



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE
QUERÉTARO**

Facultad de Ciencias Naturales

Filogeografía de *Draba nivicola* Rose y *Draba
jorullensis* Kunth (Brassicaceae) en islas alpinas de la
Faja Volcánica Transversal Mexicana.

Tesis

Que como parte de los requisitos para obtener el Grado de:
Maestra en Ciencias Biológicas

Presenta

Biól. Beatriz Araceli Velázquez Sierra
Exp.: 153108

Dirigido por
Dr. Luis Gerardo Hernández Sandoval.

Querétaro, Qro., a julio de 2021.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

Maestría en Ciencias Biológicas

Filogeografía de *Draba nivicola* Rose y *Draba jorullensis* Kunth (Brassicaceae) en islas alpinas de la Faja Volcánica Transversal Mexicana.

Tesis

Que como parte de los requisitos para obtener el Grado de Maestra en Ciencias Biológicas.

Presenta

Biól. Beatriz Araceli Velázquez Sierra
Exp.: 153108

Dirigido por

Dr. Luis Gerardo Hernández Sandoval

Sinodales

Firma

Dr. Luis Gerardo Hernández Sandoval
Presidente

Dr. Victor W. Steinmann
Secretario

Dra. Mahinda Martínez y Díaz de Salas
Vocal

Dra. Magdalena Salinas Rodríguez
Suplente

Dra. Pilar Zamora Tavares
Suplente

Centro Universitario, Querétaro, Qro.
Octubre 2021
México

Dirección General de Bibliotecas UAQ

A la Santa Trinidad de Juanes

A Juan Malda

A Juan Riesgo

A Juan, porque no me alcancé a despedir y siempre creíste en mí.

Agradecimientos

Al CONACYT por haberme dado la oportunidad de ser una de las becarias en los años 2019-2021, a pesar de los recortes anuales del presupuesto destinado a la ciencia.

A mi director y asesores, quiénes siempre han creído en mí y le han apostado a mi educación, gracias por los consejos, asesorías, regaños, trabajos y palabras.

A la Universidad de Guadalajara (UdG), especialmente a la Dra. Pilar Zamora Tavares por aceptarme en el Laboratorio Nacional de Investigación e Identificación de especies Vegetales (Laniveg), fue un gran aprendizaje y también tengo que agradecer a Omar Enriquez por su apoyo, al M. en C. Marco Antonio Anguiano por ser un guía importante en el estado de Jalisco.

Quiero agradecer infinitamente a Victor W. Steinmann por sus observaciones e ideas y a la Dra. Yocupitzia Ramírez Amezcua por prestarme las muestras de *Draba nivicola* de dos localidades.

Gracias al Dr. Cristóbal Sánchez-Sánchez por el apoyo botánico en las salidas a Tlálloc y Telapón, y por haber contactado al señor guía y mejor honguero de la región Don Jaime Vivar de la Rosa, alias El Truquini, de San Pablo Ixayoc.

A la M. en C. Ana Lucía Tovar por su ayuda con las fotografías del microscopio electrónico de barrido.

A la Dra. Mané Salinas por los enormes ánimos, ayuda y por ser la conductora designada de algunas salidas de campo fallidas. A Clarisa de Hoyos por su apoyo en campo y en el herbario.

A Idea Wild Idea por su apoyo con equipo para trabajar en campo (it's a pity that a pandemia got in the middle of everyone's life).

Al Dr. Eduardo Ruiz por dejarme asistir al curso de Filogeografía dentro de la UdG.

A Isabel Moreno y Jairo Ortiz por darme asilo durante la estancia en la UdG.

A Orlando, goni, tener tu apoyo siempre me hace sentir la mujer más poderosa.

Especialmente, le debo toda la tesis a Aleksandra Elbakyan, la mujer del año y del siglo, gracias a ella es posible obtener información gratis, gracias por creer que el conocimiento no debe ser objeto de lucro. Большое спасибо. Viva Marx. Viva la 4T.

Índice general

Contenido	Página
I. Introducción	1
II. Antecedentes	3
Vegetación alpina del centro de México.....	3
Filogeografía en Brassicaceae y generalidades <i>Draba</i>	4
Historia de la FVTM.....	9
Diversidad y estructura genética.....	13
Justificación.....	17
III. Hipótesis	17
IV. Objetivos	18
Objetivo general.....	18
Objetivos particulares.....	18
V. Materiales y Métodos	18
Consideraciones bioéticas.....	18
Trabajo de campo y laboratorio.....	19
Análisis de datos.....	24
Descripción y análisis de caracteres morfológicos.....	28
VI. Resultados	29
1. Historia evolutiva de las poblaciones de ambas especies.....	29
Pruebas de neutralidad.....	31
Flujo genético.....	31
Historia evolutiva de las poblaciones de <i>Draba</i> en la FVTM.....	33
Índices de diversidad genética y estructura geográfica.....	35
2. Historia genealógica mediante IB.....	49
Historia demográfica de las poblaciones de <i>Draba</i> en la FVTM.....	55
3. Descripción y análisis de caracteres morfológicos.....	59
VII. Discusión	68
1. Historia evolutiva a través de la estructura genética.....	68
2. Patrón biogeográfico de las especies de <i>Draba</i> en la FVTM.....	71
VIII. Conclusiones	73
IX. Referencias	75
X. Apéndice	84

Índice de cuadros

Cuadro	Página
1. Resumen de las edades de algunos de los edificios volcánicos más altos de México.....	12
2. Características de los cebadores de los marcadores usados en este trabajo.....	23
3. Parámetros para la IB y modelo evolutivo por marcador.....	27
4. Resumen de los estadísticos clásicos del análisis de polimorfismos de ambas especies.....	33
5. Flujo genético de cada especie y sus poblaciones.....	34
6. Análisis molecular de varianza (AMOVA) de <i>Draba nivicola</i> de los marcadores: <i>ITS</i> , <i>trnL-trnS-trnG</i> y <i>matK-trnK</i>	46
6.1 AMOVA de <i>ITS</i>	46
6.2 AMOVA de <i>trnL-trnS-trnG</i>	46
6.3 AMOVA de <i>matK-trnK</i>	46
7. Análisis Molecular de Varianza (AMOVA) de los marcadores <i>ITS</i> , <i>trnS-trnG</i> y <i>matK-trnK</i> de <i>Draba jorullensis</i>	47
7.1 AMOVA de <i>ITS</i>	47
7.2 AMOVA de <i>trnS-trnG</i>	47
7.3 AMOVA de <i>matK-trnK</i>	47
8. Índices de fijación de ambas especies.....	48
9. Valores de F_{ST} para <i>D. nivicola</i> y <i>D. jorullensis</i> por población obtenidos en Arlequin.....	48

Índice de figuras

Figura	Página
1. Mapa de distribución de las diferentes especies de <i>Draba</i> presentes en México (Elaboración propia).....	7
2. Fotografía de <i>Draba jorullensis</i> con flor y <i>Draba nivicola</i> con frutos inmaduros y asociada a <i>Plantago toluensis</i>	9
3. Mapa sitios muestreados de <i>Draba jorullensis</i> y <i>D. nivicola</i> hechas durante febrero – julio 2020, en la parte centro-oriental de la FVTM.....	20
4. Red de ribotipos de <i>Draba nivicola</i> y distribución de las proporciones de estos en en el mapa.....	39
5. Red de ribotipos de <i>Draba jorullensis</i> y distribución de las proporciones de estos en el mapa.....	40
6. Redes de haplotipos de <i>Draba jorullensis</i> y <i>Draba nivicola</i> del marcador <i>trnL</i> y distribución de las proporciones de estos en en el mapa.....	41
7. Red de haplotipos de <i>Draba nivicola</i> del marcador <i>trnS-trnG</i> y distribución de las proporciones de estos en en el mapa.....	42
8. Red de haplotipos de <i>Draba jorullensis</i> del marcador <i>trnS-trnG</i> y distribución de las proporciones de estos en en el mapa.....	43
9. Red de haplotipos de <i>Draba nivicola</i> del marcador <i>matK-trnK</i> y distribución de las proporciones de estos en en el mapa.....	44
10. Red de haplotipos de <i>Draba jorullensis</i> del marcador <i>matK-trnK</i> y distribución de las proporciones de estos en en el mapa.....	45
11. Relaciones genealógicas establecidas por el marcador nuclear <i>ITS</i> de ambas especies en el programa MrBayes.....	51
12. Relaciones genealógicas establecidas por el marcador de cloroplasto <i>trnL</i> (sección C-D) de ambas especies en el programa MrBayes.....	52
13. Relaciones genealógicas establecidas por el marcador de cloroplasto <i>trnS-trnG</i> de ambas especies en el programa MrBayes.....	53
14. Relaciones genealógicas establecidas por el marcador de cloroplasto <i>matK-trnK</i> de ambas especies en el programa MrBayes.....	54

15. Gráficos de 'skyline' generados con el marcador nuclear ITS.....	56
16. Gráficos de 'skyline' generados con el marcador de cloroplasto <i>trnS-trnG</i>	57
17. Gráficos de 'skyline' generados con el marcador de cloroplasto <i>matK-trnK</i>	58
18. Hojas de <i>Draba nivicola</i> al microscopio óptico.....	60
19. Hojas de <i>Draba jorullensis</i> al microscopio óptico.....	61
20. Hojas de <i>Draba nivicola</i> al MEB.....	62
21. Hojas de <i>Draba jorullensis</i> al MEB.....	63
22. Ordenamiento de los componentes principales de las variables morfológicas de <i>D. jorullensis</i>	64
23. Dendrograma de los caracteres morfológicos de <i>D.</i> <i>zorullensis</i>	65
24. Ordenamiento de los componentes principales de las variables morfológicas de <i>D. nivicola</i>	66
25. Dendrograma de los caracteres morfológicos de <i>D. nivicola</i>	67
26. Historia genealógica de <i>D. jorullensis</i> y <i>D. nivicola</i> en las poblaciones naturales en la FVTM y la cronología de la formación de los picos principales, con sus erupciones y última glaciación.....	86

Abreviaturas y siglas

- **AMOVA:** Análisis Molecular de Varianza. Modelo estadístico o método para estimar la diferenciación genética de poblaciones a partir de datos moleculares.
- **D Tajima:** Prueba estadística creada y nombrada en honor al investigador Fumio Tajima. Esta consiste en distinguir entre una secuencia de ADN que evoluciona aleatoriamente ('neutral') contra una que evoluciona bajo un proceso no aleatorio, incluyendo selección equilibrada, expansión o contracción demográfica.
- **F de Fu:** Estimador estadístico que de manera similar a la D de Tajima prueba hipótesis de cambios demográficos en una población, se basan en la variación alélica.
- **FVTM:** Faja Volcánica Transversal Mexicana
- **Haplotipo:** Se refiere a la mitad del genotipo. Una combinación alélica que tiende a ser heredada.
- **IB:** Inferencia Bayesiana. Inferencia estadística que se basa en el Teorema de Bayes, las evidencias u observaciones sirven para inferir la probabilidad de que una hipótesis sea cierta.
- **ITS:** Espaciador transcrito interno (*Internal Transcribed Spacer*), fragmento de ADN situado entre el ADN que codifica para el ARN ribosomal, para la subunidad pequeña y grande.
- **Marcador molecular:** Fragmento o secuencia de ADN de núcleo, cloroplasto o mitocondria utilizado para generar datos. Según su ubicación en el genoma estos pueden heredarse o vincularse a ciertos genes.
- **matK:** Gen de la maturasa K, del genoma de cloroplasto.
- **Reloj molecular:** Basado en la idea de que las secuencias de ADN evolucionan a ritmos constantes, la disimilitud de dos secuencias se puede usar para calcular el tiempo de divergencia de una a otra. Estos relojes pueden incorporarse a análisis filogenéticos y se calibran con registros fósiles y/o con tasas de cambio molecular.
- **Teoría de coalescencia:** Teoría que analiza los polimorfismos genéticos mediante la prueba de modelos basados en fuerzas evolutivas (deriva genética, mutación, recombinación, selección natural, entre otras). Se basa en un marco matemático probabilístico y estadístico para encontrar patrones de ancestría en una muestra de genes.
- **trnK:** Intrón de cloroplasto, del tipo de intrones pertenecientes al grupo II, que codifica para el marco de lectura abierto del gen matK.
- **trnL-F:** Región no codificante de cloroplasto, que incluye al intrón *trnL*(UAA), este interrumpe la horquilla anticodón de tARN_{Leu}. Intrón de tipo I.
- **trnS-trnG:** Región espaciadora intergénica de cloroplasto. Frecuentemente usada para filogenia molecular de plantas.

