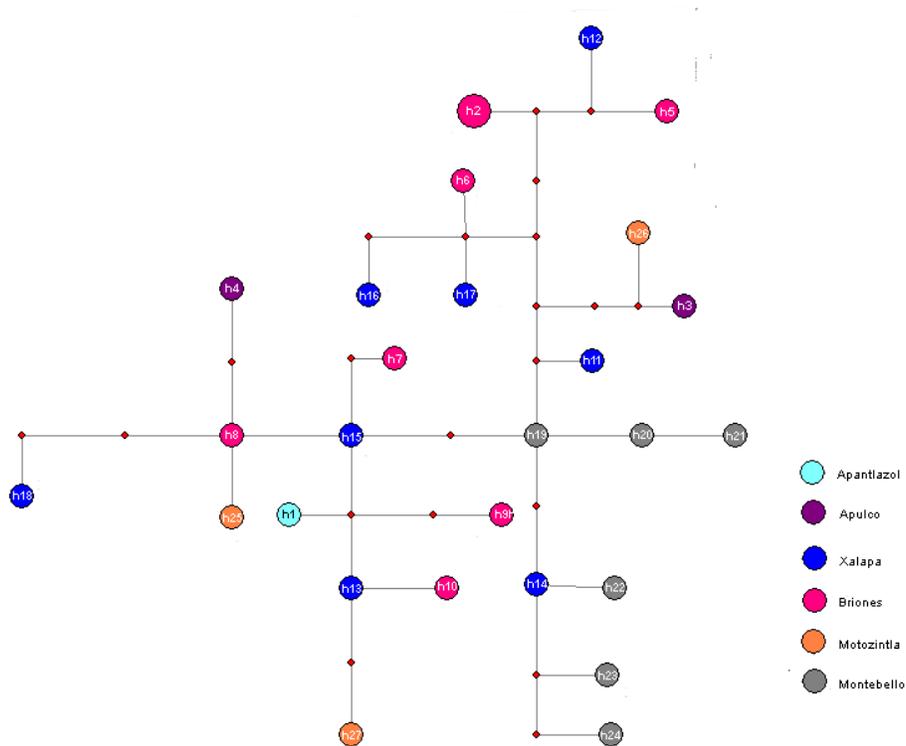


Figura 6. Red de haplotipos para las poblaciones de *Zygothrica sp.* correspondiente al gen de la citocromo oxiadasa I. Los círculos rojos pequeños muestran haplotipos inexistentes que pudieron no haber sido muestreados o que existieron en algún momento y que desaparecieron.

La diversidad haplotípica (h) fue alta para la región COI, con valores de 1.0 en todas las poblaciones, excepto en Apantlazol donde solo se obtuvo una secuencia (Tabla 4). Mientras que la región Cyt B presentó valores de diversidad haplotípica de 1.0 en Apulco, Apantlazol y Motozintla, 0.9 en Briones y Montebello, y 0.78 en Xalapa (Tabla 5). Los valores de diversidad nucleotídica (π) fueron también altos para la región COI, particularmente en Motozintla y Apulco (Tabla 4). En el caso del Cyt b la mayor parte de las poblaciones presentaron altos valores de π , particularmente Motozintla, Briones y Montebello. Sin embargo, Apantlazol y Xalapa tuvieron valores bajos de diversidad nucleotídica (Tabla 5).

Tabla 4. Parámetros de diversidad genética y pruebas de neutralidad para el gen de la citocromo oxidasa I (COI) en cada una de las poblaciones de *Zygothrica sp.* Número de haplotipos (H), diversidad haplotípica (Hd), diversidad nucleotídica (π), prueba D de Tajima (Taj^ˆD), prueba F_s de Fu (F_s).

POBLACIÓN	H	Hd (Es)	π (Ds)	Taj ^ˆ D (Valor-p)	F_s (Valor-p)	Sitios variables (%)
Apulco	2	1.00 (0.27)	0.11 (0.08)	-55836570.82 (< 0.0001)	2.51 (0.55)	72 (20.33)
Apantlazol	1	00.00	00.00	00.00	00.00	00.00
Briones	11	1.00 (0.03)	0.10 (0.05)	-2.04 (0.00118)	-1.11 (0.17)	183 (51.69)
Xalapa	7	1.00 (0.07)	0.10 (0.06)	-1.84 (< 0.0001)	0.30 (0.34)	128 (36.15)
Motozintla	3	1.00 (0.27)	0.15 (0.11)	-70071637.89 (< 0.0001)	2.84 (0.56)	108 (30.54)
Montebello	6	1.00 (0.09)	0.08 (0.04)	0.21 (0.58)	0.42 (0.36)	62 (17.5)

Tabla 5. Parámetros de diversidad genética y pruebas de neutralidad para el gen del citocromo b (Cyt B) en cada una de las poblaciones de *Zygothrica sp.* número de haplotipos (H), diversidad haplotípica (Hd), diversidad nucleotídica (π), prueba D de Tajima (Taj^ˆD), prueba F_s de Fu (F_s).

POBLACIÓN	H	Hd (Es)	π (Ds)	Taj ^ˆ D (Valor-p)	F_s (Valor-p)	Sitios variables (%)
Apulco	4	1.00 (0.17)	0.11 (0.07)	1.05 (0.83)	0.70 (0.39)	23 (17.16%)
Apantlazol	5	1.00 (0.12)	0.04 (0.02)	-0.97 (0.19)	-1.22 (0.11)	13 (9.7%)
Santiago Lachiuguiri	1	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Briones	21	0.95 (0.01)	0.13 (0.06)	-1.14 (0.11)	-9.92 (0.001)	87 (64.92%)
Xalapa	15	0.78 (0.01)	0.03 (0.02)	-1.99 (0.009)	-18.15 (0.001)	34 (25.37%)
Motozintla	5	1.00 (0.09)	0.16 (0.10)	-0.92 (0.22)	0.11 (0.32)	58 (43.28)
Montebello	14	0.93 (0.02)	0.13 (0.06)	-1.28 (0.085)	-4.98 (0.015)	77 (57.46%)

Los resultados de la prueba D de Tajima para la región COI indicaron valores negativos y altamente significativos en la mayor parte de las poblaciones, mientras que la población de Montebello presentó un valor positivo y no significativo (Tabla 4). Los valores de la prueba F_s de Fu fueron en todos los casos no significativos (Tabla 4).

Para la región Cyt B la prueba D de Tajima tuvo valores negativos en la mayor parte de las poblaciones, aunque solamente fue significativa en la población Xalapa (Tabla 5). La prueba F_s de Fu tuvo valores negativos y significativos en las poblaciones

Briones, Xalapa, y Montebello, mientras que en las otras poblaciones no fue significativa.

Estructura genética

Los resultados del AMOVA para la región COI indicaron que las diferencias entre los dos grupos de poblaciones explican únicamente el 1.48% (n.s.) de la varianza total, mientras que el 6.20% ($P = 0.07$) de la variación se encuentra entre las poblaciones dentro de los grupos y el 92.3% se encuentra dentro de las poblaciones (Tabla 6). En el caso de la región Cyt B, se encontró un nivel similar de diferenciación entre grupos de poblaciones (2.30%; n.s.) y entre poblaciones dentro de grupos (5.53%; $P = 0.016$) y dentro de poblaciones (92.17%) (Tabla 7). El valor de F_{ST} que se obtuvo para la región COI (0.076; $P = 0.02$) indica una moderada diferenciación genética entre las poblaciones. Para el Cyt B los patrones fueron muy similares ($F_{ST} = 0.078$; $P = 0.005$). El valor de F_{ST} es conceptualmente una medida de la magnitud del flujo génico entre subpoblaciones, estableciendo que en situaciones de bajo o nulo flujo génico los valores de F_{ST} se incrementan y cuando el flujo génico es alto los valores de F_{ST} serán cercanos a cero (Hedrick, 2005).

Tabla 6. Análisis de Varianza Molecular (AMOVA) para el gen de citocromo oxidasa I (COI).

Fuente de variación	g.l.	Suma de cuadrados	Componentes de la varianza	Porcentaje de variación
Entre grupos	1	18.540	0.18722	1.47 (n.s.)
Entre poblaciones dentro de grupos	3	47.539	0.78806	6.20 ($P = 0.07$)
Dentro de las poblaciones	23	269.706	11.72636	92.32
TOTAL	27	335.786	12.70165	

Tabla 7. Análisis de Varianza Molecular (AMOVA) para el gen del citocromo b (Cyt b).

Fuente de variación	g.l.	Suma de cuadrados	Componentes de la varianza	Porcentaje de variación
Entre grupos	1	16.876	0.16322	2.30 n.s.
Entre poblaciones dentro de grupos	4	42.249	0.39300	5.53 ($P = 0.016$)
Dentro de las poblaciones	65	425.650	6.54847	92.17

TOTAL	70	484.775	7.10469	
--------------	----	---------	---------	--

Los resultados de las prueba de Mantel para evaluar la correlación entre las distancias geográficas y las distancias genéticas (aislamiento por distancia) entre las poblaciones de *Zygothrica sp.* dieron resultados no significativos (COI: $r = 0.2$, $P = 0.24$; Cyt b: $r = 0.05$; $P = 0.43$). Finalmente, tampoco se encontró asociación de las distancias genéticas entre las poblaciones de *P. padifolia* con las distancias genéticas (F_{ST}) entre las poblaciones de *Zygothrica sp.* (COI: $r = 0.3$, $P = 0.6$; Cyt b: $r = 0.22$, $P = 0.53$)

DISCUSIÓN

Los estudios filogeográficos nos permiten evaluar patrones de distribución de la variación genética, así como describir eventos de dispersión, colonización, y vicarianza. Por otro lado, un patrón filogeográfico está determinado por la divergencia existente entre haplotipos y por su distribución geográfica (Avice, 2000). En relación con lo anterior, la variación genética intraespecífica es una importante medida del potencial evolutivo y la viabilidad a largo plazo de las especies. La variación genética de los individuos de una especie y la distribución espacial de la misma son influenciadas por factores históricos, como procesos de deriva génica, flujo génico y eventos de cuello de botella en las poblaciones (Avice 2004). La estructura genética de una población está fuertemente influenciada por el intercambio genético entre y dentro de las poblaciones.

Este estudio tuvo como objetivo conocer la estructura genética y filogeográfica de las poblaciones de *Zygothrica sp.* utilizando secuencias del ADNmt para hacer una reconstrucción de la historia evolutiva de las poblaciones de esta mosca florívora en los bosques mesófilos de México así como comparar los patrones filogeográficos de *Zygothrica sp.* con los de su hospedero específico *P. padifolia* y determinar si están correlacionados.

La diversidad haplotípica (h) fue alta para la región COI, con valores de 1.0 en todas las poblaciones, mientras que la región Cyt b presentó valores entre 1.0 y 0.78. En relación a la diversidad nucleotídica (π), los valores se encuentran dentro los más altos comparado con otros estudios en insectos, ambos genes revelaron que la población con mayor diversidad nucleotídica es Motozintla. Por otro lado, un punto importante fue que para Cyt b la población de Xalapa presento la diversidad haplotípica (0.78) y nucleotídica (0.03) más baja (Tablas 4 y 5). La alta diversidad haplotípica y nucleotídica en las poblaciones de *Zygothrica sp.*, sugieren una gran estabilidad poblacional con una larga historia evolutiva (Grant y Bowen, 1998). En otros estudios realizados en insectos se ha encontrado una diversidad haplotípica alta (en proporciones de 1.0 a 0.88) y una diversidad nucleotídica entre 0.79 y 0.003 (Tabla 8). Cabe mencionar, que estos resultados son consistentes a los encontrados en la mayoría de los estudios en insectos en los que se encuentra valores similares de diversidad haplotípica y nucleotídica (Tabla 8).

Tabla 8. Estimadores de diversidad genética para insectos, el cuadro muestra la diversidad haplotípica y nucleotídica.

Especie	Orden	Localidad	h	π	Marcador	Referencia
<i>Megastigmus dorsalis</i>	Hymenoptera	Irán	0.975		Cyt b	James et al, 2010
		Turquía	0.983			
		Asia	0.917			
<i>Aedes caspius</i>	Diptera	Marruecos	1.00	0.010	COI y COII	Porretta et al, 2011
		Francia	1.00	0.008		
		Suecia	1.00	0.006		
		Romania	1.00	0.003		
<i>Liposcelis bostrychophila</i>	Psocoptera		1.00	0.021	Cyt b	Wei et al, 2012
<i>Liposcelis entomophila</i>	Psocoptera		0.909	0.029	Cyt b	Wei et al, 2012
<i>Dendroctonus mexicanus</i>	Coleoptera	México	0.905	0.015	COI	Anducho et al, 2008
<i>Spodoptera frugiperda</i>	Lepidoptera	Norte America	0.926	0.189	COI	Salinas et al, 2010
<i>Battus philenor</i>	Lepidoptera	Virginia, EUA	0.880	0.70	COII	James et al, 2003
		Florida, EUA	0.870	0.79		

La distribución de la variación genética en *Zygothrica sp.* para las poblaciones y regiones geográficas en ambos fragmentos del ADNmt estimados por medio del AMOVA, mostró que en ambos casos la mayor proporción de la variación genética se encontró dentro de las poblaciones (COI: 92.32%; Cyt B: 92.17). Lo que es consistente con otros estudios realizados en insectos en los que se ha encontrado también que la mayor parte de la variación genética se encuentra dentro de las poblaciones, en proporciones que varían del 85.75% al 99.72% (Tabla 9).

Tabla 9. Variación genética en poblaciones de insectos, en estudios realizados mediante Análisis de Varianza Molecular.

Especie	Orden	Fuente de variación	Porcentaje de variación	Referencia
<i>Drosophila pachea</i>	Díptera	Dentro de las poblaciones	99.72%	Feiler et al, 2007
<i>Chloroclystis excisa</i>	Lepidoptera	Dentro de las poblaciones	90.2%	Kaoru et al, 2011

<i>Cydia pomonella</i>	Lepidoptera	Dentro de las poblaciones	97.87 %	Espinosa et al, 2009
<i>Battus philenor</i>	Lepidoptera	Dentro de las poblaciones	85.75%	James et al, 2003
<i>Dendroctonus mexicanus</i>	Coleoptera	Dentro de las poblaciones	84.74%	Anducho, 2004; 2008; Ruíz, 2009

En este estudio se encontró que los valores de *Fst* para ambos genes de ADNmt, indica una moderada diferenciación genética cabe mencionar que las pruebas fueron significativas (cuadro 9 y 10). En general para los dos genes el análisis muestra congruencia ya que el valor de diferenciación genética para ambos genes es el mismo. Debido a que los modelos de nicho ecológico realizados para el florívoro sugieren la fragmentación de las poblaciones por el Istmo de Tehuantepec y al conjuntar estos resultados con los valores bajos de *Fst*, esto sugeriría una alta movilidad de este insecto florívoro entre las poblaciones en ambos lados del Istmo de Tehuantepec este resultado se ajusta a los patrones encontrados para especies con la capacidad de realizar vuelos extendidos aunque para esta especie se desconocen la capacidad de dispersión. Finalmente al comparar con otros estudios realizados en insectos se encontraron muchos casos que indican una moderada diferenciación genética (Tabla 10).

Tabla 10. Valores de diferenciación genética (*Fst*), encontrados en poblaciones de insectos.

Especie	Orden	<i>Fst</i> (Valor-p)	Gen	Referencia
<i>Helicoverpa armigera</i>	Lepidoptera	0.031 (0.01)	COI	Behere et al, 2007
<i>Tegeticula yuccasella</i>	Lepidoptera	0.043 (0.004)	COI	Leebenes et al, 1998
<i>Chloroclystis excisa</i>	Lepidoptera	0.088 (0.001)	COI	Kaoru et al, 2011
<i>Acanthoscelides obtectus</i>	Coleoptera	0.052 (0.014)	Aloenzimas	González et al, 1997
<i>Rhodnius prolixus</i>	Hemiptera	0.057 (0.03)	ITS-2	López et al, 2007
<i>Battus philenor</i>	Lepidoptera	0.030 (0.001)	COII	James et al, 2003

Respecto a las pruebas de neutralidad D de Tajima y F_S de Fu, los resultados muestran que las poblaciones de Xalapa, Briones y Montebello se encuentran bajo el modelo de expansión poblacional, estos resultados concuerdan también con otros estudios realizados en insectos (Tabla 11). Mientras que la población de Apantlazol y Motozintla se encuentran bajo el modelo de estabilidad poblacional. Partiendo de que un valor significativamente negativo es evidencia de un exceso de alelos, lo cual se esperaría de una población que ha experimentado expansión poblacional reciente, mientras por otro lado, un valor significativo y positivo sería evidencia de una deficiencia de alelos, lo cual se esperaría de una población que ha experimentado cuellos de botella (Simonsen, 1995; Fu, 1997. Avise (2004) señala que los valores de diversidad haplotípica y nucleotídica altos son esperados para las poblaciones demográficamente numerosas y estables estos es congruentes con lo encontrado en las pruebas de neutralidad. En el caso de *Zygothrica sp.*, las poblaciones no necesariamente representan poblaciones grandes. Sin embargo, los resultados de los modelos de nicho ecológico sugieren que las poblaciones han tenido expansiones durante el LGM, en estudios se ha documentado la distribución del bosque mesófilo y se explica mediante hipótesis que consideran el efecto del cambio climático pasado sobre este hábitat que propició periodos de aislamiento y periodos de relativa continuidad entre los fragmentos del Bosque Montano (Wijninga 1995). Esto pudo haber provocado la disminución y fragmentación de las poblaciones. Luego de éste periodo, el aumento de la temperatura y de la distribución de la vegetación podría haber beneficiado la expansión poblacional. En el último máximo glacial los modelo sugieren que geográficamente el área de distribución de las mosca florívora no sufrió un colapso, como sucedió con muchas especies, si no esta especie mantuvo su extensión como muchas especies del mosque montano y así tuvo la posibilidad de expandir sus poblaciones o mantenerse demográficamente estable, lo anterior lo podemos observar en los valores de las pruebas de neutralidad para las poblaciones *Zygothrica sp.*

Tabla 11. Tests de neutralidad, encontrados en poblaciones de insectos.

Especie	Orden	Taj D(Valor-p)	FS(Valor-p)	Resultados	Referencia
<i>Dendroctonus approximatus</i>	Coleoptera	-1.784 (0.010)	-34.00 (0.006)	Expansión poblacional	López et al, 2010

<i>Diaphorina citri</i>	Hemiptera	-26.71 (0.035)	-8.45 (0.0013)	Expansión poblacional	Jesse et al, 2011
<i>Myrmica rubra</i>	Hymenoptera	-6.34 (0.005)	-9.69 (0.0033)	Expansión poblacional	Leppanen et al, 2011
<i>Liposcelis bostrychophila</i>	Psocoptera	-2.07 (0.0078)	-6.04 (0.04)	Expansión poblacional	Wei et al, 2012
<i>Liposcelis entomophila</i>		-1.71 (0.0069)	- 5.71 (0.098)		
<i>Drosophila buzzatii</i>	Diptera	-2.15 (0.027)	-8.55 (0.057)	Expansión poblacional	Manfrin et al, 2002

La red de haplotipos exhibe un patrón similar al encontrado con los métodos filogenéticos, ambos análisis muestran la homogeneidad genética entre las poblaciones de estudio. Lo anterior sugiere un alto nivel de flujo genético y poca estructura filogeográfica en las poblaciones analizadas de *Zygothrica sp.* Esto es consistente con trabajos previos en los que con frecuencia las especies voladoras no se ajustan a los patrones filogeográficos de organismos no voladores o sésiles (Ditchfield 2000), ya que la capacidad de volar les confiere más opciones para dispersarse y en ocasiones las barreras geográficas no son un obstáculo para el flujo de genes. Por ejemplo, en varias especies de murciélagos de América se han encontrado valores bajos de estructuración genética, bajas tasa de divergencia entre secuencias y haplotipos ampliamente distribuidos en todo el continente (Turmelle, 2010). Mientras que en casi todos los mamíferos pequeños no voladores se han encontrado elevados valores de estructuración genética y altas tasas de divergencia entre localidades no muy alejadas (Mustringi, 1997). En insectos voladores también se ha encontrado poca estructura filogeográfica, por ejemplo, en el escarabajo *Ips typographus* (Coleoptera: Scolytidae) (Gugerli, 2008) se analizaron 5 microsatélites nucleares en 30 diferentes localidades de Suiza y los resultados indicaron que no existe estructura poblacional. En *Drosophila pachea* (Diptera: Drosophilidae) se utilizaron 6 microsatélites y la región COI para analizar poblaciones del desierto de Sonora, México. Nuevamente, los análisis demostraron que existe poca estructura. En especies como el mosquito *Aedes caspius* (Diptera: Culicidae) tampoco se encontró estructura (Porretta, 2011), lo que se atribuyó a la biología del mosquito, ya que los adultos tienen capacidades de dispersión de aproximadamente 30 km, además de tolerar una gama amplia de hábitats. En un estudio comparativo realizado para *Psychoda phalaenoides* y *Psycha grisescens* (Diptera: Psychodidae) (Espíndola, 2011) no se encontró estructura filogeográfica en ambas

especies aún cuando existen distancias de hasta 3800 km entre las poblaciones estudiadas, lo que indica que existe flujo de genes entre poblaciones extremadamente distantes. Estas moscas presentan tamaños pequeños pero tienen una capacidad de realizar vuelos extendidos de por lo menos 160 km. En el caso de *Zygothrica* sp, aunque se desconoce la capacidad de vuelo de las hembras, la distancia entre poblaciones es mucho menor al ejemplo anterior, ya que la distancia mínima entre poblaciones es de apenas 1.88 km (Xalapa y Briones) y la máxima es de 919.18 km (Apantlazol y Motozintla), por lo que la ausencia de estructura encontrada en nuestro estudio es totalmente concordante con lo encontrado para insectos voladores de tamaños equivalentes.