Resumen

La vegetación alpina en México es un ecosistema extremo y vulnerable que contiene una biota única, con poca riqueza de especies, pero con muchos endemismos. Esta vegetación se distribuye en los picos más altos de la Sierra Madre Oriental y de la Faja Volcánica Transversal Mexicana (FVTM). A pesar de que la FVTM se formó durante el Mioceno, la mayoría de sus picos se formaron durante el Pleistoceno tardío. Las islas altitudinales de la FVTM en donde se encuentra la vegetación alpina, son un laboratorio natural para estudiar procesos evolutivos, como historia demográfica y especiación, siendo las especies endémicas los mejores modelos. A través de herramientas filogeográficas se pueden estudiar a las poblaciones aisladas y entender los patrones y procesos históricos, evolutivos y ecológicos que determinaron su actual distribución. Las especies de *Draba*, que es el género más grande de Brassicaceae, tienen preferencia por hábitats extremos, son un modelo para estudiar migración, aislamiento de poblaciones, diversidad y variación genética. En México hay doce especies de *Draba* distribuidas principalmente en la alta montaña y en ecosistemas áridos en el norte del país. *Draba nivicola* y *D. jorullensis* son herbáceas perennes, la primera se encuentra solamente por encima de los 4,000 msnm en la porción centro-oriental de la FVTM, mientras que *D. jorullensis* tiene distribución geográfica y rango altitudinal más amplios. Mediante análisis filogeográficos se estudia la historia evolutiva y el patrón biogeográfico de estas poblaciones naturales de la FVTM, por medio de su estructura genética, relaciones genealógicas e historia demográfica. Se extrajo ADN mediante el método CTAB de 90 individuos de ambas especies de *Draba* de seis volcanes de la FVTM. Se amplificaron cuatro regiones de cloroplasto (*trnL-trnF*, *matK-trnK*, *trnS-trnG*) y una región intergénica nuclear (ITS). Se obtuvieron redes de haplotipos individuales con PopART. Se calculó la varianza molecular, y valores F_{ST} con Arlequin. Además de probar la estructura filogeográfica $G_{ST} > N_{ST}$ con PERMUT. Se construyeron árboles genealógicos con reloj relajado coalescente en MrBayes, y gráficos de 'skyline' en BEAST para conocer la historia demográfica. Se encontró que la diversidad genética de las poblaciones de *Draba* de ambas especies es alta. Existe poca o nula diferenciación genética entre poblaciones. El flujo genético no es bajo y pareciera estar mediado a través del polen más que por la dispersión de semillas. Las poblaciones de ambas especies de *Draba* sufrieron una reciente expansión post-glacial. El patrón biogeográfico de *D. nivicola* se puede explicar por medio de una colonización este-oeste promovida por una dinámica de volcanismo reciente y el efecto de conectividad de poblaciones en altitudes más bajas durante el periodo glacial, mientras que el patrón biogeográfico de *D. jorullensis* se podría explicar de la misma manera, es necesario revisar las poblaciones de Tacaná y Nevado de Colima para completar la historia.

Palabras clave: haplotipos, especies endémicas, AMOVA, estructura genética.

Abstract

Mexican alpine vegetation is an extreme and vulnerable ecosystem that has a unique biota, with poor species richness but high endemisms. This vegetation is at the highest peaks of the Sierra Madre Oriental and in the Transversal Mexican Volcanic Belt (TMVB). Although the TMVB has its origins during the Miocene, most of its peaks formed during the late Pleistocene. The 'sky islands' of the TMVB where the alpine vegetation lives, are natural laboratories to study evolutive processes such as demographic history and speciation, being the endemic species the best models. Based on phylogeographic tools, it is possible to study isolated populations and understand the historic, ecologic and evolutive patterns and processes that determine their actual distribution. The species of *Draba*, the largest Brassicaceae genus, have preference for extreme habitats and are a model to study migration, population isolation, genetic diversity and variation. Mexico has twelve *Draba* species distributed mainly in high mountains and in arid ecosystems in the north of the country. *Draba nivicola* and *D. jorullensis* are perennial herbs, the first one is found only above 4,000 meters above sea in the center-western region of the TMVB, whilst the second one has a broader geographic and altitudinal distribution. Evolutive history and biogeographic patterns of the natural populations of *Draba* along the TMVB, are studied throughout its genetic structure, genealogic relationships and demographic history. DNA of 90 individuals of both species, collected from six volcanoes of the TMVB, was extracted following CTAB method. One nuclear intergenic region and four chloroplast regions were amplified. Haplotype networks were obtained with PopART. Molecular variance and F_{ST} values were calculated using Arlequin. In addition, phylogeographic structure $G_{ST} > N_{ST}$ was tested with PERMUT. Genealogic trees were built with a coalescent relaxed clock in MrBayes and skyline plots in BEAST to know demographic history. The results show high genetic diversity in both species. There is little or null genetic differentiation among populations. Genetic flux is not low and it could be mediated by pollen rather by seed dispersal. Populations of both *Draba* species suffered a recent post-glacial expansion. The biogeographic pattern of *D. nivicola* can be explained by an eastern-western colonization promoted by a recent volcanism dynamic and enhanced mostly by the connectivity effect of populations in lower altitudes during the ice age, whereas the biogeographic pattern of *D. jorullensis* could be explained by the same factors, it is necessary to examine the Nevado de Colima y Tacaná populations to complete the history.

Keywords: haplotypes, endemic species, AMOVA, genetic structure.

I. Introducción

La filogeografía es el estudio de la disposición de linajes de genes, a lo largo de su distribución geográfica, permite elucidar patrones y procesos históricos, evolutivos y ecológicos que determinan el ensamblaje de una biota particular (Vázquez-Domínguez *et al.* 2009), así mismo los estudios filogeográficos sirven para delimitar a los refugios glaciales, rutas de colonización y rangos de expansión después de periodos glaciales (Petit *et al.* 2003; Ikeda & Setoguchi, 2006). Esta herramienta es útil para tomar decisiones con respecto a la conservación de ecosistemas vulnerables como los son pastizales alpinos distribuidos en islas altitudinales (Juan *et al.* 2000; Jamieson, 2007). Además, la filogeografía, como herramienta comparativa, provee un marco de referencia para observar un patrón espacial y temporal en común de la variación genética en un contexto biogeográfico e histórico (Baranzelli *et al.* 2020).

Las islas altitudinales o zonas montañosas elevadas y aisladas tienden a contener un gran porcentaje de endemismo, incluso en latitudes bajas como en los trópicos, esto explicado por el aislamiento topográfico de las islas. Este patrón ha sido estudiado globalmente por Steinabauer *et al.* (2016), en el que a mayor altitud hay mayor endemismo, con una baja correlación con la temperatura, tamaño de área y riqueza de especies de la isla.

La dinámica de las islas alpinas probablemente ocurrió dentro de la configuración de un paisaje poco cambiado durante el último millón de años del Pleistoceno, pero la consecuencia de un paisaje previo puede observarse en firmas genéticas ancestrales. Aunque la Faja Volcánica Transversal Mexicana (FVTM) comenzó a formarse desde el Mioceno, algunos de los volcanes de esta área son de hace 1.5 millones de años (Ma), y como consecuencia los patrones genéticos que temporalmente caen dentro del Pleistoceno podrían ser una consecuencia no sólo de fluctuaciones climáticas, pero también de volcanismo (Mastreta-Yanez *et al.* 2015). El levantamiento de la FVTM ha jugado un papel importante en la dirección de las diversificaciones inter e intraespecífica a lo largo del eje en plantas, ya sea

como corredor este-oeste (Ruiz-Sanchez y Specht 2013), como barrera geográfica (Pérez-Crespo *et al.* 2017; Anguiano-Constante *et al.* 2021) y como refugio (Aguirre-Planter *et al.* 2000; Ruiz-Sanchez *et al.* 2012; Ruiz-Sanchez y Ornelas 2014).

El presente trabajo tiene como finalidad explicar la filogeografía de una especie endémica de Brassicaceae alpina o de montaña: *Draba nivicola* Rose y de *Draba jorullensis*, otra especie alpina pero con una distribución más amplia que *D. nivicola*, en los picos aislados de la FVTM; para ello se analizó la estructura genética de a las poblaciones de *D. nivicola* y se construyeron árboles genealógicos y mapas de haplotipos que sugirieron la historia del flujo genético de estas poblaciones. Debido a que las especies de *Draba* se encuentran restringidas en los picos de la FVTM, se espera que presenten una diversidad genética baja entre los individuos de cada población, bajo flujo genético y una alta diferenciación genética entre poblaciones.

II. Antecedentes

Vegetación alpina del centro de México

La vegetación alpina es uno de los ecosistemas más extremos que sólo se desarrolla bajo condiciones frías en las cumbres de las montañas más elevadas y como resultado tienen una biota única y vulnerable. En latitudes tropicales es escasa, y para México se encuentran en los picos más altos de la FVTM, también en los picos de Coahuila de la Sierra Madre Oriental y en el volcán de Tacaná en Chiapas (frontera con Guatemala). La riqueza de especies no es tan alta como en los trópicos, pero los endemismos destacan (Ramírez-Amezcuca *et al.* 2016).

La vegetación alpina mexicana se encuentra entre el límite inferior de la línea de árboles (*Pinus hartwegii*) y el límite superior de la zona nival sin vegetación (3,500-4,750 msnm) (Beaman, 1962; Almeida-Leñero *et al.* 2019). En México, la vegetación alpina llega a los 4,750 msnm y en otras partes del mundo a elevaciones más altas. Esta vegetación se distribuye de manera discontinua, aislada y puntual en las cimas de los 16 edificios volcánicos más altos del país (Miranda & Hernández-X, 1963; McDonald, 1998; Rzedowski, 2006), de las diferentes provincias biogeográficas montañosas como la Sierra Madre Oriental y la Faja Volcánica Transversal. La vegetación alpina mexicana varía en composición y estructura de especies y existen distintas agrupaciones de plantas exclusivas a un solo pico. Muchas de las especies también se encuentran en zonas subalpinas. La flora consiste en especies de 50 familias y 350 especies, la mayor parte de la diversidad se concentra en la FVTM, con 237 especies de 49 familias y 130 géneros, y el pico que más especies concentra es el Iztaccíhuatl (>170 especies) (Steinmann *et al.* 2019; Steinmann *et al.* 2021).

En el trabajo más reciente de Steinmann *et al.* (2021) exclusivamente sobre la vegetación alpina del centro de México, los autores describieron la florística de la FVTM y analizaron la afinidad florística con el fin de comprender mejor su origen y distribución. La flora alpina mexicana incluye 76 especies que son exclusivas del país y 36 de ellas son restringidas a la FVTM. Hay cuatro especies endémicas a la porción centro-oriental de la FVTM, entre ellas está *Draba nivicola*, la cuál es la

especie endémica con mayor distribución entre la FVTM, está presente en nueve picos. También de la misma familia, *Draba jorullensis* de igual manera, se encuentra en los picos de la FVTM, pero a diferencia de *D. nivicola*, *D. jorullensis* tiene una distribución más amplia, estando presente en picos del occidente la FVTM, en Chiapas y en picos de Guatemala (Rollins, 1993; Steinmann *et al.* 2021).