La falta de estructura genética entre las poblaciones *Zygothrica* sp. a pesar de tener una interacción especialista con su hospedero *P. padifolia*, no es concordante ya que en *P. padifolia* se encontró diferenciación genética al menos entre las poblaciones de Chiapas y el resto del país. Esto sugiere que para las moscas el Istmo de Tehuantepec no representa una barrera al flujo génico. Aunque el marcador de ADNmt no reveló ninguna estructuración significativa, quizá utilizando otra región del ADNmt con tasas mas altas de mutación (*e.g.*, ND3), podría mejorar la resolución de los análisis filogeográficos. Cabe mencionar que los resultados presentados en este estudio constituyen las relaciones matrilineales entre las poblaciones de *Zygothrica* sp. y que los trabajos filogeográfico que se han hecho con este tipo de marcadores (secuencias de ADNmt) han sido en combinación con microsatélites en diferentes taxones.

Estructura filogeográfica de *Zygothrica* sp. en relación con su hospedero específico *Palicourea padifolia*.

En este estudio se analizó la estructura filogeográfica de *Zygothrica* sp. en relación a la estructura poblacional de su hospedero *Palicourea padifolia* debido a la especificidad que exhibe este insecto florívoro hacia la planta. En el caso de *P. padifolia*, el análisis del ADN de cloroplasto, indicó altos niveles de diversidad y flujo génico tanto entre poblaciones localizadas en el mismo fragmento, como entre distintos fragmentos de bosque mesófilo en México (Gutiérrez-Rodríguez et al., 2011). Sin embargo, Gutiérrez-Rodríguez et al. (2011) encontraron dos grupos de poblaciones genéticamente

diferenciadas, con las poblaciones de Hidalgo, Oaxaca, Puebla y Veracruz formando un grupo bien soportado y las poblaciones de Chiapas representando un grupo genéticamente aislado. Tal estructura filogeográfica sugiere que ocurrieron al menos dos escenarios: por una parte resalta el papel del Istmo de Tehuantepec como una barrera geográfica ante la dispersión de los individuos y genes; y por otra parte, que durante las glaciaciones pleistocénicas que ocurrieron hace aproximadamente entre dos y dos millones y medio de años, y hasta hace aproximadamente diez mil años, varias poblaciones representaron refugios Pleistocénicos a partir de los cuales ocurrió una expansión.

Es bien sabido que en Mesoamérica una de las principales barreras para las especies montanas es el Istmo de Tehuantepec (Sánchez, 2007). El Istmo de Tehuantepec es una zona de alta complejidad biogeográfica (Ferrusquía, 1993), donde hubo varios eventos tectónicos, fluctuaciones en el nivel del mar y un levantamiento continental que unió a México con América Central durante el Plioceno-Pleistoceno. Se sabe que el Istmo funcionó como corredor para algunas especies, mientras que para otras representó una barrera que promovió la vicarianza. En algunos organismos permitió la dispersión siguiendo dos caminos, uno por el Pacífico sur, hacia Chiapas y Oaxaca, y el otro hacia el Golfo de México hacia Tabasco y Veracruz. Sin embargo, las barreras geográficas actúan no siempre de la misma manera para todos los organismos. En el caso de *Zygothrica sp.* no se encontró la clara separación entre haplotipos al norte y sur del Istmo de Tehuantepec que se ha observado en otras especies de bosque montano (García- Moreno *et al.* 2004, Cortés-Rodríguez *et al.* 2008, Navarro-Sigüenza *et al.* 2008). Al contrario, en *Zygothrica sp.* hay relación entre haplotipos de ambos lados del Istmo. No obstante, puede existir cierto grado de divergencia en las poblaciones de *Zygothrica sp.* al norte y al sur del Istmo. Debido a que: I) casi ningún haplotipo se comparte entre sus poblaciones para el gen de la citocromo b. II) casi todos los haplotipos tienen su haplotipo más relacionado en la misma región (excepto el h30, el h5, h6). III) cada haplotipo se distingue del resto, por muchas mutaciones. Lo anterior se refleja con los valores de F_{st} obtenidos para ambos genes de ADNmt de las poblaciones de *Zygothrica sp.*, el resultado muestra una moderada diferenciación genética cabe mencionar que la pruebas fueron significativa (cuadro 9 y 10).

La baja estructura genética encontrada podría deberse en parte a la existencia de flujo génico actual entre algunas poblaciones, como es sugerido por los valores de F_{ST} , diversidad haplotípica y diversidad nucleotídica. Asimismo, los resultados de los AMOVAs corroboran la alta diversidad genética de este florívoro en su área de distribución, ya que el mayor porcentaje de variabilidad está dado dentro de las poblaciones. En general los datos apoyaron un escenario de expansión demográfica y las dos únicas poblaciones que mostraron evidencia de estar bajo un modelo de estabilidad poblacional fueron las poblaciones de Apantlazol y Motozintla, por lo que muy posiblemente las poblaciones de *Zygothrica sp.* experimentaron expansiones demográficas históricas. Lo cual es congruente con los resultados mostrados por los modelos de nicho ecológico donde se sugiere una importante expansión del último máximo interglacial hasta el último máximo glacial, en este sentido se documenta el enfriamiento climático durante el pleistoceno, además de cambios de clima seco a húmedo en diferentes épocas afectaron también a las poblaciones del bosque mesófilo. Tanto para *Zygothrica sp.*, como para *P. padifolia* los modelos muestran que para el UGM las poblaciones alcanzaron su máxima distribución en el periodo donde los glaciares alcanzaron su mayor extensión, por lo que aparentemente estas condiciones beneficiaron a las especies del bosque mesófilo (BMM), característico de un tipo de vegetación de zonas montañosas, en donde prevalece un clima fresco y altos niveles de humedad con una precipitación anual varía de 1,000 a 3,000 msnm, y una temperatura promedio anual fluctúa entre los 12 y 23°C. Probablemente la estructura filogeográfica e historia demográfica de *Zygothrica sp.* concuerdan con la hipótesis del impacto que provocaron los cambios climáticos en el último máximo glacial en el sur de México y Centroamérica, permitiendo a las especies periodos largos de expansión seguida de contracciones subsecuentes en las poblaciones. Con base en esto, es posible proponer que los individuos que trascendieron a los cambios climáticos que mermaron a la población se expandieron demográficamente y colonizaron paulatinamente los espacios encontrados en la periferia de su distribución, alcanzando así la distribución geográfica que observamos en la actualidad y siendo los haplotipos de dichos individuos fundadores los más representados en la población.

CONCLUSIÓN GENERAL

- Al considerar su distribución histórica, los escenarios de distribución potencial para las poblaciones de *Zygothrica* sp. y *P. palicourea* muestran una importante expansión entre el último interglacial hace 140 ka y hasta el último máximo glacial hace 21 ka. Sin embargo, a partir de este periodo y hasta el presente los modelos sugieren una contracción. Los modelos de distribución potencial de ambas especies sugieren el rompimiento de las poblaciones por el Istmo de Tehuantepec tanto de *Zygothrica* sp. como de *P. padifolia*.
- Los resultados mostraron poca estructura filogeográfica y altos niveles de diversidad genética dentro de las poblaciones de *Zygothrica* sp., sugiriendo que ha existido suficiente flujo génico a lo largo del tiempo entre todas las poblaciones para homogeneizar la estructura genética.
- No existe congruencia entre la estructura genética de la mosca florívora y de su hospedero *P. padifolia* a lo largo en los bosques mesófilos en México.

LITERATURA GENERAL

- Adler, L.S., Karban, R., Strauss, S.Y. (2001). Direct and indirect effects of alkaloids on plants fitness via herbivory and pollination. *Ecology*, 82: 2032-2044.
- Allard, M.W., Miyamoto, M.M., Bjorndal, K.A., Bolten, A.B., Bowen, B.W. (1994). Support for natal homing in green turtles from mitochondrial DNA sequences. *Copeia*, 1994: 34-41
- Allenforf, F., Luikard, G. (2007). Conservation and the Genetics of populations. Blackwell Publishing, Reino Unido. and Sons, Inc, New Jersey, United States.
- Anderson, R. P., Martínez-Meyer. (2004). Modeling species' geographic distributions for conservation assessments: an implementation with the spiny pocket mice (*Heteromys*) of Ecuador. *Biological Conservation*, 116:167-179.
- Anderson, R.P., Lew, D., Peterson, A. (2003). Evaluating predictive models of species distributions: criteria for selecting optimal models. *Ecological Modelling*, 162, p. 211-232, 2003.
- Anducho-Reyes, M. A. (2004). Estudio filogeográfico de *Dendroctonus mexicanus* Hopkins en México. Tesis de doctorado. Instituto Politécnico Nacional. México.
- Anducho, R. (2008). Phylogeography of the bark beetle *Dendroctonus mexicanus* Hopkins (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 49,930–940
- Arbogast, B.S., Kenagy. (2001). Comparative phylogeography as an integrative approach to historical biogeography. *Journal of Biogeography*, 28: 819-825.
- Arenas, J., Cabello, A., Campos, Y. (1996). Bioquímica e histoquímica de las enfermedades mitocondriales. *An Esp Pediatr* , 83: S290-292.
- Ashman, T.L., Knight, T.M., Steets, J.A., Amarasekare, P., Burd, M., Campbell, D.R., Dudash, M.R., Johnston, M.O., Mazer, S.J., Mitchell, R.J., Morgan, M.T., Wilson,

- W.G. (2004). Pollen limitation of plant reproduction: ecological and evolutionary causes and consequences. *Ecology*, 85: 2408-4241
- Ashmann, T. (2002). The role of herbivores in the evolution of separate sexes from hermaphroditism. *Ecology*, 83: 1175-1184.
- Avise, J., (1998). *The Genetic Gods: Evolution and Belief in Human Affairs*. Harvard Univ. Press, Cambridge, MA. (279 pp.).
- Avise, J., (2000). *Phylogeography: The History and Formation of Species*. Harvard Univ. Press, Cambridge, MA. (447 pp.).
- Avise, J., (2009). Phylogeography: retrospect and prospect. *Journal of Biogeography*, 36:3–15
- Avise, J.C. (2004). *Molecular Markers, Natural History, and Evolution (Second Edition)*. Sinauer, Sunderland, (Massachusetts): Sinauer Associates. 684 p.
- Avise, J.C., Arnold, J., Ball, R.M. *et al.* (1987). Intraspecific phylogeography: the mitochondrial DNA bridge between population genetics and systematics. *Annual Review of Ecology and Sistematics*, 18, 489-522.
- Bandelt, H. (1995). Mitochondrial portraits of human populations using median networks. *Genetics*, 141:743–753.
- Behere, G., Tay, W., Russell, D. (2007). Mitochondrial DNA analysis of field population of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) and relationship *H. Zea*. *Evolutionary Biology*, 7,117.
- Bermingham, E., Avise, J.C. (1986). Molecular zoogeography of freshwater fishes in the southeastern United States. *Genetics*, 113, 939–965.
- Bohonak, A.J. 2002. IBD (isolation By Distance): a pro- gram for analyses of isolation by distance. *J Hered* 93: 153-154.
- Boore, J.L. (1999). Animal mitochondrial genomes. *En Nucleic Acid Research.*, Vol. 27 (8): 1767-1780.