Filogeografía en Brassicaceae y generalidades *Draba*

Algunas especies de esta familia han sido de interés para entender la expansión de poblaciones durante la época post-glacial. Por ejemplo, *Arabis alpina* es de las más estudiadas con una perspectiva filogeográfica. De acuerdo con Assefa *et al.* (2007) y Koch *et al.* (2006), *A. alpina* es una especie endémica perenne a las islas alpinas de África, Europa y Asia, se encontró que existe una fuerte estructura filogeográfica en sus poblaciones, debido a que los ciclos interglaciales durante el Pleistoceno ocasionaron que estas se aislaran y posteriormente se expandieran en la etapa post glacial. Los picos de África fungieron como un refugio para las poblaciones más sureñas, estas lograron aislarse y diferenciarse de las poblaciones europeas y asiáticas (Assefa *et al.* 2007).

Además, otro caso de colonización post-glacial, fue con *Arabidopsis thaliana*, Beck *et al.* (2008), señalan que las poblaciones de *A. thaliana* tuvieron su origen en el Cáucaso y que posteriormente durante la época post-glacial, hubo una expansión de este a oeste (Asia-Europa). Otro caso más complejo, que se aborda desde la perspectiva de especiación y filogenética, es el género *Pachycladon* de Nueva Zelanda. La distribución de las especies de este género en esta isla, está relacionada con el tipo de suelo geológico y la altitud (Heenan y Mitchell 2003). Los análisis con reloj molecular mostraron que este género tuvo eventos de alopoliploidización durante 0.8 y 1.6 Ma (Joly *et al.* 2009). Se ha propuesto que *P. enysii*, una de las especies que alcanza la mayor altitud entre las especies de *Pachycladon*, ha sobrevivido en refugios de tipo *nunataks* durante la última glaciación, en contraste con *P. fastigiata* que sólo habita en lugares bajos y está ausente en altitud alta (Heenan y Mitchell, 2003). Un estudio filogeográfico más que

filogenético añadiría información importante para soportar las hipótesis de diversificación de este género.

El género *Draba* Rose (Brassicaceae) además de ser el más grande de su familia (370 especies), tiene una preferencia de hábitat por las zonas montañosas, árticas y/o alpinas (Koch *et al.* 2003). Algunas especies de *Draba* han sido estudiadas con el fin de entender fenómenos como migración (Widmer *et al.* 1999), variación genética (Widmer & Baltisberger, 1999), aislamiento de poblaciones (Skrede *et al.* 2007) y nivel de poliploidía (Grundt *et al.* 2004).

El origen del género *Draba* ocurrió en algún lugar entre la región de Asia central y las montañas del Cáucaso. Las especies del grupo central de *Draba* se mantuvieron estables durante el Plioceno y hace 2.3 Ma, durante el comienzo del Peistoceno, hubo una expansión de éstas. Los linajes extintos de *Draba* probablemente ocurrieron durante el Mioceno hace 16 Ma (Jordon-Thaden, 2010), producto de la radiación de la mayoría de especies de Brassicaceae durante esa época (Jordon-Thaden y Koch, 2008). Los fósiles más conocidos de la familia son macrofósiles (frutos y semillas), que fueron asignados a los géneros *Draba*, *Sinapis*, *Thlaspi*, *Cochleana*, del periodo tardío del Plioceno 1.8-3.6 Ma y *Clypeola*, del Mioceno tardío (Franzke *et al.* 2011).

En México las 12 especies de *Draba*, se distribuyen principalmente en el norte y en los picos más altos del centro y sur de México, siendo éstas últimas las menos relacionadas con las especies del norte (Figura 1). *Draba nivicola* Rose es una especie herbácea perenne, endémica a la porción centro-oriental de la FTVM y es pionera en el pastizal alpino (Steinmann *et al.* 2017), se encuentra en elevaciones mayores a 4,000 msnm en donde convive con el resto de la vegetación alpina (*Castilleja toluensis*, *Oreomyrrhis orizabae*, *Plantago toluensis*, *Draba jorullensis*, *Luzula racemosa*, *Senecio procumbens* y *Trisetum spicatum*). *Draba jorullensis* Kunth es especie de roseta perenne que se distribuye en el límite inferior de la vegetación, crece en prados alpinos y bosques de *Abies religiosa*, sobre lechos de lava, suelo arcilloso negro, grietas de acantilados, toboganes y laderas sueltas (Rollins, 1993). A diferencia de *D. nivicola*, que se distribuye únicamente en la región

centro-oriental de la FVTM, *D. nivicola* se encuentra en picos del occidente de la FVTM y en Guatemala (Steinmann *et al.* 2021).

Dirección General de Bibliotecas UAQ

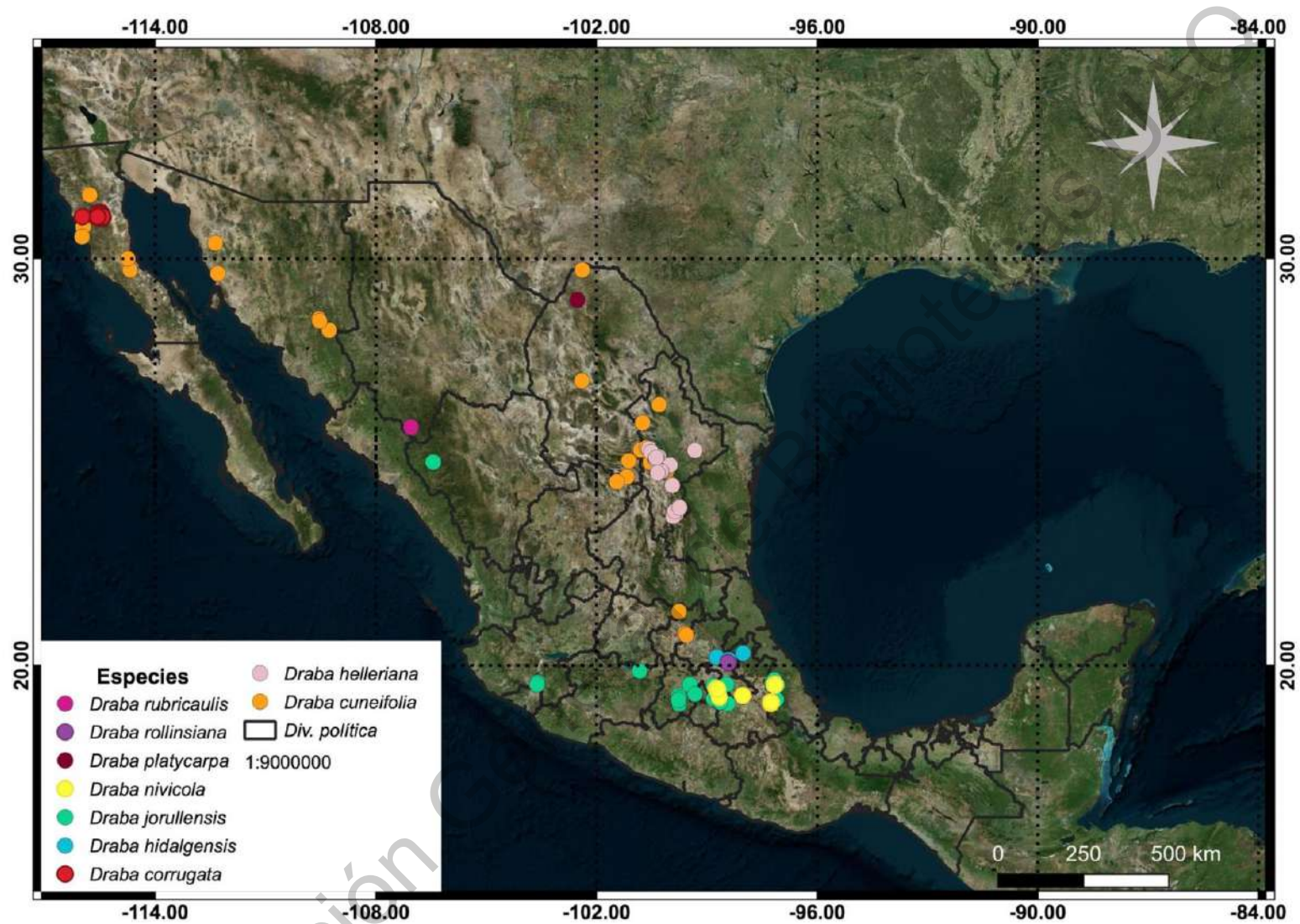


Figura 1. Mapa de distribución de las diferentes especies de *Draba* presentes en México (Elaboración propia).

Ambas especies se encuentran en asociación con macollos de *Plantago tolucensis*, ya sea dominada por el estrato rasante (<10 cm) o por el herbáceo (>10 cm), en el laderas de pendiente moderada, con 60% de suelo descubierto, sobre litosoles, en zonas de acumulación coluvial, asociada a formas de acumulación morrénica, con fragmentos gruesos y con una baja cantidad de cenizas (Almeida-Leñero *et al.* 2019). Vázquez-Ramírez (2014) informa que *D. nivicola* y *D. jorullensis* tiene un patrón de floración anual, y que en los años observados mediante ejemplares de herbario (1970 - 2010), *D. nivicola* ha adelantado su floración, de diciembre a mayo, con un pico ligero en julio y fructifica de enero a marzo, en mayo y en agosto. Mientras que *D. jorullensis* florece de abril a septiembre y fructifica en mayo y de julio a octubre (Figura 2).

En las zonas alpinas, la ausencia de abejas sociales permite que otros grupos de insectos sean los polinizadores efectivos, por ejemplo dípteros (Syrphidae, Muscidae y Empididae), pequeños lepidópteros e himenópteros solitarios (Inouye, 2019). En las zonas alpinas Andinas en Chile, algunas especies de Brassicaceae: *Draba gilliesii*, *Draba tenuis*, *Cardamine nivalis*, *Lepidium suffruticosum* y *Stenodraba stenophylla*, son polinizadas principalmente por dípteros (Syrphidae, Tachinidae y Anthomyiidae) y lepidópteros (Arroyo *et al.* 1982).



Figura 2. A la izquierda *Draba nivicola* con frutos inmaduros y asociada a *Plantago tolucensis* y a la derecha *Draba jorullensis* con flor.

Historia de la FVTM

Las montañas son regiones complejas topográficamente formadas por la interacción entre la actividad tectónica y los procesos volcánicos. La relación de los sustratos montañosos con las formas de vida y sistemas climáticos en diferentes rangos espaciales, resultan en el establecimiento de distintos y diversos ambientes montanos. Estos ambientes pueden ser transitorios y sus cambios continuos dirigen la división de especies a diferentes rangos y consecuentemente, a la diferenciación poblacional (Fjeldså, Bowie y Rahbek 2012; Hazzi *et al.* 2018; Antonelli *et al.* 2018). Estos procesos biológicos crean un equilibrio cambiante entre la especiación y extinción, en las que las montañas pueden actuar como *cunas* de diversidad, *museos* o áreas grandes en las que persisten varias especies, y *cementerios* o áreas particularmente con una tasa alta de extinción (Rangel *et al.* 2018).

Las zonas montañosas de México son un mosaico complejo de distintas provincias geológicas con diferentes edades y orígenes. Estas se extienden desde el sur de las montañas Rocallosas en Estados Unidos, hasta los límites norteños de los sistemas montañosos del Sur. En México, las áreas montañosas se dividen en cinco: Sierra Madre Occidental, Sierra Madre Oriental, Faja Volcánica Transversal de México (FVTM), Sierra Madre del Sur y Sierras de Chiapas y Guatemala

(Mastretta-Yanes *et al.* 2015). La FVTM está constituida por casi 8,000 estructuras volcánicas que se extienden de este a oeste, a lo largo de 1,000 km y con un grosor irregular de 80 a 230 km, en una latitud de 19 – 20°. El conocimiento de la historia y origen de la FVTM es complejo y aun incompleto (Gómez-Tuena *et al.* 2007).

Los estudios filogeográficos dentro de la FVTM han indicado que el levantamiento de esta, ha jugado un papel muy importante en la dirección de la diversificación inter e intraespecífica a lo largo de todo el cinturón volcánico (e.g. Ruíz-Sánchez y Specht, 2013; Mastretta-Yanes *et al.* 2014; Pérez-Crespo *et al.* 2017). La implicación de estos procesos geológicos que dan la conformación orográfica, ya sea diversificar o aislar especies, es de importancia para estudiar a las plantas alpinas que habitan en este particular ecosistema.