- Bowen, B.W. Grant, W.S. (1997). Phylogeography of the sardines (*Sardinops* spp.): Assessing biogeographic models and population histories in temperate upwelling zones. *Evolution*, 51(5): 1601– 1610.
- Braconnot, P., Otto-Bliesner, B., Harrison, S., Joussaume, S., Peterschmitt, J.Y., Abe-Ouchi, A., Crucifix, M., Driesschaert, E., Fichefet, T., Hewitt, C. D., Kageyama, M., Kitoh, A., Laine, A., Loutre, M.-F., Marti, O., Merkel, U., Ramstein, G., Valdes, P., Weber, S. L., Yu, Zhao, Y. (2007) Results of PMIP2 coupled simulations of the Mid-Holocene and Last Glacial Maximum - Part 1: experiments and large-scale features. *Climate of the Past*, 3: 261–277.
- Brown, M. (1996). Mitochondrial DNA Phylogeography of host races of the golden rod ball gall maker *Eurosta solidaginis* (DIPTERA: TEPHRITIDAE). *Evolution*, 50:777-786
- Bulgin, N.L., Gibbs, H.L., Vickery, P., Baker, A.J. (2003). Ancestral polymorphisms in genetic markers obscure detection of evolutionary distinct populations in the endangered Florida grasshopper sparrow (*Ammodramus savannarum floridanus*). *Molecular Ecology*, 12:831-844.
- Burger, B.F., Lang. (1999). Mitochondrial Evolution. *En Science*, vol. 183: 1476-1481.
- Busby, J.R. (1991). BIOCLIM, A Bioclimatic Analysis and Prediction System. In: Margules, C.R.&M.P. Austin (eds.) *Nature Conservation: Cost Effective Biological Surveys and Data Analysis*.pp. 64-68. Canberra: CSIRO.
- Camarena, G. (2006). Signals in plant-insect Interaction. Unidad de Morfología y Función, FES Iztacala.
- Canela, M.B., Sazima, M. (2003). Florivory by the crab *Armases angustipes* (Grapsidae) influences humming bird visits to *Aechmea pectinata* (Bromeliaceae). *Biotropica*, 35: 289–294
- Cavalli-Sforza, L.L. (1967). Phylogenetic analysis: models and estimation procedures. *American Journal of Human Genetics*, 19:233-257.

- Chan, L.M., Brown, J.L., Yoder, A.D. (2011). Integrating statistical genetic and geospatial methods brings new power to phylogeography. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 59: 523-537.
- Chapco, W., Kelln, R.A., McFadyen, A.D. (1992). Intraspecific mitochondrial variation in the migratory grasshopper, *Melanoplus sanguinipes*. *Heredity*, 69, 547-557.
- Chiang, T.Y., Hung, K.H., Hsu, T.W., Wu, W.L., Chiang, T.Y. (2004). Lineages sorting and phylogeography in *Lithocarpus formosanus* and *L. dodonaeifolius* (Fagaceae) from Taiwan. *Ann. Missouri Bot. Gard.*, 91:207-222.
- Clement, M., Posada, D., Crandall, K.A. (2000). TCS: a computer program to estimate gene 6 genealogies. *Mol. Ecol.*, 9, 1657-1659.
- Collevatti, R.G., Grattapaglia, D., Hay, J.D. 2003. Evidences for multiple maternal lineages of *Caryocar brasiliense* populations in the Brazilian Cerrado based on the analysis of chloroplast DNA sequences and microsatellite haplotype variation. *Molecular Ecology*. 2003; 12:105–115.
- Contreras, P. S., Ornelas, J.F. (1999). Reproductive conflicts of *Palicourea padifolia* (Rubiaceae) a distylous shrub of a tropical cloud forest in Mexico. *Plant Systematics and Evolution*, 219: 225–241.
- Cortés-Rodríguez, N., Hernández-Baños, B.E, Navarro-Sigüenza, A.G., Peterson, A.T., García- Moreno, J. (2008). Phylogeography and population genetics of the Amenthyst-throated Hummingbird (*Lampornis amethystinus*). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 48: 1-11.
- Crandall, K.A., Posada, D., Vasco, D. (1999). Effective population sizes: missing measures and missing concepts. *Animal Conservation*, 2: 317–319.
- Crisci, J.V., Katinas, L. (2006) Historical biogeography: A review of its basic concepts and critical issues. *Journal of Arid Environments*, 66: 389–403.
- Cuevas-Reyes, P., Quesada, M., Oyama, K. (2006). Abundance and leaf damage caused by gall-inducing insects in a Mexican tropical dry forest. *Biotropica*, 38:107-115

- Da Silva, M.N., Patton, J.L. (1998). Molecular phylogeography and the evolution and conservation of Amazonian mammals. *Molecular Ecology*, 7, 475 -486.
- Dawson, M.N., Louie, D., Barlow, M. (2002). Comparative phylogeography of sympatric sister species, *Clevelandia ios* and *Eucyclogobius newberryi* (Teleostei, Gobiidae), across the California Transition Zone. *Mol. Ecol.*, 11: 1065–1075.
- Ditchfield, A.D. (2000). The comparative phylogeography of Neotropical mammals: patterns of intraspecific mitochondrial DNA variation among bats contrasted to nonvolant small mammals. *Molecular Ecology*, 9, 1307–1318.
- Dodgson, J.B., Cheng, H.H., Okimoto, R. (1997). DNA marker technology: A revolution in animal genetics. *Poult. Sci.*, 76, 1108-1114.
- Domínguez-Domínguez, O., Vázquez-Domínguez, E. (2009). Phylogeography: Applications in taxonomy and conservation. *Animal Biodiversity and Conservation*, 32: 59–70.
- Egan, A.N., Crandall, K.A. (2006). Theory of Phylogenetic Estimation in Evolutionary Genetics: Concepts and Case Studies. Oxford University Press, Oxford, England, pp. 426-446.
- Ehrlich, P.R., Raven, P.H. (1964). Butterflies and plants: a study in coevolution. *Evolution* 18: 586–608.
- Espíndola, A., Alvarez, N. (2011). Comparative Phylogeography in a Specific and Obligate Pollination Antagonism. *PLoS ONE*, 6(12)
- Espinos, L., Fuentes, C. (2009). Utilization of microsatellites to determine genetic variability of the codling moth *Cydia pomonella* (Lepidoptera: Tortricidae) in Central Chile.
- Evans, B.J., J. Supriatna, N. Andayani y D.J. Melnick. (2003). Diversification of Sulawesi macaque monkeys: decoupled evolution of mitochondrial and autosomal DNA. *Evolution*, 57:1931-1946.

- Excoffier, L. (2004). Patterns of DNA sequence diversity and genetic structure after a range expansion: lessons from the infinite-island model. *Molecular Ecology*, 13:853–64.
- Excoffier L., Foll, M., Petit, R.J. (2009). Genetic consequences of rangeexpansions. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 40: 481–501.
- Excoffier, L., Laval, G., Schneider, S. (2005). Arlequin ver. 3.0: an integrated software package for population genetics data analysis. *Evolution Bioinformatics*, 1:47-50.
- Excoffier, L., Smouse, P.E., Quattro, J.M. (1992). Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: Application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics*, 131, 479-491.
- Feeny, P. (1970) Seasonal changes in oak leaf tannins and nutrients as a cause of spring feeding by winter moth caterpillars. *Ecology*, 51, 565–581.
- Feiler, E., Erez, T., Hurtado, L.A., Markow, T.A. (2007). Genetic differentiation and demographic history in *Drosophila packia* from the Sonoran Desert. *Hereditas*, 00: 00.
- Felsenstein, J. (2004) *Inferring Phylogenies*. Sunderland, MA: Sinauer Associates.
- Felsenstein, J. (1981) "A likelihood approach to character weighting and what it tells us about parsimony and compatibility." *Biol J Linn Soc Lond*, 16: 183-196.
- Ferrier, S. (2002). Mapping spatial pattern in biodiversity for regional conservation planning: where to from here? *Systematic Biology*, 51:331-363.
- Ferrusquía-Villafranca, I. (1993) .Geology of Mexico: A synopsis. En: *Diversidad biológica de México: orígenes y distribución*. (Ramammorthy, T.P, R. Bye, A. Lot, J. Fa, eds). Oxford University Press. New York, Oxford.
- Folmer, O., Black, M. (1994). DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molec. Mar. Biol. Biotech.*, 3: 294-299.

- Fu, Y.X. (1997). Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection. *Genetics*, 147:915–925.
- Fuentes, J.E., Yates, L.R. (1994). Host nutritional value in larval feeding preference of *Ormiscodes socialis* (Feisthammel) (Lepidoptera: Saturniidae) in Chile. *Revista Chilena de Historia Natural*, 67: 27-33.
- Futuyma, D.J., (1998). *Evolutionary Biology*, 3rd ed., Sunderland, MA: Sinauer Associates.
- Galen, C. (1999). Flowers and enemies: predation by nectar-thieving ants in relation to variation in floral form of an alpine wild flower, *Polemonium viscosum*. *Oikos*, 85:426–434.
- García-Moreno, J., Cardoso da Silva, J.M. (1997). An interplay between forest and non-forest South American avifaunas suggested by a phylogeny of *Lepidocolaptes woodcreepers* (Dendrocolaptinae). *Studies in Neotropical Fauna & Environment*, 32: 164-173.
- García, M. B., Ehrlén, J. (2002). Reproductive effort and herbivory timing in a perennial herb: fitness components at the individual and population levels. *American Journal of Botany*, 89:1295–1302.
- Gaut, B., Lewis. (1995). Success of maximum likelihood phylogeny inference in the four-taxon case. *Mol. Biol. Evol.*, 12:152–162.
- Gómez Zurita, J., Petit, P.E. (2000). Nested cladistic analysis, phylogeography and speciation in the *Timarcha goettingensis* complex (Coleoptera: Chrysomelidae). *Molec. Ecol.*, 9: 557-570.
- González, C., Ornelas J.F., Jiménez, J. (2005). Between-year changes in functional gender expression of *Palicourea padifolia* (Rubiaceae), a distylous, humming bird pollinated shrub. *Annals of Botany*, 95: 371–378.