En la FVTM han ocurrido los cambios geológicos más recientes, generando los volcanes más grandes durante el Pleistoceno (Ferrari *et al.* 2012). La evolución histórica de la FVTM se divide en cuatro episodios: 1) Mioceno temprano a tardío (~19 – 8 Ma), 2) Pulso máfico en el Mioceno tardío a Plioceno temprano, de oeste a este (11 – 3 Ma), 3) Volcanismo silícico (~7.5 – 3 Ma), y 4) Plioceno tardío-Cuaternario (Ferrari *et al.* 2012). Otros estudios añaden la aparente migración de norte a sur de la actividad volcánica en el Plio-Cuaternario (0.01 Ma) (Cadoux *et al.* 2011). El episodio final se caracteriza por la construcción de grandes estratovolcanos hace 1.5 Ma, algunos de ellos siguen activos (Ferrari *et al.* 2012; Gómez-Tuena *et al.* 2007).

La edad de los principales volcanes en la zona centro-oriental es variable y en un mismo volcán se puede encontrar material de distintas edades. Varios autores señalan edades distintas, de acuerdo con el método por el que se determinó. Por ejemplo, los volcanes de Sierra Nevada presentan distintas edades entre ellos, en el mismo nivel altitudinal (~4000 m): Tláloc con 1.87 Ma, Telapón con 0.27 Ma, Popocatepetl de 1 a 0.8 Ma (Cadoux *et al.* 2011), mientras que para el Iztaccíhuatl se informó una edad de 0.08 de Ma (Nixon, *et al.* 1989). El Nevado de Toluca tiene 1.3 Ma de edad, de acuerdo con García-Palomo *et al.* (2002). El cerro Ajusco, el cual pertenece a la Sierra de las Cruces, presenta 0.4 Ma de edad (Arce *et al.* 2008).

Para la porción más oriente, Carrasco-Núñez *et al.*, (2010), informan que Cofre de Perote tiene 1.6 Ma, Citláltepetl o Pico de Orizaba tiene 0.65 Ma y la Sierra Negra es la porción más joven de esta formación geológica, con 0.09 Ma. Castro-Govea *et al.* (2007) informan que el volcán La Malinche presenta $4,895 \pm 45$ BP, en la zona joven que se encuentra arriba de los 3,000 msnm. La información sobre la localidad, diversidad y actividad volcánica de estos picos están resumidas en el trabajo de Steinmann *et al.* (2021). El tiempo de la última erupción es importante en el establecimiento de la flora y por lo tanto de la diversidad.

Estos diez volcanes (Cuadro 1), son parte de los 12 edificios más altos que albergan al ecosistema de páramo de altura. Los picos de la FVTM proveen un modelo adecuado para examinar como montañas de latitud baja pueden facilitar la persistencia de la biodiversidad a largo plazo, así como eventos de especiación alopátricos y parapátricos dirigidos por cambios climáticos y geológicos (Mastretta-Yanes *et al.* 2015).

Cuadro 1. Resumen de las edades de algunos de los edificios volcánicos más altos de México.

Edad	Volcán	Referencia	Altura (m)
4,895 ± 45 BP	La Malinche	Castro-Govea <i>et al.</i> , 2007	4,461
0.08 ± 0.02 Ma	Iztaccihuatl	Nixon <i>et al.</i> , 1989	5,230
0.09 ± 0.55 Ma	Sierra Negra	Carrasco-Nuñez, 2000	4,580
0.274 Ma	Telapón	Cadoux <i>et al.</i> , 2011	4,080
0.4 Ma	Ajusco	Arce <i>et al.</i> , 2008	3,930
0.65-0.21 Ma	Citlaltépetl	Carrasco-Nuñez, 2000	5,636
1-0.8 Ma	Popocatépetl	Cadoux <i>et al.</i> , 2011	5,426
1.3 ± 0.1 Ma	Nevado de Toluca	García-Palomo <i>et al.</i> , 2002	4,680
1.6 Ma	Cofre de Perote	Carrasco-Nuñez, 2010	4,282
1.82 - 0.274 Ma	Tláloc	Cadoux <i>et al.</i> , 2011	4,151

Las edades corresponden a la parte más reciente del volcán.

La tectónica, el volcanismo y las glaciaciones del Pleistoceno alteraron de gran manera el paisaje de regiones montañosas e influyeron en la distribución de especies (Ruzzante *et al.* 2006). En Europa y Norte América se conoce el efecto de las glaciaciones en la diversidad de especies. La presente estructura genética de las poblaciones se formó en las eras de hielo del Cuaternario. El Pleistoceno con sus eras del hielo, ocurrieron hace 2.5 Ma y el último periodo post-gacial de calentamiento comenzó hace 15,000 años. (Hewitt 1999; Willis y Whittaker 2000; Hewitt 2011). Un ejemplo de las interacciones de procesos geológicos con las glaciaciones, es la compleja historia filogeográfica del muérdago *Psittacanthus calyculatus* (Pérez-Crespo *et al.* 2017), en la que la diferenciación genética responde a uno de los escenarios (colonización) descritos por Mastretta-Yanez, *et al.* (2015.)

Diversidad y estructura genética

La estructura genética de la población es el resultado de procesos presentes y de la historia, a su vez es la distribución de genotipos en tiempo y espacio. Los marcadores moleculares son de gran utilidad para describir procesos del pasado (Hewitt, 1999). A través del estudio de la variación geográfica y de la estructura genética de las poblaciones, se puede inferir la historia evolutiva en un contexto geográfico de especies en determinadas poblaciones, por medio de los datos de haplotipos (Nordborg, 2000). Existen dos aproximaciones para la genealogía de un gen: la aproximación genealógica y la filogenética. Aunque ambos métodos utilizan árboles, éstos son fundamentalmente diferentes.

De acuerdo con Rosenberg y Nordborg (2002), la primera aproximación toma en cuenta la dependencia estadística entre alelos tomando en cuenta a un ancestro en común. Esta dependencia es el resultado de una historia única de mutación, recombinación y coalescencia o mezcla de linajes en la ancestría de la muestra. Además de considerar la tasa de mutación y recombinación, se toma en cuenta el modelo de deriva génica. A través de un proceso estocástico, se puede tener una perspectiva del pasado con los antecedentes genealógicos de la muestra.

Otros factores son tomados en cuenta: variación en éxito reproductivo, edad, proporción de sexos. Estos influyen sobre la tasa de coalescencia para construir el árbol genealógico, además la estructura genética y la fluctuación en el tamaño de población también pueden cambiar la forma del árbol genealógico (Rosenberg y Nordborg, 2002).

En contraste, los métodos filogenéticos estiman árboles que desarrollan el patrón descendiente de la secuencia genética de alguna especie. Este árbol es usado para hacer conclusiones sobre las relaciones entre especies o individuos de una especie, pero sin tomar en cuenta la migración. Los métodos genealógicos en cambio, usan los árboles para estimar parámetros del proceso genealógico al azar, el cual ha dado origen al árbol específico. Porque sólo hay una historia evolutiva, se argumenta que un análisis bayesiano es necesario para caracterizar la genealogía de una manera más precisa. Por lo tanto, si se usan distintos marcadores

moleculares, que puedan resultar o no, en distintas historias genealógicas, los árboles coalescentes de genes proveen una manera visual y cuantitativa de considerar un proceso evolutivo, pero en escala genómica, que puede ayudar en entender la evolución de poblaciones (Cutter, 2013).

La diversidad biológica puede pensarse como un conjunto de organismos individuales en una comunidad que representan diferentes especies o diferentes variantes genéticas dentro de una especie. El nacimiento, muerte y movimiento de individuos determinan la dinámica poblacional, como consecuencia de esto, la diversidad genética está controlada por cuatro procesos: mutaciones, deriva génica, migración y selección, (Vellend & Geber, 2005). La historia biológica es única para cada especie, ya que sucede en un contexto biológico particular donde operan estos cuatro procesos (Loveless & Hamrick 1984).

La diversidad de especies puede estimarse como la riqueza de especies, dada por el número de especies en una localidad dada. Esto mismo se aplica a la diversidad genética, cuando un alelo discreto o genotipo es distinguido en una población. Las medidas de genética son análogas a las de diversidad de especies, por lo tanto, la diversidad genética es idéntica al índice de Simpson de diversidad de especies (Magurran, 2004).

La diversidad genética puede ser medida por caracteres sometidos a selección o caracteres neutrales como los marcadores moleculares (Vellend & Geber, 2005). Los marcadores usados son marcadores de ADN de cloroplasto (ADNcp), ya que los cloroplastos son heredados mediante la vía materna, tienen una baja tasa de mutación y raramente son sujetos a recombinación (Gao, *et al.* 2017). La colonización de nuevos y lejanos hábitats, es consecuencia de la dispersión a través de semillas y los marcadores del cloroplasto proveen información sobre cambios en el pasado de la distribución de las especies (Petit *et al.* 2003).

La riqueza alélica o genotípica es el número de alelos diferentes o genotipos en una población (Velland & Geber, 2005). Los índices para medir la diversidad genética en plantas son: h , número de haplotipos; hd , diversidad de haplotipos; π , diversidad de nucleótidos, el cual es equivalente a diversidad de genes, para

posiciones individuales de nucleótidos; H_E , heterocigosidad esperada, la cual es definida por la probabilidad de que dos alelos o genotipos escogidos al azar sean diferentes (Velland, 2004). Por medio de la comparación de los índices hd y π , se puede inferir sobre la historia demográfica de las poblaciones, si hay un alta diversidad haplotípica (h , hd) y una diversidad nucleotídica baja (π), la población sufrió un cuello de botella histórico o barrido selectivo, mientras si h es alto y π es bajo, la población es estable y con un tamaño efectivo. Los cuellos de botella suelen estar representados por un h bajo y un π alto, casi siempre proveniente de una población grande o mezcla de poblaciones divergentes y si h es alto y π es bajo, es probable que la población haya sufrido un crecimiento poblacional rápido a partir de una población con un número efectivo de población pequeño (Avice, 2000; Hamilton, 2009).

La variabilidad genética de una población es usualmente medida por el promedio de heterocigosidad por locus (H_s), mientras que las diferencias genéticas entre dos poblaciones se pueden medir mediante la distancia genética propuesta por Nei (1972). H_s de Nei (1987) y H_E son equivalentes (Nybom, 2004). Cuando las frecuencias de alelos han sido determinadas para cada uno de los loci, la diferencia o similitud genética se conoce como distancia genética. La medida más simple de distancia genética para secuencias de ADN es la proporción de diferencias en nucleótidos (θ_{ST}) (Takezaki & Nei, 1996).

Las poblaciones tienen estructura genética, la cual es una función de la habilidad de la especie para dispersar sus genes vía polen o semilla (Hamrick & Schnabel, 1985; Hamrick & Godt, 1996). La estructura genética, que también es una medida diferenciación genética, puede explicar por medio del estadístico F de Wright (1965) con el estimador F_{ST} y por G_{ST} de Nei (1972), (Nybom, 2004). De acuerdo con Petit *et al.* (2003), el estimador G_{ST} refleja parcialmente la habilidad de dispersión de la especie considerada mientras que F_{ST} es considerado como un coeficiente de endogamia. Las diferencias entre G_{ST} de cloroplasto (cpG_{ST}) y G_{ST} de marcadores nucleares ribosomales (nrG_{ST}) pueden reflejar diferencias en el flujo

genético mediado ya sea por semillas o polen. Los genes nucleares se propagan ya sea por polen o semilla, mientras que los genes heredados maternalmente se heredan únicamente a través de la semilla (Ennos, 1994).

Aunque la estructura genética en una perspectiva espacial, puede ser el resultado de la selección natural, Wright (1931) propuso que una subdivisión genética puede ser el resultado de un flujo génico limitado y un tamaño efectivo poblacional (N_e) bajo. El tamaño efectivo población está definido por el número de individuos reproductores de una población idealizada que muestra la misma cantidad de dispersión de frecuencias alélicas bajo deriva génica al azar o a la misma cantidad de endogamia que la población bajo en consideración.

El flujo genético en plantas se obtiene mediante la fertilización cruzada y/o la dispersión de diásporas, o pedazos de plantas, semillas, polen o esporas (Ellstrand, 2003). Para medir el flujo genético (Nm) entre poblaciones se calcula de la siguiente manera: $Nm = (1-F_{ST})/(4-F_{ST})$, (Yang, *et al.* 2019), donde N es el número efectivo de la población y m , la tasa de mutación. En zonas alpinas, el flujo génico se ve limitado por la disponibilidad y abundancia de polinizadores, por lo tanto puede ser menor que en zonas bajas (Bingham & Orthner, 1998).

Si una población es pequeña, tiene más probabilidades de sufrir un cuello de botella. Como resultado, se espera que las plantas raras tengan menos diversidad genética que las comunes (Barrett & Kohn, 1991). Un bajo nivel de flujo genético es suficiente para contrarrestar a la selección de mutaciones y deriva, y a niveles suficientes, el flujo genético tiende a homogeneizar a las poblaciones, especialmente oponiéndose a la deriva génica. Se considera un bajo nivel de flujo genético a $Nm < 0.5$ y alto nivel de flujo genético a $Nm > 0.5$ (Ellstrand, 2014). Y con respecto a especies endémicas de la familia Brassicaceae, se han encontrado índices de flujo genético relativamente bajos basados en la estructura genética entre especies hermanas (Mayer *et al.* 1994).

El estudio de la variación geográfica ha sido una de las aproximaciones más importantes hacia el estudio de la evolución. La variación entre poblaciones existe a gran escala. Comúnmente la población más lejana, es diferente en frecuencia de

alelos y en características fenotípicas basadas en diferencias genotípicas, aunque no existe una correlación estricta entre esto. Las formas geográficamente diferenciadas de alguna especie pueden ser parapátricas, es decir, que conviven con otras especies relacionadas y se cruzan entre sí en un borde delgado, o pueden ser alopátricas y estar totalmente separadas (Futuyma, 1986).

Justificación

La vegetación alpina en México ocupa menos del 0.0001% del territorio nacional y dado que se desarrolla en condiciones de frío extremo, es uno de los ecosistemas más vulnerables a desaparecer con el calentamiento global (Steinmann *et al.* 2019). Al mismo tiempo las poblaciones de especies de las zonas alpinas de México, se verán amenazadas debido a la pérdida del hábitat por cambios climáticos, de acuerdo con Ramírez-Amezcuca *et al.* (2016). Conocer la ecología y la estructura de las poblaciones de las especies, especialmente endémicas, ayuda al diseño de sistemas de reservas y su manejo (Evans, *et al.* 2000).

Draba es un excelente modelo para estudiar la migración global de especies en ambientes alpinos y/o árticos, los cuales se encuentran o se encontraban históricamente en parches continuos de las principales áreas montañosas (Jordon-Thaden *et al.* 2013). Aún no existen estudios filogeográficos sobre *Draba*, los cuales son necesarios para proponer estrategias para la conservación de su hábitat y por ende de la especie, y de las interacciones con otras especies polinizadoras de ambientes alpinos.

III. Hipótesis

Debido a que las características de distribución de las poblaciones de *Draba nivicola*, son escasas y aisladas en picos volcánicos de diferentes edades geológicas y a distintas distancias, *D. nivicola* exhibirá una diversidad genética baja intra poblacional, bajo flujo genético, alta diferenciación genética entre poblaciones.

Aunque las poblaciones de *D. jorullensis* no son tan escasas como las de *D. nivicola*, se observará un patrón similar para *D. jorullensis*.

IV. Objetivos:

Objetivo general:

Describir la filogeografía de *Draba nivicola* y *D. jorullensis* en poblaciones naturales en islas alpinas de la región centro-oriental de la Faja Volcánica Transversal Mexicana.

Objetivos particulares:

- 1) Conocer la historia evolutiva de las poblaciones de *Draba* en la FVTM, a través de su estructura genética.
- 2) Describir el patrón biogeográfico de las poblaciones de *Draba* en la FVTM, de acuerdo con sus relaciones genealógicas e historias demográficas.

V. Materiales y Métodos

Consideraciones bioéticas

La especie de *Draba nivicola* se encuentra dentro de la NOM-059-SEMARNAT-2010 (modificación a la lista anexa de especies de diciembre 2015) con categoría de riesgo amenazada, para su colecta se necesita un permiso especial. Se tiene en cuenta que las poblaciones son pequeñas y no se deben sobrecolectar. No se conocen compuestos tóxicos de la planta. Los desechos de solventes y residuos sólidos utilizados en las extracciones de ADN fueron recolectados de acuerdo con la NOM-087-ECOL-SSA1-2002 y puestos a la disposición de la empresa TRIRSA (Transporte y Recolección Integral de Residuos Peligrosos). Se cuenta con el permiso del comité de Bioética de la Facultad de Ciencias Naturales (UAQ), número de folio: 90FCN2019.

Trabajo de campo y laboratorio

Se seleccionaron seis poblaciones de *D. jorullensis* y *D. nivicola* de la región centro oriental de la Faja Volcánica Transmexicana, procedentes del Estado de México, y Veracruz. Los sitios fueron elegidos de acuerdo con los registros de Steinmann *et al.* (2017) y con base a la presencia de ambas especies en los picos. Se muestreó material vegetal para las extracciones genéticas de 46 individuos de *Draba jorullensis* en las localidades de Nevado de Toluca (10), Cerro Tláloc (6), Cerro Telapón (10), Pico de Orizaba (10) y Cofre de Perote (10) y de 31 individuos de *Draba nivicola* de las localidades Cerro Tláloc (11), Pico de Orizaba (10) y Cofre de Perote (10). Para completar los puntos de muestreo de *D. nivicola*, la Dra. Yocupitzia Ramírez Amezcua colaboró con tres muestras del Iztaccíhuatl y 10 del Nevado de Toluca, en total las muestras de diferentes individuos de *D. nivicola* fueron 44. *Draba jorullensis* se encontró entre los 3,700 y 4,300 msnm, mientras que *Draba nivicola* se encontró entre los 4,100 y 4,400 msnm. Los muestreos se hicieron en febrero, junio y julio del año 2020 (Figura 3). *D. nivicola* no estuvo presente en Cerro Telapón y debido a la contingencia nacional sanitaria no se cuenta con las muestras de La Malinche ni de la Sierra Nevada. Se colectaron especímenes para ejemplares de herbario de *D. jorullensis* y *D. nivicola* y fueron depositados en el herbario “Jerzy Rzedoswki” de la Facultad de Ciencias Naturales (QMEX ver los números de vouchers en el Apéndice).

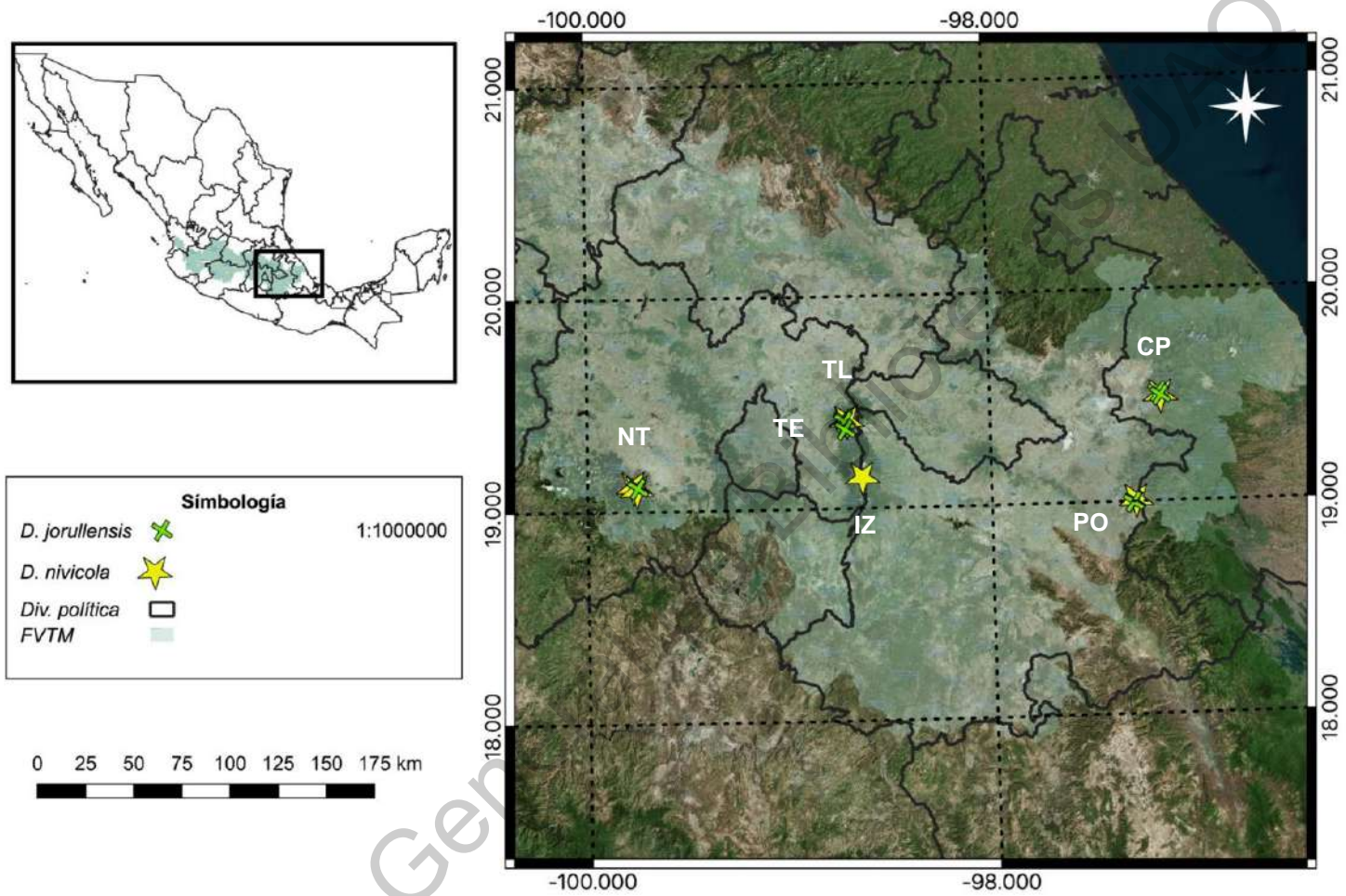


Figura 3. Mapa sitios muestreados de *Draba jorullensis* y *D. nivicola* hechas durante febrero – julio 2020, en la parte centro-oriental de la FVTM. NT=Nevado de Toluca, TL=Tiáloc, TE=Telapón, IZ=Iztccíhuatl, CP=Cofre de Peorte y PO=Pico de Orizaba) (Elaboración propia).

Para la primera parte del objetivo número uno, se cortaron hojas con tijeras estériles, de al menos seis individuos (basado en la abundancia de la planta en el lugar) de *D. nivicola* y *D. jorullensis* por población, separados al menos por 3 m para evitar que sean individuos cercanamente emparentados. El material vegetal (aproximadamente 1 g por individuo), se guardó en bolsas de té de 8 cm por 10 cm, en un contenedor hermético con gel sílica. De igual manera, el material vegetal del Iztaccíhuatl, se almacenó en gel sílica hasta la extracción genética. Una vez deshidratadas, para la segunda parte del primer objetivo, es decir, la extracción del material genético, amplificación y secuenciación de las muestras, se guardaron a -70 °C. Después fueron pulverizadas con perlas de tungsteno en el TissueLyser LT (Qiagen) y se extrajo ADN de las muestras con el método CTAB de Doyle y Doyle (1990). La cantidad y calidad del ADN se midió por espectrofotometría en NanoDrop (ThermoFisher Scientific) y se corroboró en geles de agarosa al 1%. Las muestras con una relación de absorbancia menor al estándar permitido fueron purificadas o re-extraídas según el caso. Se purificaron 47 muestras de ADN mediante columnas de purificación GFX (Ilustra GE) y las restantes fueron extraídas mediante el mini kit de extracción Dneasy (Qiagen).