- González, R.A., (1997). Estructura Genética de cinco especies de insectos (Coleoptera: Bruchidae) depredadores de semillas de variedades silvestres y cultivadas de frijo. Facultad de Ciencias Unam. Pag. 93
- Graham, C.H., Hijmans, R.J. (2006). A comparison of methods for mapping species richness. *Global ecology and biogeography*, 15: 578–587.
- Graham, C.H., Ron, S.R., Santos, J.C., Schneider, C.J., Moritz, C. (2004). Integrating phylogenetics and environmental niche models to explore speciation mechanisms in dendrobatid frogs. *Evolution*, 58:1781–1793.
- Grant, W.S., Bowen. B.W. (1998). Shallow population histories in deep evolutionary lineages of marine fishes: Insight from sardines and anchovies and lesson for conservation. *Journal of Heredity*, 89:415-426
- Grimaldi, D.A. (1987). Phylogenetics and taxonomy of *Zygothrica* (Diptera: Drosophilidae). *Bulletin of the American Museum of Natural History*, 186: 103–268.
- Gugerli, F., Gall, R., Meier, F., Wermelinger, B. (2008). Pronounced fluctuations of spruce bark beetle (Scolytinae: *Ips typographus*) populations do not invoke genetic differentiation. *Forest Ecology and Management*, 256: 405–409.
- Gutiérrez-Rodríguez, C., Ornelas, J.F., Rodríguez-Gómez, F. (2011). Chloroplast DNA phylogeography of a distylous shrub (*Palicourea padifolia*, Rubiaceae) reveals past fragmentation and demographic expansion in Mexican cloud forests. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 61 (2011) 603–615
- Hanley, J.A., McNeil, B.J. (1983). A method of comparing the areas under receiver operating characteristic curves derived from the same cases. *Radiology*, 148: 839-843.9
- Hartl, D.L., Clarck. (1989). Principles of population genetics. Sinauer Associates, Inc. EUA.

- Hartl, D.L., Clark, A.G. (1989). Principles of Population Genetics. 2 ed. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts. 682 pp.
- Hasegawa, M., (1995). MOLPHY: Programs for Molecular Phylogenetics, version 2.3. The Institute of Statistical Mathematics, Tokyo.
- Hasegawa, M., Kishino, H., Yano, T. (1985). "Dating of human-ape splitting by a molecular clock of mitochondrial DNA". *Journal of Molecular Evolution*, 22: 160–174.
- Hause, B., Demus, U., Teichmann, C., Parthier, B. and Wasternack, C. (1996) Developmental and tissue-specific expression of JIP-23, a jasmonate-inducible protein of barley. *Plant Cell Physiol.*, 37, 641±649.
- Hayward, A., Stone, G., Comparative phylogeography across two trophic levels: the oak gall wasp *Andricus kollari* and its chalcid parasitoid *Megastigmus stigmatizans*. *Mol. Ecol.* 15:479-489.
- Hebert, D.N., Cywinska, S.L., Waard, J.B. (2003). Biological Identifications through DNA Barcodes. *Proc. R. Soc. Biol. Sci. SerB.*, 270(1512): 313-321.
- Hedrick, P.W. (2003). Conservation biology: The impact of population biology and a current perspective, pp 347-365 .
- Hedrick, P.W. (2005). *Genetics of Populations, 3rd Edition*. Jones & Bartlett, Sudbury, MA.
- Henderson, R. W., Hedges, S. B., (1995). Origin of west Indian population of the geographically widespread *boa* *Corrallus anydris* inferred from mitochondrial DNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 4, 88-92.
- Henning, 1950. Grundzüge einer Theorie der Phylogenetischen Systematik. Deutscher Zentralverlag, Berlin.
- Hernández, A., Ornelas J.F. (2003). Correlación morfo-específica en flores de *Palicourea padifolia* (Rubiaceae). *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, 73: 35–41.

- Hewitt, G.M. (1996). Some genetic consequences of ice ages, and their role in divergence and speciation. *Biology Journal of the Linnean Society*, 58: 247-276.
- Hickerson, M.J., Carstens, B.C. 2009. Phylogeography's past, present, and future: 10 years after. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 45:291-301
- Hijmans, O.J., Cameron, S.E., Parra, J.L., Jones, P.G., Jarvis, A.. (2005). Very high resolution interpolated climate surface for global land areas. *Int J Climatol.*, 25: 1965-1978
- Hochkirch, A., Gorzig, Y. (2009). Colonization and speciation on volcanic island: phylogeography of the flightless grasshopper genus *Arminda* (Orthoptera, Acrididae) on the Canary Island. *Systematic Entomology*, 34, 188-1997.
- Holder, K., Girman, D. (2000). Comparative avian phylogeography of Cameroon and Equatorial Guinea mountains: implications for conservation. *Molecular Ecology*, 9: 1505-1516.
- Holder, M.T., Lewis, P.O. (2003). Phylogeny estimation: Traditional and Bayesian approaches. *Nature Reviews Genetics*, 43:275–284.
- Huelsenbeck, J.P., Ronquist, F., Nielsen, R., Bollback, J.P. (2001). Bayesian inference of phylogeny and its impact on evolutionary biology *Science*, 294:2310-2314.
- Hutchinson, G.E. (1957). Concluding remarks. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology*, 22:415-427.
- Hwang, U.W., Kim, W. (1999). General properties and phylogenetic utilities of nuclear ribosomal DNA and mitochondrial DNA commonly used in molecular systematics. *Korean J Parasitol*, 37:215–228.
- Irwin, D.E. (2002). Phylogeography breaks without geographic barriers to gene flow. *Evolution*, 56: 2383-2394
- Irwin, D.E., Irwin, J.H., Price, T.D. (2001). Ring species as bridges between microevolution and speciation. *Genetic*, 112-113: 223-243

- Irwin, D.M., Kocher, T.D., Wilson, A.C. (1991). Evolution of the Cytochrome b Gene of Mammals. *Journal of Molecular Evolution*, 32:128-144.
- Irwin, R.E., Adler, L.S. (2006). Correlations among traits with herbivore resistance and pollination: implications for multi species plant-animal interactions. *Botany*, 93:64–72.
- Jakob, S.S., Martínez- Meyer, E., Blattner, F.R., (2009). Phylogeographic analyses and paleodistribution modeling indicate pleistocene *in situ* survival of *Hordeum* species (Poaceae) in southern Patagonia without genetic or spatial restriction. *Molecular Biology and Evolution*, 26:907- 923.
- James, A. (2003). Contemporary patterns in a historical context: Phylogeography history of the pipevine swallowtail, *Battus philenor* (PAPILIONIDAE) *Evolution*, 57(5), pp. 1089–1099
- James, A., Sonja, P. (2010). Concordant phylogeography and cryptic speciation in two Western Palearctic oak gall parasitoid species complexes. *Molecular Ecology*, 19, 592–609
- Jesse, H., Mamoudou, S. (2011). Two Separate Introductions of Asian Citrus Psyllid Populations Found in the American Continents. *Annals of the Entomological Society of America*, 104(6): 1392-1398. 2011
- Jost, L. (2008). GST and its relatives do not measure differentiation. *Molecular Ecology*, 17: 4015–4026.
- Juan, C., Emerson, B.C. (2000). Colonization and diversification: towards a phylogeographic synthesis for the Canary Islands. *TREE*, 15: 104-109.
- Jukes, T.H. Cantor, C.R. (1969). *Evolution of Protein Molecules*. New York: Academic Press. pp. 21–132.
- Kaoru, T., Teiji, S. (2011). Geographic variation in oviposition preference for male and female host plants in a geometrid moth: implications for evolution of host choice. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 141: 178–184, 2011

- Keese, M.C. (1997) Does escape to enemy-free space explain host specialization in two closely related leaf-feeding beetles (Coleoptera: Chrysomelidae)? *Ecologia*, 112, 81–86.
- Kimura, M. (1980). "A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences". *Journal of Molecular Evolution*, 16: 111–120.
- Kimura, M. (1981). Estimation of evolutionary distances between homologous nucleotide sequences, *Proc. natn. Acad. Sci. U.S.A.*, 78 (1981), pp. 454–458.
- Kirchman, J.J., Whittingham, L.A., Sheldon, F.H. (2000). Relationships among Cave Swallow populations (*Petrochelidon fulva*) determined by comparisons of micro-satellite and cytochrome b data. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 14(1):107- 121.
- Kitching, I.J., Forey, P.L., Humphries, C.J., Williams, D.M. (1998). Cladistics: The Theory and Practice of Parsimony Analysis. Second Edition. *The Systematics Association Publication No. 11*. Oxford: Oxford University Press.
- Klulodova, M.V. (2009). Comparative Phylogeography: Molecular Methods Ecological Interpretation. *Molecular Biology*, vol. 43, No.5.
- Knowles, L.L., Chan, Y.H. (2008). Resolving species phylogenies of recent evolutionary radiations. *Ann. Missouri Bot. Gard.*, 95:224-231.
- Kremer, A., Kleinschmit, J., Cottrell, J. (2002). Is there a correlation between chloroplast and nuclear divergence, or what are the roles of history and selection on genetic diversity in European oaks? *Forest Ecology and Management*, 156, 75–87.
- Krupnick, GA., Weis, A.E. (1999). The effect of floral herbivory on male and female reproductive success in *Isomeris arborea*. *Ecology*, 80:135–149.
- Kuhner, M.K. (2006). LAMARC 2.0: maximum likelihood and Bayesian estimation of population parameters. *Bioinformatics*, 22:768–770.

- Kühner, S., Noort, V., Betts, M.J., Leo-Macias, A., Batisse, C., Rode, M., Yamada, T., Maier, T., Bader, S., Beltran-Alvarez, P., Castaño-Diez, D., Chen, W., Devos, D., Güell, M., Norambuena, T., Racke, I., Rybin, V., Schmidt, A., Yus, E., Aebersold, R., Herrmann, R., Böttcher, B., Frangakis, A.S., Russell, R.B., Serrano, L., Bork, P., Gavin, A. (2009). Proteome organization in a genome-reduced bacterium. *Science*, 326(5957):1235-1240..
- Lahanas, P.N., Miyamoto, M.M., Bjorndal, K.A., Bolten, A.B. (1994). Molecular evolution and population genetics of Greater Caribbean green turtles (*Chelonia mydas*) as inferred from mitochondrial DNA control region sequences. *Genetics*, 94: 57-66.
- Lanteri, A.A., Confalonieril, V.A. (2003). Filogeografía: objetivos, métodos y ejemplos. Pp. 185-193. En: Llorente Bousquets, J. & J.J. Morrone (eds.). Una perspectiva latinoamericana de la biogeografía. Facultad de Ciencias, UNAM, México.
- Leebenes, J., Pellmyr, O. (1998). Host specificity and the genetic structure of two yucca moth species in yucca hybrid zone. *Evolution*, 52 (5), 1376-1382)
- Leppänen, J., Vepsäläinen, K., Savolainen, R. (2011). Phylogeography of the ant *Myrmica rubra* and its inquiline social parasite. *Ecol Evol.*, 1(1): 46–62.
- Lewin, B. (1994). Genes V. Oxford University Press. USA.
- Librado, P. Rozas, J. (2009). DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics*, 25: 1451-1452
- Lomolino, M.V., Riddle, B.R., Brown, J.H. (2005). Biogeography. In Sinauer Associates 3rd edn. Sunderland, MA: Sinauer Associates
- Lopez, B.G. (2010). Estructura filogeográfica de *Dendroctonus approximatus* (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) en México. Tesis de Licenciatura, UMSNH. Pp 86
- López, D., Jaramillo, C. (2007). Population structure and genetic variability of *Rhodnius prolixus* (Hemiptera: Reduviidae) from different geographic areas of Colombia.