Para generar las secuencias de ADN nuclear, se usaron cebadores para la región *ITS*, espaciador intergénico interno de ADN nuclear ribosomal, que comprenden a los sitios ITS1 e ITS4, entre los cuáles se encuentra la información genética para la subunidad del ribosoma 5.8S. Y para las secuencias de ADN de cloroplasto se usaron cebadores para los espaciadores intergénicos: *trnL* (región C y D), *matK-trnK* y *trnS-trnG* (Cuadro 2) y se llevaron a cabo reacciones en cadena de la polimerasa (PCR) para cada marcador molecular. Las reacciones finales de la PCR fueron de 7 µL, que incluyeron 1 µL de ADN, 1 µL de cebadores, 1 µL de solución Q, 1.5 µL de agua libre de ARNasas, y 2.5 µL de 2x Qiagen multiplex master mix (3 mM de MgCl₂) (Qiagen Multiplex PCR Handbook, 2010). Las condiciones para la reacción consistieron en un ciclo de activación a 95 °C por 15 minutos, seguido la desnaturalización a 94 °C durante 5 segundos, luego la etapa de hibridación a 57 °C durante 90 segundos y de elongación 72°C durante 90

segundos, esto repetido durante 35 ciclos, y con una extensión final a 72°C durante 10 minutos. Para verificar el éxito de la amplificación, los productos fueron separados por electroforesis horizontal en gel de agarosa al 1%. Se eliminó el exceso de cebadores y nucleótidos, mediante la reacción de la exonucleasa ExoSAP IT (ThermoFisher Scientific), se añadió 1 µL de enzima por cada 4 µL del producto de PCR, las condiciones para esta reacción fueron incubar a 37 °C por 15 minutos para activar la enzima y 15 minutos a 80 °C para desactivarla. Posteriormente se llevaron a cabo reacciones de secuenciación para cada marcador, esto para mejorar la calidad de secuenciación Sanger, consiste en añadir 0.5 µL de BigDye Terminator v3.1 (ThermoFisher Scientific), 1 µL de búfer, 1.5 µL de agua libre de ARNasas, 1 µL de cebador y 1 µL de ADN, se hicieron dos reacciones por cada producto de PCR: *forward* y *reverse*. Las condiciones para la reacción de secuenciación fueron un minuto a 96 °C, seguido de 25 ciclos de 96 °C durante 10 segundos, 50 °C por 5 segundos y 4 minutos a 60 °C, y se dejó reposar a 4 °C. Todas las PCR's se ejecutaron en un termociclador Aeris (ESCO).

Finalmente se purificaron los productos de la reacción de secuenciación con 15 µL de etanol al 100% y 1.25 µL de EDTA a 125 mM, incubado durante 15 minutos, seguido de centrifugación a 3,000 g durante 30 minutos a 4 °C, se tiró el sobrenadante, se añadieron 15 µL de etanol al 70% y se centrifugaron a 1,650 g durante 16 minutos, finalmente se decantó el sobrenadante, se secó el pellet y se resuspendió con 6 µL de formamida (altamente desionizada).

Los productos de las amplificaciones exitosas fueron separados por electroforesis capilar en un secuenciador ABI PRISM 310 Genetic Analyzer (ThermoFisher Scientific). Los productos secuenciados fueron evaluados y editados en Sequencher v.4.1.4 (Gene Codes, 2002). La alineación múltiple de secuencias se hizo en MEGA v.10.1.8 (Stetcher *et al.* 2020) con el algoritmo MUSCLE. Se generaron archivos FASTA con las matrices de secuencias para su análisis posterior. La extracción de material genético, amplificación de fragmentos y secuenciación se llevaron a cabo en el LANIVEG: Laboratorio Nacional de Investigación y Caracterización Vegetal, en Zapopan, Jalisco, en colaboración con

el Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias (CUCBA), durante los meses de octubre y noviembre del año 2020.

Cuadro 2. Características de los cebadores de los marcadores usados en este trabajo.

Región	Cebadores	Tm° C	Long. ob.	Long. es.	Ref.
<i>trnL (C-D)</i>	F:5'-cgaaatcggtagacgtacg-3' R: 5'-ggggatagagggactgaac-3'	55.4	282	650 ± 100	Tablet et al. 1991
<i>trnS-trnG</i>	F:5'-gccgcttagtcactcagc-3' R:5'-gaacgaatcacactttaccac-3'	57.2	325-368	500 ± 200	Hamilton, 1999.
<i>matK-trnK</i>	F:5'- ccctaattacgatcaattcattcaat-3' R:5'-aactagtcggatggagtag-3'	52.1	503-550	1,500 ± 130	Johnson & Soltis, 1994.
<i>ITS</i>	F: 5'-tcctccgcttattgattgc-3' R: 5'-ttcagctracccggcaacc-3'	54.5	567-569	745 ± 128	Cheng et al. 2016.

Análisis de datos

Se calcularon las medidas estándar de diversidad genética, diversidad haplotípica (Hd), diversidad nucleotídica (π), sitios segregantes (S) y número de haplotipos. En vista de que los marcadores genéticos pueden estar sometidos a la selección natural o deriva génica, se hicieron las pruebas de neutralidad (D de Tajima y $F's$ de Fu). También se midió el flujo genético, este último con base a Nei, (1987). Además, se generó la lista de haplotipos para cada marcador y especie con DnaSP v.6 (Rozas *et al.* 2017). El flujo genético para cada población o agrupaciones de estas, se calculó siguiendo la ecuación $Nm = (1-F_{ST})/(4-F_{ST})$ de Yang, *et al.* 2019, con los valores de F_{ST} de poblaciones obtenidos en Arlequin, descrito más adelante. El índice de Nm se calculó de estas dos maneras tomando en cuenta la sobrestimación que existe cuando Nm se basa únicamente en F_{ST} de la especie.

Con la finalidad de estudiar la historia evolutiva de las poblaciones de ambas especies de *Draba*, se construyeron las relaciones genealógicas entre los haplotipos *ITS*, *trnL*, *matK-trnK* y *trnS-trnG* por separado. Se construyeron redes de haplotipos con el algoritmo Network (Templeton *et al.* 1992; Clemente *et al.* 2002), en el programa PopArt (Leigh & Bryant, 2015).

Se midió la diversidad dentro de la población (h_s) y total (h_T) para haplotipos no ordenados y haplotipos ordenados (v_s , v_T) y dos medidas de diferenciación genética (G_{ST} y N_{ST}) por población, en el programa PERMUT 1.0 (Pons & Petit, 1996). La diferencia entre N_{ST} y G_{ST} radica en las implicaciones que tienen las similitudes genéticas entre haplotipos mientras que G_{ST} se basa en las frecuencias alélicas. Se ejecutaron 10,000 permutaciones para cada corrida para probar diferencias significativas entre ambos parámetros. Si N_{ST} es significativamente mayor que G_{ST} , esto significa que dos alelos muestreados en la misma región son filogeográficamente más cercanos que dos alelos muestreados en diferentes regiones. Por lo tanto, cuando N_{ST} y G_{ST} son iguales, no existe una relación filogeográfica entre haplotipos y poblaciones (Pons & Petit, 1996).

Los índices de diversidad molecular y comparados de F_{ST} entre grupos se calculó en Arlequin v3.11 (Excoffier *et al.* 2006). El análisis de varianza molecular (AMOVA) se hizo con cuatro criterios de agrupación y a partir de las diferencias pareadas se exploraron las estructuras genéticas para las poblaciones. Los criterios de agrupación fueron: un solo grupo para determinar la fuente de variación entre poblaciones y dentro de poblaciones, y la otra forma de agrupación fueron cada uno de los volcanes (Nevado de Toluca, Cofre de Perote, Pico de Orizaba y Tláloc/Telapón/Iztaccíhuatl), debido a los pocos individuos que contenían y a la cercanía geográfica, Tláloc y Telapón o Tláloc e Iztaccíhuatl, fueron tratados como un solo grupo.

Particularmente, en el caso de *matK-trnK* de ambas especies, el análisis de AMOVA se hizo tomando en cuenta dos grupos máximo, esto debido a que el número de individuos de las poblaciones fue desigual. Para *D. nivicola*, el primer grupo se conformó de las poblaciones Nevado de Toluca y Tláloc (Oeste); y el segundo de, Pico de Orizaba y Cofre de Perote (Este). De manera similar, para *D. jorullensis* se asignaron dos grupos, el primero: Nevado de Toluca, Tláloc y Telapón (Oeste) y el segundo: Pico de Orizaba y Cofre de Perote (Este). Además, se calcularon las diferencias pareadas de F_{ST} para las poblaciones con 10,000 permutaciones.

El número más probable de grupos (k) obtenido en los AMOVA's de Arlequin, fue usado para correr el análisis en SAMOVA 1.0 (Análisis espacial de varianza molecular; Dupanloup *et al.* 2002), se eligió la corrida con el valor más alto de F_{CT} como lo sugieren los autores. Esto se hizo para reconstruir grupos de localidades que sean genéticamente homogéneas o diferentes entre cada una, maximizando la proporción de la variancia genética total para cada una de las localidades.

Para el segundo objetivo se construyeron matrices con ambas especies más grupos externos. Éstos últimos fueron seleccionados con base a la filogenia del género *Draba* y sus especies cercanas de acuerdo con Jordon-Thaden *et al.* (2010). Para el marcador nuclear *ITS* se construyó una matriz de 78 secuencias por 553 pares de bases que incluye seis especies como grupo externo: *Arabis turrita*, *D.*

nemorosa, *D. platycarpa* (*Tomostina platycarpa*), *D. aurea*, *D. helleriana* y *D. cuneifolia*. En el caso de *trnL-F* debido a la poca variación encontrada, se redujo la matriz a una secuencia por localidad y el grupo externo fue el mismo que para *ITS* más la secuencia de *D. cuneifolia* var. *sonorae*, la matriz final fue de 18 secuencias por 329 pares de bases.

La matriz del marcador *trnS-trnG* se construyó con 74 secuencias por 331 pares de bases, que incluyen como grupos externos a *Draba nemorosa*, *Lepidium draba* y *Lepidium propinquum*. No se encontraron secuencias de este marcador para *Arabis turrita*, *D. cuneifolia*, *D. helleriana*, *D. aurea* y *D. platycarpa*. Para el caso del marcador *matK-trnK*, el grupo externo se compuso de cuatro especies: *Arabis turrita*, *A. alpina*, *Tomostina cuneifolia* (*Draba cuneifolia*), *Draba nemorosa* y *D. aurea*, la matriz se construyó con 19 secuencias de 762 pares de bases. Todas las secuencias de los grupos externos fueron obtenidas de GenBank. (Ver Apéndice)

Se evaluaron los modelos evolutivos con JModelTest v.2.1, se seleccionó el mejor modelo para cada matriz de acuerdo con el criterio de información de Akaike (AIC) (Posada, 2008) y se construyó la genealogía con inferencia bayesiana (IB) en el programa MrBayes v.3.2.7 (Ronquist & Huelsenbeck, 2003). Los parámetros para cada matriz están resumidos en el Cuadro 3. Todos los modelos se configuraron con una distribución del tamaño de población tipo lognormal (4.6, 2.3), un reloj relajado con distribución lognormal (-1.6, 0.10) y un reloj coalescente, el número de generaciones de cadenas marcovianas de Monte Carlo (MCMC) fue de 2'000'000, posteriormente se quemaron el 25% de las corridas y de los árboles con una probabilidad posterior mayor a 0.05 y finalmente se visualizaron los árboles en FigTree v1.4.4 (Rambaut, 2014). Las fechas de divergencia están basadas en el modelo de reloj coalescente y en el reloj relajado con distribución normal. Deben tomarse con caución estas fechas de divergencia.

Cuadro 3. Parámetros para la IB y modelo evolutivo por marcador.

Parámetros Mr.Bayes	Marcadores			
	<i>ITS</i>	<i>trnL-F</i>	<i>trnS-trnG</i>	<i>matK-trnK</i>
nst	6	1	6	6
rates	invgamma	equal	gamma	gamma
pinvar	0.8340	0	-	0.756
shapepr	-	0.710	-	0.8
ploidy	diploid	haploid	haploid	haploid
Modelo de JModelTest	Tim3ef+I	Tim2	TPM2uf+G	TrN+I+G

La historia demográfica de las poblaciones de *D. jorullensis* y *D. nivicola* fue analizada para cada marcador usando BEAST v1.10.4 (Suchard *et al.* 2018). El gráfico de 'skyline', permite la estimación de patrones históricos del tamaño de población de una genealogía sin la necesidad de restricciones *a priori* (Ho y Shapiro 2011). La manera de calibrar el tiempo en estos gráficos es usando tasas de sustitución de cada marcador. La tasa de mutación para el marcador nuclear *ITS* fue asignada de acuerdo (Kay, Whittall, y Hodges 2006) que dice que la tasa de sustitución media para una herbácea perenne anual es de 4.13×10^{-9} (sitios por año), mientras que para los marcadores de cloroplasto, Jordon-Thaden *et al.* 2013, informa que la tasa para *trnL-F* es de 8.24×10^{-9} (sitios por año), para el marcador *trnS-trnG* se desconoce la tasa de mutación pero se tomó como referencia el promedio de la tasa de sustitución para Brassicaceae de De La Torre *et al.* (2017), la cual es de 6.51×10^{-9} . Y para la tasa de mutación de *matK-trnK*, fue asignada con base a lo descrito por Koch *et al.* (2001), que equivale a 1.0 a 3.0×10^{-9} sitios por año. Estos parámetros fueron introducidos en la configuración del archivo *xml* para cada marcador en BEAUti v1.10.4 (Drummond y Rambaut 2007), se corrieron 20'000'000 de generaciones, con muestreos cada 10,000 corridas

Descripción y análisis de caracteres morfológicos

Adicional y complementariamente, se observaron caracteres morfológicos de las láminas foliares de *Draba jorullensis* y *D. nivicola*. Las láminas de ambas especies fueron re-hidratadas en un baño maría y vistas al estereomicroscopio (Stemi DV4, Zeiss) y se tomaron fotografías con la cámara AmScope (MD500).

Se midieron 15 caracteres de *D. jorullensis* (n=46) usando Image J v.1.52k, los cuáles fueron: longitud de pelo en el envés, longitud del pelo en el ápice, longitud de pelo medio, longitud de pelo en la base, longitud de pelo margen, longitud pelo del haz, número de pelos haz y envés, número de bifurcaciones, longitud de bifurcaciones, densidad del haz, densidad del envés, área del haz y envés y longitud del margen. Posteriormente se hizo un análisis de componentes principales (APC) para determinar que variables aportaban la mayor cantidad de variación y un análisis de agrupamiento jerárquico completo en JMP v.9.0.1, para ver si el arreglo de clúster corresponde al agrupamiento geográfico.

De *D. nivicola* (n=43) se midieron ocho caracteres, los cuales fueron: longitud del pelo del margen en la parte basal, media y apical, presencia o ausencia de pelo en el haz y envés, longitud de la base del pelo, longitud de las ramas del pelo y número de ramificaciones.

Muestras de láminas foliares de ambas especies fueron deshidratadas en un tren de alcoholes (50%, 60%, 70%, 85%, 95% y 100%), luego secadas a punto crítico, montadas y recubiertas con oro, para ser observadas al microscopio electrónico de barrido (MEB), modelo EVO-50 (Carl Zeiss). Esto se hizo en el LANIVEG en la Facultad de Ciencias Naturales (UAQ). Las fotografías fueron utilizadas para la descripción de los caracteres no visibles en el microscopio óptico.

VI. Resultados

1. Historia evolutiva de las poblaciones de ambas especies

Se analizaron tres marcadores de cloroplasto (*trnL*, *trnS-trnG* y *matK-trnK*) y uno nuclear (*ITS*). Las matrices de datos de ambas especies fueron analizadas de manera individual para no mezclar las historias evolutivas de cada gen o región. El marcador *trnL*-(c-d) aportó casi nula variación en ambas especies, el marcador *trnS-trnG* fue el más variable y se pudieron amplificar la mitad de los individuos para *matK-trnK*, por lo tanto, no todas las poblaciones están representadas.

La matriz de datos genéticos de *ITS* de *D. nivicola* (40 individuos) incluyó un total de 569 pares de bases, 4 gaps y con 21 sitios informativos. La red más parsimoniosa identificó 17 ribotipos (Cuadro 4, Figura 4), el haplotipo más frecuente fue Hap 1 (25.8%), el cual está presente en todas las poblaciones. El haplotipo 13 fue el segundo más frecuente (3.25%), presente en tres poblaciones (Figura 4, derecha: Nevado de Toluca, Iztaccíhuatl y Tláloc), el resto de los haplotipos fueron únicos y con pocos pasos mutacionales entre ellos. Se formó una horquilla en la red, entre los haplotipos Hap 1, Hap 3 y Hap 7 (Pico de Orizaba, Cofre de Perote y Tláloc) (Figura 4, izquierda). Las horquillas muestran a los haplotipos cercanamente relacionados, es decir, con los mismos pasos mutacionales entre ellos.

En cambio, para *D. jorullensis*, la matriz de datos de *ITS* (32 individuos) incluyó un total de 567 pares de bases, 6 gaps y con 38 sitios informativos. La red más parsimoniosa identificó 16 ribotipos (Cuadro 4, Figura 4), el haplotipo más frecuente fue Hap 1, este se encontró en todas las poblaciones (18.75%) excepto en Tláloc (Figura 5, derecha), siendo más abundante en el Pico de Orizaba. El segundo más frecuente fue Hap 10, presente en dos poblaciones (2.5%) (Tláloc y Telapón). El resto de los haplotipos fueron haplotipos únicos y se formaron tres horquillas entre 4 haplotipos: Hap 1, Hap 10, Hap 15 y Hap 16 (Cofre de Perote, Telapón, Tláloc y Nevado de Toluca) (Figura 5, izquierda).

La matriz de datos de *trnL* de *Draba nivicola* (43 individuos) fue de 283 pares de bases, sin gaps y 5 sitios informativos. Sólo hubo dos haplotipos distintos: Hap 1 y Hap 2 que difieren por 5 pasos mutacionales (Cuadro 4, Figura 6, A). La matriz del mismo marcador para *Draba jorullensis* (43 individuos), presenta una longitud de 282 pares de bases, un gap, un sitio informativo y dos haplotipos, los cuales difieren por un paso mutacional (Cuadro 4, Figura 6, B).

La matriz de datos para el marcador *trnS-trnG* de *Draba nivicola* (39 individuos) incluyó 368 pares de bases, 32 gaps y 202 sitios informativos (Cuadro 4). Además, se identificaron 38 haplotipos en total, en la mayoría de los casos hay más de cinco pasos mutacionales entre cada haplotipo y únicamente un haplotipo de la población Tlálloc se repite dos veces (Figura 7). En la red obtenida se visualizan muchas ramificaciones y una sola horquilla entre dos haplotipos del Nevado de Toluca y uno de Tlálloc.

Para el caso de la matriz de datos de *Draba jorullensis* del mismo marcador, esta incluyó 325 pares de bases, 89 gaps y 71 sitios informativos. La red más parsimoniosa identificó 34 haplotipos que no se repiten. Entre cada haplotipo hay de diferencia de uno a 10 pasos mutacionales y se formaron tres horquillas entre haplotipos internos de las poblaciones: Telapón (3 haplotipos), Tlálloc-Nevado de Toluca-Cofre de Perote (3 haplotipos) y entre haplotipos internos del Nevado de Toluca (2 haplotipos) (Figura 8).

El marcador *matK-trnK* fue el que se amplificó en menor medida, para el caso de *D. nivicola* (18 individuos), la matriz incluyó 503 pares de bases, 4 gaps y 30 sitios informativos. La red más parsimoniosa identificó 13 haplotipos (Figura 9, izquierda). El haplotipo más abundante fue el Hap 4, compartido entre Cofre de Perote y Tlálloc (9.6%) (Figura 9, derecha), siendo más frecuente en el Cofre de Perote (66%). Entre cada haplotipo hay de tres a un paso mutacionales, excepto para el Hap 2 de Tlálloc, el cual tiene 17 pasos mutacionales con respecto al Hap 8 de Pico de Orizaba (Figura 9, izquierda). Se encontró un haplotipo central, es decir, que tiene de uno a dos pasos mutacionales con respecto a la mayoría de los

haplotipos, el cual fue el Hap 7 de Pico de Orizaba. Se observaron dos horquillas entre haplotipos del Cofre de Perote y Pico de Orizaba.

Con respecto a *D. jorullensis* (17 individuos), la matriz fue de 541 pares de bases, tres gaps, y 23 sitios informativos. La red más parsimoniosa arrojó 16 haplotipos, la mayoría únicos, excepto el Hap 2 (Figura 10, izquierda), fue compartido entre Tláloc y Telapón (2.5%) (Figura 10, derecha). Entre cada haplotipo hay de uno a tres pasos mutacionales. Se forma una horquilla central entre haplotipos de todas las poblaciones excepto del Cofre de Perote.

Pruebas de neutralidad

Los valores de las pruebas de neutralidad para todos los marcadores de las poblaciones de *D. nivicola* son negativos, con excepción de la F_s de *trnL*. Las secuencias *ITS*, *trnL* y *matK-trnK*, resultaron significantes para la D_T y *trnG-trnS* y *matK-trnK*, para la F_s (Cuadro 4). Esto indica una cantidad notable de haplotipos raros y que las poblaciones han sufrido una reciente expansión, y posiblemente precedidos por un cuello de botella.

De igual manera las poblaciones de *D. jorullensis* contienen haplotipos raros y han sufrido una expansión, ya que los valores de las pruebas para los marcadores de las poblaciones son negativos. Únicamente la D_T es significativa para el marcador *ITS*. Los valores positivos de D_T y F_s indicarían un equilibrio entre deriva y mutación, característico de una población estable.

Flujo genético

El flujo genético de ambas especies, se considera alto o suficientes para contrarrestar la deriva génica, tomando en cuenta a Ellstrand (2014). El valor obtenido de flujo genético (Nm) en DnaSP v.6 para el marcador nuclear *ITS* para *D. nivicola* fue de 2.23 y para *D. jorullensis* 1.82. En el caso de los marcadores de cloroplasto, el marcador *trnL*, obtuvo los valores más alto de Nm , siendo para *D. nivicola* de 6.72 y para *D. jorullensis* de 5.86. Seguido por el marcador *matK-trnK*, donde Nm para *D. nivicola* fue de 2.01 y *D. jorullensis*, 2.59. El marcador *trnS-trnG*,

fue el que tuvo valores menores de flujo genético respecto a los demás, Nm para *D. nivicola* fue de 0.94 y para *D. jorullensis* de 1.08.

En cuanto al flujo genético entre poblaciones (Cuadro 5), con respecto al marcador nuclear *ITS*, las poblaciones de *D. nivicola* son similares entre sí, con valores entre 0.9 y 1. Siendo Tláloc, con el valor mayor (1.09) y el Cofre de Perote con el menor valor (0.929). De manera similar, para el marcador de cloroplasto *trnL-trnG-trnS*, la población Tláloc tiene el valor mayor de flujo genético con 0.658 mientras que la población del Nevado de Toluca presenta un valor menor de flujo genético de 0.508. Las demás poblaciones: Iztaccíhuatl, Pico de Orizaba y Cofre de Perote, su flujo genético es de 0.601, 0.582 y 0.625, respectivamente. Por último, el marcador *matK-trnK*, muestra que las poblaciones del este (Pico de Orizaba y Cofre de Perote) tienen valores de flujo genético menores (0.762 y 0.710, respectivamente), a las poblaciones del oeste (Nevado de Toluca y Tláloc) con un valor de 1.19, sin embargo, estos valores no son significativos (Cuadro 5).