Biomédica, vol. 27, núm. 1, enero, 2007, pp. 28-39 Instituto Nacional de Salud (Colombia)

- Luna, I., Alcántara, O. (2001). Análisis de Simplicidad de Endemismos (PAE) para establecer un modelo de vicarianza preliminar del bosque mesófilo de montaña mexicano. Pp 273-277.
- Lunt, D.H., Whipple L.E., Hyman, B.C. (1998). Mitochondrial DNA variable number tandem repeats (VNTRs): utility and problems in molecular ecology. *Molecular Ecology*, 7:1441-1455.
- Machado, C.A. (2003). The study of structured populations - new hope for a difficult and divided science. *Genetics*, 4: 535-543.
- Malaua, T., Leniaud, J. (2007). Molecular differentiation at nuclear loci in French host races of the European corn borer (*Ostrinia nubilalis*). *Genetic*, 176 (4), 2343-55
- Manfrin, M., Brito, R. (2002). Mitochondrial DNA phylogeography of Brazilian populations of *Drosophila buzzatii*, *Genetics and Molecular Biology*, 25, 2, 161-171.
- Mantel, N.A. (1967). The detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer Research*, 27: 209–220.
- Marshall, C.J., Liebherr, J.K. (2000). Cladistic biogeography of the Mexican transition zone. *Journal of Biogeography*, 27: 203-216.
- Mc Millan, O.W., Bermingham, E. (1996). The phylogeographic pattern of mitochondrial DNA variation in Dall's porpoise *Phocoenoides dalli*. *Molecular Ecology*, 5, 47-61.
- Mendel, R., Aizen, M., Zamora, R. (1999). Ecología y evolución de interacciones planta-animal. Editorial Universitaria. Pp 401.

- Musturangi, M.A., Patton, J.L. (1997). Phylogeography and systematics of the Slender mouse opossum *Marmosops* (Marsupialia, Didelphidae). *University of California Publication in Zoology*, 130, 1-86.
- Navarro-Sigüenza, A. G., Peterson, A.T., Nyari, G., García-Deras, García-Moreno, J. (2008). Phylogeography of the *Buarremon brunneinucha* Brush-finch complex (Aves, Emberizidae) in Mesoamerica. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 47: 21-35.
- Nei, M. (1975). *Molecular Population Genetics and Evolution*. North-Holland Publishing Company: Amsterdam, Oxford.
- Nei, M. (1987). *Molecular Evolutionary Genetics*, Columbia University Press, New York.
- Olesen, J.M. (1979). Differential an the reating by snails in the heterostylous plants species, *Primula elatior* (L.) Hill. *Acta BotanicaNeerlandica*, 28: 519–521.
- Olesen, J.M. (1992). Flower mining by moth larvae vs. pollination by beetles and bees in the cauliflorous *Sapranthus palanga* (Annonaceae) in Costa Rica. *Flora*, 187, 9–15.
- Olsen, K.M. (2002). Population history of *Manihot esculenta* (Euphorbiaceae) inferred from nuclear DNA sequences. *Molecular Ecology*, 11, 901-911.
- Ornelas, J. F., González, L., Jiménez, C., Martínez, A.J. (2004). Reproductive ecology of distylous *Palicourea padifolia* (Rubiaceae) in a tropical montane cloud forest. II. Attracting and rewarding mutualistic and antagonistic visitors. *American Journal of Botany*, 91: 1061–1069.
- Otto-Bliesner, B.L., Marshall, S.J., Overpeck, J.T., Miller, G.H., Hu, A. (2006) Simulating Arctic climate warmth and ice field retreat in the last interglacial. *Science*, 311, 1751–1753.
- Page, R.D., Holmes E.C. (1998). *Molecular evolution a phylogenetic approach*. Blackwell Science. Oxford.

- Perdise, A., Bermingham, E. (2002). Evolutionary history of the genus *Rhamdia* (Teleostei: Pimelodidae) in Central America. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 25, 172-189
- Perry, J.P. (1991). *The pines of Mexico and Central America*. Timber Press. EUA.
- Peterson, A.T. (2001) Predicting species geographic distributions based on ecological niche modeling. *Condor*, 103: 599-605.
- Peterson, A.T. (2003). Projected climate change effects Rocky Mountain and Great Plains birds: generalities of biodiversity consequences. *Global Change Biology*, 9: 647-655.
- Peterson, A.T. (2007). Predicting species distributions from small numbers of occurrence records: a test case using cryptic geckos in Madagascar. *Journal of Biogeography*, 34:102–117.
- Peterson, A.T., Navarro, A.G., Benitez D.H. (1998). The need for continued scientific collecting; a geographic analysis of Mexican bird specimens. *Ibis*, 140, 288-299.
- Peterson, A.T., Nyári, A.S. (2007). Ecological niche conservatism and pleistocene refugia in the Thrush-like Mourner, *Schiffornis* sp., in the neotropics. *Evolution*, 62: 173-183.
- Peterson, A.T., Pereira, R.S., Fonseca de Camargo-Neves, V.L., (2004). Using epidemiological survey data to infer geographic distributions of leishmania vector species. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 37, 10–14.
- Petit, R.J. (2007). Phylogeography of organelle DNA in plants: an introduction. In: Weiss S, Ferrand N, eds. Phylogeography of Southern European Refugia. *Springer*, pp. 23- 97.
- Phillips, S.J., Anderson, R.P., Schapire, R.E. (2006). Maximum entropy modeling of species geographic distributions. *Ecological Modelling*, 190: 231-259.

- Polziehn, R.O., Strobeck, C. (1998). Phylogeny of Wapiti, red deer, sika deer, and other North American Cervids as determined from mitochondrial DNA. *Mol. Phylogenet. Evol.*, 10: 249-258.
- Porretta, D., Canestrelli., Urbanelli, S. (2011). Southern crossroads of the Western Palaearctic during the Late Pleistocene and their imprints on current patterns of genetic diversity: insights from the mosquito *Aedes caspius*. *Journal of Biogeography*, 38, 20–30.
- Posada, D., Crandall, K.A. (2001). Selecting the best-fit model of nucleotide substitution. *Systematic Biology*, 50: 580-601.
- Qiagen. Tissue Protocol (QIAamp DNA Mini Kit only) pp (33-36)
- Rand, D.M. (2001). The units of selection on mitochondrial DNA. *En Annual Reviews of Ecology and Systematics*, vol. 32: pp 415-448.
- Rausher, M.O. (1984). Tradeoffs in performance on different host; evidence from within- and- between- site variation in beetle *Deloyala guttata*. *Evolution*, 31: 837-889.
- Raxworthy, C.J. (2003). Predicting distributions of known and unknown reptile species in Madagascar. *Nature*, 426: 837-841.
- Razo-Mendivil U., Vázquez-Domínguez E., Rosas-Valdez R., Pérez-Ponce de León, G, Nadler, S.A. (2010). Phylogenetic analysis of nuclear and mitochondrial DNA reveals a complex of cryptic species in *Crassicutis cichlasomae* (Digenea: Apocreadiidae), a parasite of middle-America cichlids. *International Journal for Parasitology*, 40: 471–486.
- Ree, R.H. (1997). Pollen flow, fecundity, and the adaptive significance of heterostyly in *Palicourea padifolia* (Rubiaceae). *Biotropica*, 29: 298–308.
- Richards, L., Knowles, L.L. (2007). Distribution modelling and statistical phylogeography: An integrative framework for generating and testing alternative biogeographical hypotheses. *Journal of Biogeography*, 34: 1833-1845.

- Riddle, B.R., Hafner, D.J., Alexander, L.F. (2000). Comparative phylogeography of Baileys' pocket mouse (*Chaetodipus baileyi*) and the *Peromyscus eremicus* species group: historical vicariance of the Baja California Peninsular Desert. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 17, 161–172.
- Riddle, B.R., Hafner, DJ., Alexander, L.F., Jaeger, J.R. (2000). Cryptic vicariance in the historical assembly of a Baja California Peninsular Desert biota. *PNAS*, 97(26), 14438-14443.
- Rodriguez, J. (1990). The General Stochastic Model of Nucleotide Substitution. *J. theor. Biol*, 142, 485-501.
- Rogers, A.R., Harpending, H. (1992). Population growth makes waves in the distribution of pairwise genetic differences. *Molecular Biology and Evolution*, 9:552-569.
- Rozas J., Sánchez-Del Barrio J.C., Messeguer, X., Rozas, R. (2003). DNAsp, DNA polymorphism analyses by the coalescent and other methods. *Bioinformatics*, 19:2496-2497.
- Ruiz E. A., Rinehart, J.E., Hayes, J.L., Zúñiga, G. (2009). Effect of geographic isolation on genetic differentiation in *Dendroctonus pseudotsugae* (Coleoptera: Curculionidae). *Hereditas*, 146:79-92.
- Ryan M.J., Randa, A.S. (1996). Allozyme and advertisement call variation in the tungara frog, *Physalaemus pustulosus*. *Evolution* 50, 2435-2453.
- Rzedowski, J. (1978). Vegetación de México, Editorial Limusa. México D.F 432 pp.
- Salinas, H. (2010). Identificación de haplotipos de *Spodoptera frugiperda* en algunas poblaciones de Colombia para el estudio del comportamiento migratorio de la especie. Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín. Facultad de Ciencias.
- Sánchez-González, L. A., A. G. Navarro-Sigüenza, A. T. Peterson, & J. García-Moreno. (2007). Taxonomy of *Chlorospingus ophthalmicus* in México and northern Central America. *British Ornithologist's*, 127: 34-49.

- Saraste, M. (1990). Structural features of cytochrome oxidase. *Q Rev Biophys*, 23:331-366.
- Scataglioni, M.A., Lanteri, A.A., Confalonieri, V.A., (2006). Diversity of boll weevil population in South America: a phylogeographic approach. *Genetica*, 126: 353-362.
- Schaal, B.A., Hayworth, D.A., Olsen, K.M., Rauscher, J.T., Smith, W.A., (1998). Phylogeographic studies in plants: problems and prospects. *Mol. Ecol*, 7, 465–474.
- Schneider, S., Roessli, D., Excoffier, L. (2000). Arlequin: a software for population genetics data analysis. User manual ver 2.000. Genetics and Biometry Lab, Dept. of Anthropology, University of Geneva, Geneva.
- Sequeira, A.S., Sijapati, M., Lanteri, A.A., Roque, A.L. (2008). Nuclear and mitochondrial sequences confirm complex colonization patterns and clear species boundaries for flightless weevils in the Galápagos archipelago. *Philos. T. Roy. Soc. Lond. B*, 363: 3439-3451.
- Seutin, G., Brawn, J., Ricklefs, R., Bermingham, E. 1993. Genetic divergence among populations of a tropical passerine, the streaked saltator (*Saltator albicollis*). *The Auk* 110, 117-126.
- Simonsen, K.L., Churchill, G.A., Aquadro, C.F. (1995). Properties of statistical tests of neutrality for DNA polymorphism data. *Genetics*, 141:413-429.
- Slatkin, M. (1987). Gene flow and the geographic structure of natural populations. *Science*, 236: 787-792.
- Steven, J.P., Robert, P. (2006). Shapire, Maximum entropy modeling of species geographic distributions. *Ecological Modelling*, Vol 190/3-4 pp 231-259.
- Stockwell, D.R., Peters, D. (1999). The GARP Modeling System: problems and solutions to automated spatial prediction. *International Journal of Geographical Information Science*, 13:2 143-158.

- Strauss, S.Y. (1997). Floral characters link herbivores, pollinators, and plant fitness. *Ecology*, 78:1640-1645.
- Strauss, S.Y., Irwin R.E. (2002). Direct and ecological costs of resistance to herbivory. *Trends in Ecology and Evolution* 17: 278-285.
- Strauss, S.Y., Irwin R.E., V. M. Lambrix V.M., (2004). Optimal defence theory and flower petal colour predict variation in the secondary chemistry of wild radish. *Journal of Ecology*, 92:132-14.
- Swofford, D. L. (2000). PAUP*. Phylogenetic Analysis Using Parsimony (*and Other Methods). Version 4. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.
- Tajima, F. (1989). Statistical testing for the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics*, 123:585-595.
- Tamura, K., Nei, M. (1993). "Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees". *Molecular Biology and Evolution*, 10 (3): 512–526.
- Tautz, D., Arctander, P., Minelli, A., Thomas, R.H., Vogler, A.P.(2003). A Plea for DNA Taxonomy. *Trends Ecol Evol*, 18(2): 70-74.
- Taylor, C.M. (1989). Revision of *Palicourea* (Rubiaceae) in Mexico and Central America. *Systematic Botanical Monographs*, 26: 1–102.
- Templeton, A. R. (2003). Human races in the context of recent human evolution: a molecular genetic perspective. In: Genetic Nature/Culture. A. H. Goodman, D. Heath and M. S. Lindee, eds. Pp. 234-257. University of California Press, Berkeley.
- Templeton, T.J. (1995). Separating population structure from population history: A cladistic analysis of the geographical distribution of mitochondrial DNA haplotypes in the Tiger Salamander, *Ambystoma tigrinum*. *Genetics*, 140: 767-782.

- Templeton, T.J., Iyer, L.M., Anantharaman, V., Enomoto, S., Abrahante, J.E., Subramanian, G., Hoffman, S.L., Abrahamsen, M.S., Aravind, L. (2004) Comparative analysis of apicomplexa and genomic diversity in eukaryotes. *Genome Research*. 14:1686-1695.
- Thompson, J.N., Cunningham, B.M. (2002). Geographic structure and dynamics of coevolutionary selection. *Nature*, 417: 735 – 738.
- Toju, H., Sota, T. (2006). Phylogeography and the geographic line in their mament of a seed-predatory weevil: effects of historical events vs. natural selection from the host plant. *Mol. Ecol.*, 15:4161-4173.
- Toledo, V. (1982). Pleistocene changes of vegetation in tropical Mexico. In Biological diversication in the tropics, G. T. Prance (ed.). Proceedings of the Internacional Symposium of the Association for Tropical Biology. Columbia University Press, New York. p. 93-111.
- Turmelle, A.S., Kunz, T.H., Sorenson, M.D. (2010). A tale of two genomes: contrasting patterns of phylogeographic structure in a widely distributed bat. *Molecular Ecology*, 20, 357-375.
- Vandergast, A.G., Bohonak, A.J., Weissman, D.B. (2007). Understanding the genetic effects of recent habitat fragmentation in the context of evolutionary history: phylogeography and landscape genetics of a southern California endemic *Jerusalem cricket*. *Molecular Ecology*, 16:977-992.
- Vázquez-Domínguez E., Castañeda-Rico, S., Garrido-Garduño, T., Gutiérrez- García, T.A. (2009). Methodological advances for the combined study of genetic, genealogical and geographical information in evolutionary and distributional analyses. *Revista Chilena de Historia Natural*, 82: 277–297.
- Vazquez, A. (2009)“Finding hypergraph communities: a Bayesian approach and variational solution” *Journal of Statistical Mechanics: Theory and Experiment*.

- Wackers, F.L., Bonifay, C. (2004). How to be sweet? Extra floral nectar allocation by *Gossypium hirsutum* fits optimal defense theory predictions. *Ecology* 85, 1512–1518.
- Waltari, E., Guralnick, R.P. (2009). Ecological niche modeling of montane mammals in the Great Basin, North America: examining past and present connectivity of species across basins and ranges. *Journal of Biogeography*. 36:148-161.
- Washitani, I., Okayama, Y., Sato, K., Takahashi, H. Ohgushi, T. (1996). Spatial variation in female fertility related to interactions with flower consumers and pathogens in a forest metapopulation of *Primula sieboldii*. *Researches on Population Ecology*, 38:249-256.
- Wei, D., Jingjing, W.U., Dou, W. (2012). Comparative population genetics of *Liposcelis bostrychophila* and *L. entomophila*, from China inferred by analysis of the mitochondrial Cytb Gene. *Agronomy*.
- Weir, B.S., Cockerham, C.C. (1984). Estimating F-Statistics for the analysis of population structure. *Evolution*, 38: 1358–1370.
- Wen-Bin, Y., Yu-Ling, C. (2004). Genetic differentiation of *Loxoblemmus appendicularis* complex (Orthoptera: Gryllidae): speciation through vicariant and glaciation events. *Annals of the Entomological Society of America* 97, 613-623.
- Wilcox, T.P., Hugg, L. (1997). Mitochondrial DNA sequencing reveals extreme genetic differentiation in a cryptic species complex of neotropical pseudoscorpions. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 7, 208-216.
- Wright, S. 1951. The genetical structure of populations. *Annals of Eugenics*, 15: 323-254.
- Wright, S.J. (1999). Human embryonic stem-cell research: Science and ethics. *American Scientist*, 87:352-361.

- Yang, Z. (1993). Maximum likelihood estimation of phylogeny from DNA sequences when substitution rates differ over sites. *Molecular Biology and Evolution*, 10:1396-1401.
- Zangerl, A.R., Berenbaum, M.R. (2005). Increase in toxicity of an invasive weed after reassociation with its coevolved herbivore. *Proc. Nat. Acad.Sci* 102:15529-15132.
- Zeh, D.W., Zeh, J.A., Bonilla, M. (2003). Phylogeography of the giant harlequin beetle (*Acronicius longimanus*). *Journal of Biogeography*, 30, 747-753.
- Zink, R.M. (1994). The geography of mitochondrial DNA variation, population structure, hybridisation, and species limits in the Fox Sparrow (*Passerella iliaca*). *Evolution* 48: 96-111.
- Zink, R.M. (1996). Comparative phylogeography in North American birds. *Evolution*, 50: 308–317.
- Zink, R.M., Dittmann, D.L. (1993). Gene flow, refugia, and evolution of geographic variation in the song sparrow (*Melospiza melodia*). *Evolution*, **47**, 717–729.
- Zuckerandl, E., Pauling, L. (1964). Molecules as documents of evolutionary history. In: Problems of evolutionary and technical biochemistry. Science Press, Academy of Sciences of the USSR, pp 54-62 (in Russian); republished in English (1965a), *J Theor Biol* 8:357-366.

GLOSARIO

Adecuación: Es el éxito reproductivo y de supervivencia de un genotipo dentro de una población. Es decir, la cantidad promedio de descendientes que deja un genotipo para una característica determinada.

ADN mitochondrial: Genoma existente en el interior de las mitocondrias formado por un cromosoma circular de ADN que está en número variable de copias según el tejido.

Alopátrica: La especiación alopátrica (Allo = otro, patria = lugar en el que se ha nacido) resulta del aislamiento provocado por una barrera física que separa y divide a una población original en dos o más poblaciones impidiendo el flujo de alelos entre ellas, con el tiempo, evolucionar con características diferentes de la población parental, debido a la acumulación de mutaciones y a la selección natural.

Análisis de Varianza Molecular (AMOVA): El análisis de la varianza molecular es un método para estudiar la variación molecular dentro de una especie.

AUC: Mide la capacidad del modelo de discriminar entre sitios donde la especie está presente, versus donde está ausente. El AUC tiene valores entre 0 y 1, en donde un valor de 1 indica discriminación perfecta, un valor de 0,5 implica que la discriminación predictiva entre sitios no es mejor que una selección al azar, y un valor menor a 0,5 indica un desempeño inferior que el azar.

Coalescencia: Todos los alelos de un gen en una generación derivan (o “coalescen” hacia) un único alelo ancestral.

Código Genético: Código cifrado por la disposición de nucleótidos en la cadena polinucleótida de un cromosoma que rige la expresión de la información genética en proteínas, es decir, la sucesión de aminoácidos en la cadena polipeptídica. La información sobre todas las características determinadas genéticamente en los seres vivos genética está almacenada en el ADN y cifrada mediante las 4 bases nitrogenadas. Cada sucesión adyacente de tres bases (codón) rige la inserción de un aminoácido específico. En el ARN la timina es sustituida por uracilo. La

información se transmite de una generación a otra mediante la producción de réplicas exactas del código.

Codón: secuencia de tres nucleótidos consecutivos en un gen o molécula de ARN_m determinada por sus bases nitrogenadas, que especificará la posición de un aminoácido en una proteína.

Comensalismo: Es la interacción simbiótica en la que uno de los organismos se beneficia sin perjuicio del otro.

Convergencia: Es la evolución independiente de una característica similar en dos o más linajes.

Cuellos de botella: A gran escala, pero a corto plazo, reducción del tamaño de la población seguida de un aumento de dicho tamaño.

Deriva genética: Es un cambio impredecible en la frecuencia alélica que se produce en poblaciones pequeñas.

Diferenciación genética *Fst*: El estadístico *Fst* mide el grado de diferenciación genética entre las poblaciones, es decir, que tan diferentes o parecidas son las poblaciones que estás estudiando desde el punto de vista genético. Los valores son los siguientes: 0 a 0.05 indica poca diferenciación genética, 0.05 a 0.15 indica moderada diferenciación genética, 0.15 a 0.25 indica gran diferenciación genética.

Diploide: Una dotación completa de material genético, que consta de pares de cromosomas, cada uno proveniente de un progenitor. La mayoría de las células animales, excepto el gameto, tienen una dotación diploide de cromosomas.

Distancia genética: El grado de afinidad entre subgrupos o poblaciones estimado mediante diversos estadísticos.

Divergencia: Cuando dos o más especies descendientes de antecesores comunes son muy diferentes entre sí por adaptación a distintos medios

Diversidad de nucleótidos (π): el número promedio de diferencias entre todos los pares de haplotipos.

Diversidad genética: Es la variación en la composición genética de los individuos dentro de la especie o entre especies diferentes; es la variación genética hereditaria dentro de las poblaciones y entre ellas.

Diversidad haplotípica: Se define como el número promedio de las diferencias nucleotídicas o sustituciones por sitio para un grupo de secuencias de ADN (alelos) muestreadas de una población. Este índice determina la diversidad genética a nivel de nucleótidos, por medio de las diferencias entre secuencias de haplotipos, estimando la probabilidad de que dos nucleótidos homólogos de posición escogidos al azar sean diferentes.

Endogamia: El apareamiento de individuos genéticamente relacionados entre sí. El apareamiento entre parientes. El mejoramiento a través de una sucesión de progenitores que pertenecen al mismo patrón.

Enzimas: catalizador biológico, normalmente una proteína, que mediatiza y promueve un proceso químico sin ser ella misma alterada o destruida. Son catalizadores extremadamente eficientes y muy específicamente vinculados a reacciones particulares.

Equilibrio de Hardy-Weinberg: La distribución estable de frecuencias de genotipos, AA, Aa y aa, en las proporciones p^2 , $2pq$ y q^2 , respectivamente (donde p y q son las frecuencias de los alelos, A y a), que es una consecuencia del apareamiento al azar en ausencia de mutación, migración, selección natural o deriva al azar.

Especiación: Es el proceso mediante el cual una población de una determinada especie da lugar a otra u otras poblaciones, aisladas reproductivamente entre sí y con respecto a la población original.

Estigma: Parte viscosa situada en el ápice de los carpelos, que permite la fijación del polen para la posterior fecundación del óvulo.

Estructura genética: Es la variación genética o cambian las frecuencias alélicas de una población a otra.

Eucariotas: Son las células que presentan un núcleo diferenciado, protegido por una membrana y con citoplasma organizado. También se conoce como eucariota al organismo constituido por este tipo de célula. Las células eucariotas tienen su información genética encerrada dentro de la envoltura nuclear.

Fenotipo: Todos aquellos rasgos particulares y genéticamente heredados de cualquier organismo que lo hacen único e irreplicable en su clase. El fenotipo se refiere principalmente a elementos físicos y morfológicos tales como el color de cabello, el tipo de piel, el color de ojos, etc.

Filogenia: Es el patrón jerárquico que presentan los seres vivos como resultado de la evolución.

Flujo génico: Intercambio de material genético entre poblaciones diferentes. Puede usarse en el sentido de la reproducción de plantas (es decir, debido a la dispersión de gametos y cigotos) o debido a la influencia del hombre, como la introducción de nuevas variedades de cultivos por parte de los agricultores.

Gametos: Célula germinal madura, funcional que contiene el número haploide de cromosomas de la célula somática. Los gametos provenientes de sexos opuestos (óvulo y espermatozoide) se fusionan para formar el cigoto.

Gen: Unidad básica, tanto física como funcional, de la herencia, que transmite información de una generación a la siguiente. Es un segmento de ADN que incluye una sección transcrita y un elemento regulador que permite su transcripción.

Genotipo: Es la totalidad de la información genética que posee un organismo en particular, en forma de ADN. De otro modo, el genotipo puede definirse como el conjunto de genes de un organismo y el fenotipo como el conjunto de rasgos de un organismo.

h: La probabilidad de que dos haplotipos escogidos al azar sean diferentes

Haploide: Una dotación sencilla de cromosomas (la mitad de la serie completa de material genético) presente en cada óvulo y célula espermática de los animales y en cada óvulo y célula polínica de las plantas.

Haplotipo: Constitución alélica específica de cierto número de loci en un bloque de ligamiento definido.

Herencia citoplasmática: Herencia de los caracteres que se encuentran en el material genético de las mitocondrias y de los cloroplastos. Se opone a herencia mendeliana o cromosómica.

Heterocigoto: Un individuo diploide que tiene diferentes alelos en uno o varios loci genéticos.

Homocigoto: Un individuo diploide que tiene alelos idénticos en uno o varios loci genéticos.

Homólogo: Es la similitud en base a en la misma estructura ancestral.

Homoplasia: Es la similitud no homóloga, también llamada analogía, es decir lo que parece pero no proviene del mismo ancestro.

Índice de Consistencia: Mide el grado de homoplasia, el valor va de 0 a 1.

Índice de Retención: Mide la homoplasia observada en función de la homoplasia posible, el valor va de 0 a 1.

Intraespecífica: Es la interacción biológica en la que los organismos que intervienen pertenecen a la misma especie, este tipo de relación sólo se presenta en una población.

Isoenzima: Formas múltiples de una enzima cuya síntesis es controlada por más de un gen.

Locus (pl. loci): Sitio específico de un cromosoma donde está localizado un gen o un trozo definido de ADN.

Macroevolución: Grandes cambios evolutivos, normalmente morfológicos; con frecuencia hace referencia a la evolución de diferencias entre la población que garantizarán su localización en diferentes géneros o taxones superiores.

Marcador molecular: Fragmentos específicos de ADN que pueden ser identificados en todo el genoma.

Máxima verosimilitud: En inferencia filogenética, un método para elegir el mejor árbol de entre varios posibles. Al usar la máxima verosimilitud, el investigador se pregunta sobre la mayor o menor probabilidad de un árbol concreto, dado un conjunto particular de datos y un modelo especificado de cambio de carácter.

Microevolución: Es la ocurrencia de cambios a pequeña escala en las frecuencias alélicas de una población, a lo largo de unas pocas generaciones.

Migración: El movimiento de individuos entre poblaciones que, en otras circunstancias, están reproductivamente aisladas.

Monofilético: En filogenia, un grupo es monofilético si todos los organismos incluidos en él han evolucionado a partir de una población ancestral común, y todos los descendientes de ese ancestro están incluidos en el grupo.

Mutación: Término para describir un cambio abrupto del fenotipo que se hereda. Cualquier alteración permanente y heredable en la secuencia de ADN. Los tipos de mutaciones incluyen mutaciones puntuales, deleciones, inserciones y alteraciones en el número y la estructura de los cromosomas.

Mutualismo: Una interacción entre dos individuos, normalmente de distintas especies, en las que ambos se benefician.

Nicho ecológico: Es el conjunto de condiciones ecológicas dentro de las cuales una especie es capaz de mantener sus poblaciones viables.

Parsimonia: Un criterio para elegir entre patrones o explicaciones alternativas , basado en la minimización de la cantidad total de cambios o de la complejidad.

Pirimidina: Un compuesto básico nitrogenado, de un solo anillo, que está presente en los ácidos nucleicos. Las pirimidinas del ADN son citosina y timina. Las pirimidinas del ARN son citosina y uracilo.

Población: En genética, es un grupo de individuos que comparten un acervo genético común y tienen el potencial para cruzarse entre sí.

Polimorfismo: Aparición de diferentes formas asociadas con diversos alelos de un gen o con homólogos de un cromosoma.

Purina: Un compuesto básico nitrogenado, de dos anillos, que está presente en los ácidos nucleicos. Las purinas del ADN y del ARN son adenina y guanina.

RAPD: Polimorfismo del ADN amplificado al azar. Técnica que amplifica tramos anónimos de ADN, empleando la PCR con cebadores arbitrarios.

Reacción en cadena de polimerasa (PCR): Técnica de análisis del genoma mediante la amplificación ilimitada de porciones específicas del ADN, aunque sean minúsculas. Es un método revolucionario de amplificación exponencial del ADN por la intervención de una enzima termoestable, la Taq polimerasa.

Redes: Conexiones entre haplotipos dadas por el mínimo número posible de mutaciones entre ellos.

Refugios pleistocénicos: Modelo biogeográfico que intenta explicar la gran diversidad de organismos en Sudamérica. Propone escenarios cíclicos de cambios climáticos que originan períodos fríos y secos o calientes y húmedos. Se basa principalmente en evidencias provenientes de aves.

Reloj molecular: En base de la idea que las secuencias de la DNA se desarrollen a las tarifas áspero constantes, la desemejanza de dos secuencias se puede utilizar para calcular la cantidad de tiempo que ha pasado desde que divergieron. Los relojes

moleculares se incorporan en análisis filogenéticos y están calibrados con datos del expediente del fósil o con índices de cambio molecular.

RFLP: Polimorfismo de longitud de los fragmentos de restricción. La variación entre los individuos se detecta por las diferencias en los tamaños de los fragmentos de ADN después de la digestión con una enzima de restricción.

Secuencia de ADN: Orden de encadenamiento de las bases nitrogenadas de los nucleótidos que constituyen el ADN y que cifra toda la información genética. Cuando es codificante (exón), define el orden de los aminoácidos que forman la proteína correspondiente.

Selección natural: Una diferencia, en promedio, entre la supervivencia y la fecundidad o fecundidad de los individuos con cierto fenotipo en comparación con individuos de otros fenotipos.

Simpátrico: Que se encuentra en la misma zona geográfica.

Simplesiomórficos Son rasgos más primitivos heredados de un ancestro más remoto que el ancestro común, sin embargo, estos caracteres son irrelevantes para el cladismo.

Topología: En las filogenias es la forma en que se ramifica un árbol.

Transiciones: Substituciones de una purina por una purina y de pirimidinas a pirimidinas.

Tranversiones: Son los cambios de purinas por pirimidinas y de pirimidinas a purinas (AC/GT) y (AT/CG).

Trófica: Es el proceso de transferencia de energía alimenticia a través de una serie de organismos, en el que cada uno se alimenta del precedente y es alimento del siguiente. También conocida como cadena alimentaria, es la corriente de energía y nutrientes que se establece entre las distintas especies de un ecosistema en relación con su nutrición.

Variación genética: Diferencias entre los individuos de una población que se debe a las diferencias en los genotipos.

Vicarianza: División del rango de una población en dos o más fragmentos.

Apéndice 1. Parámetros utilizados por el programa BIOCLIM para generar los modelos bioclimáticos.

Parámetros

1. Temperatura promedio anual (C°)
 2. Oscilación diurna de la temperatura (C°)
 3. Isothermalidad (C°) (cociente entre parámetros 2 y 7)
 4. Estacionalidad de la temperatura (coeficiente de variación en %)
 5. Temperatura máxima promedio del periodo más cálido (C°)
 6. Temperatura mínimo promedio del periodo más frío (C°)
 7. Oscilación anual de la temperatura (cociente entre parámetros 5 y 6)
 8. Temperatura promedio del cuatrimestre más lluvioso (C°)
 9. Temperatura promedio del cuatrimestre más seco (C°)
 10. Temperatura promedio del cuatrimestre más cálido (C°)
 11. Temperatura promedio del cuatrimestre más frío (C°)
 12. Precipitación anual (mm)
 13. Precipitación del periodo más lluvioso
 14. Precipitación del periodo más seco
 15. Estacionalidad de la precipitación (coeficiente de variación en %)
 16. Precipitación del cuatrimestre más lluvioso (mm)
 17. Precipitación del cuatrimestre más seco (mm)
 18. Precipitación del cuatrimestre más cálido (mm)
-

19.Precipitación del cuatrimestre más frío (mm)