Por otro lado, la población del Nevado de Toluca de *D. jorullensis*, con respecto al marcador *ITS*, tiene el mayor flujo genético (0.996), y con respecto a Tláloc, el menor valor (0.747). Las demás poblaciones, Telapón, Pico de Orizaba y Cofre de Perote, tienen valores de 0.825, 0.90 y 0.975 respectivamente. Los marcadores de cloroplasto de manera contraria al nuclear, informan que para *trnS-trnG*, Tláloc es la población con mayor flujo genético (0.723) y Telapón la población con menor flujo (0.622), mientras que las otras poblaciones: el Nevado de Toluca, Pico de Orizaba y Cofre de Perote tienen valores de flujo genético intermedios de 0.661, 0.676 y 0.691, respectivamente. Por último, para el marcador *matK-trnK*, las poblaciones del oeste (Nevado de Toluca y Tláloc) presentan un valor de flujo menor (0.843) que las poblaciones del este: Telapón y en conjunto, el Pico de Orizaba con el Cofre de Perote con valores de 0.922 y 0.952, respectivamente (Cuadro 5).

Historia evolutiva de las poblaciones de *Draba* en la FVTM.

Cuadro 4. Resumen de los estadísticos clásicos del análisis de polimorfismos de ambas especies.

Sec.	n	<i>h</i>	<i>Hd</i>	S	k	π	Θ_w	D_T	F_s	pb
<i>Draba nivicola</i>										
<i>ITS</i>	40	17	0.7	21	1.47	0.002	0.0097	-2.334*	-14.851	569
<i>trnL</i>	43	2	0.047	5	0.233	0.0008	0.0040	-1.999*	0.488	283
<i>trnS-trnG</i>	39	38	0.999	202	48.081	0.143	0.142	-0.924	-9.626*	368
<i>matK-trnK</i>	18	13	0.928	30	4.647	0.0093	0.0174	-1.949*	-2.70*	503
<i>Draba jorullensis</i>										
<i>ITS</i>	32	16	0.784	38	3.64	0.0064	0.0168	-2.343*	-6.117	567
<i>trnL</i>	43	2	0.047	1	0.0047	0.0001	0.0008	-1.117	-1.51	282
<i>trnS-trnG</i>	35	34	0.998	71	13.761	0.0583	0.0730	-1.295	-22.26	325
<i>matK-trnK</i>	17	16	0.993	23	4.36	0.0081	0.0126	-1.432	-2.068	541

Sec=marcador, n=número de secuencias, *h*=número de haplotipos, *Hd*= diversidad haplotípica, S= número de sitios segregantes o informativos, k= el promedio de diferencias en nucleótidos π = diversidad nucleotídica, Θ_w = tasa de mutación de la población. D_T = D de Tajima y F_s = F de Fu. *Valores significativos negativos ($p < 0.05$), en ambas pruebas, revelan eventos históricos de expansión demográfica. Valores máximos entre ambas especies en negritas.

Cuadro 5. Flujo genético de cada especie y sus poblaciones.

<i>Draba nivicola</i>					
<u>Marcador</u>	NT	TL	IZ	PO	CP
<i>ITS</i>	0.961	1.095	1.014	1.038	0.929
<i>trnL-trnS-trnG</i>	0.508	0.658	0.601	0.582	0.625
<i>matK-trnK</i>	1.19		-	0.762	0.710
<i>Draba jorullensis</i>					
<u>Marcador</u>	NT	TL	TE	PO	CP
<i>ITS</i>	0.996	0.74795	0.825	0.900	0.975
<i>trnS-trnG</i>	0.661	0.723	0.622	0.676	0.691
<i>matK-trnK</i>	0.843		0.922	0.952	

Valores calculados a partir de F_{ST} con la fórmula $Nm = (1-F_{ST})/(4-F_{ST})$. NT= Nevado de Toluca, TL=Tiálóc, IZ=Iztaccíhuatl, PO=Pico de Orizaba, CP= Cofre de Perote, TE= Telapón.

Índices de diversidad genética y estructura geográfica

La diversidad haplotípica (H_d) del marcador ITS para *D. nivicola* y *D. jorullensis*, fue similar, de 0.7 y 0.784 respectivamente, sin embargo, *D. jorullensis* tuvo una mayor diversidad nucleotídica (π) de 0.00649. El marcador *trnL* para ambas especies fue poco informativo, la H_d para ambas especies fue de 0.047, siendo *D. nivicola* la especie con la mayor diversidad nucleotídica ($\pi=0.00082$).

Para el caso del marcador *trnS-trnG*, el cual resultó muy variable para ambas especies, la H_d de *D. nivicola* y *D. jorullensis* fue de 0.999 y 0.998 respectivamente, siendo *D. nivicola* la especie con mayor diversidad nucleotídica ($\pi=0.1431$). Por último, el marcador *matK-trnK*, tuvo una mayor diversidad haplotípica para *D. jorullensis* ($H_d=0.993$) que para *D. nivicola* ($H_d=0.928$), no obstante, *D. jorullensis* obtuvo una menor diversidad nucleotídica ($\pi=0.00812$) que *D. nivicola* ($\pi=0.00931$) (Cuadro 4).

La estructura filogeográfica para *D. nivicola* con el marcador ITS, fue nula o baja y no significativa ($N_{ST}=-0.024$; $G_{ST}=-0.0009 \pm 0.0226$, $p < 0.05$). La diversidad genética entre todas las poblaciones ($h_T=0.955 \pm 0.0155$; $v_T=0.954 \pm 0.2923$) fue menor que los valores dentro de la población, ($h_s=0.963 \pm 0.029$; $v_s=0.976 \pm 0.9976$), aunque los alelos ordenados dentro de la población son más diversos. Para el caso de *D. jorullensis*, la estructura filogeográfica con el mismo marcador, fue de igual manera nula o baja y no significativa ($N_{ST}=-0.007$; $G_{ST}=0.025 \pm 0.0095$, $p < 0.05$). La diversidad genética entre todas las poblaciones ($h_T=0.964 \pm 0.007$; $v_T=0.963 \pm 0.1644$) fue mayor que los valores dentro de la población ($h_s=0.941 \pm 0.034$; $v_s=0.969 \pm 0.217$), de igual manera que en *D. nivicola*, los alelos ordenados dentro de la población son más diversos.

Con respecto al marcador *trnS-trnG*, la estructura filogeográfica de *D. nivicola* fue baja o nula y no significativa ($N_{ST}=0.019 \pm (0.0083)$; $G_{ST}=-0.002 \pm 0.0132$, $p < 0.05$). La diversidad genética entre todas las poblaciones ($h_T=0.988 \pm 0.0054$; $v_T=0.992 \pm 0.0079$) fue menor que los valores dentro de la población ($h_s=0.990 \pm 0.0071$; $v_s=0.972 \pm 0.065$). Para el caso de *D. jorullensis*, de igual manera que con *D. nivicola* hay una estructura filogeográfica baja o nula y no significativa ($N_{ST}=-$

0.022 \pm (0.0431); $G_{ST} = -0.05 \pm 0.0042$, $p < 0.05$). La diversidad genética entre todas las poblaciones ($h_T = 0.984 \pm 0.005$; $v_T = 0.980 \pm 0.1227$) fue menor que los valores dentro de la población ($h_S = 0.989 \pm 0.011$; $v_S = 1.001 \pm 0.1319$).

Finalmente, para el marcador *matK-trnK*, la estructura filogeográfica de *D. nivicola*, como en los casos anteriores, fue baja o nula y no significativa ($N_{ST} = 0.067$; $G_{ST} = 0.054$, $p < 0.05$). La diversidad genética entre todas las poblaciones ($h_T = 0.946 \pm 0.029$; $v_T = 0.939 \pm 0.264$) fue mayor que los valores dentro de la población ($h_S = 0.894 \pm 0.061$; $v_S = 0.876 \pm 0.264$). Asimismo, para *D. jorullensis*, la estructura filogeográfica fue baja o nula y no significativa ($N_{ST} = 0.015$; $G_{ST} = -0.029$, $p < 0.05$). De manera similar, la diversidad genética de *D. jorullensis* entre todas las poblaciones ($h_T = 0.984 \pm 0.005$; $v_T = 0.980 \pm 0.1227$) fue mayor que los valores dentro de la población ($h_S = 0.982 \pm 0.018$; $v_S = 0.945 \pm 0.305$).

Las diferencias de los parámetros de h_T y v_T y h_S y v_S para todos los marcadores son bajas, indicando una baja diferenciación. Los valores de N_{ST} tienden a ser cercanos a cero o negativos.

El análisis de AMOVA para ITS de ambas especies, mostró que entre 101.7% (Cuadro 6) y 93.76% (Cuadro 7) de la variación genética proviene dentro de las poblaciones, cuando las poblaciones se agruparon en 4 grupos. El valor de F_{CT} para *D. nivicola* con 4 grupos fue de 0.069 (ns, $p < 0.05$) y para *D. jorullensis* fue de -0.1036 (ns, $p < 0.05$) (Cuadro 8).

En cuanto al análisis de SAMOVA para este marcador, arrojó una $k=4$, obteniendo un valor más alto de F_{CT} cuando el número de grupos fue cuatro. Para el caso de *D. nivicola*, la población del Iztaccíhuatl fue agrupada con el Nevado de Toluca y para *D. jorullensis*, la población de Telapón y Tláloc fueron tomadas como un grupo, las demás poblaciones fueron tratadas como grupos independientes. Los valores de F_{ST} no fueron significativos, sin embargo, para el caso de *D. nivicola*, las poblaciones: Iztaccíhuatl, Tláloc y Pico de Orizaba, los valores de F_{ST} son negativos. El valor mayor de F_{ST} fue de la población Cofre de Perote. Asimismo, para *D. jorullensis*, los valores de F_{ST} no fueron significativos, pero la población con un valor mayor fue Tláloc ($F_{ST} = 0.20164$) (Cuadro 9).

Los marcadores de cloroplasto (*matK-trnK* y *trnS-trnG*) muestran una baja diferenciación entre poblaciones, en el caso de *D. nivicola* la diferenciación ocurre entre poblaciones del oeste (Nevado de Toluca y Tláloc) y del este (Pico de Orizaba y Cofre de Perote). *D. jorullensis* también tiene una baja diferenciación genética entre poblaciones, Telapón es el más diferenciado del resto.

Además, el análisis de AMOVA para *trnL-trnS-trnG* (matriz concatenada) para *D. nivicola*, arrojó que el 69.49% de la variación genética proviene dentro de las poblaciones (cuando se agrupan en 4, $p > 0.05$), mientras que el 37% de la variación proviene de la variación entre poblaciones dentro de grupos (este valor no es significativo) (Cuadro 6.2). Similarmente, el análisis de AMOVA para *D. jorullensis* (matriz única de *trnS-trnG*), mostró que el 73.13% de la variación genética proviene dentro de las poblaciones y que el 17.81% proviene entre poblaciones dentro de los grupos, cuando estos se agrupan en 4 grupos ($p > 0.05$) (Cuadro 7.2).

Cuando el arreglo fue de cuatro grupos ($k=4$) para ambas especies, el SAMOVA obtuvo valores significativos para F_{ST} , en el caso de *D. nivicola* fue de $F_{ST}=0.3051$ y para *D. jorullensis*, $F_{ST}=0.2689$ ($p > 0.05$), no obstante, el valor de F_{SC} también fue significativo para *D. jorullensis* cuando $k=4$ ($F_{SC}=0.01958$; $p > 0.05$) (Cuadro 8). El arreglo de $k=3$ en SAMOVA para *D. nivicola*, obtuvo el valor de F_{CS} significativo, pero cuando $k=4$, este ya no lo fue. El valor mayor de F_{ST} poblaciones de *D. nivicola* fue para el Nevado de Toluca ($F_{ST}=0.39333$), mientras que para *D. jorullensis*, el valor más grande de F_{ST} fue para la población Telapón ($F_{ST}=0.30231$), estos valores no son significativos (Cuadro 9).

Finalmente, el caso de *matK-trnK* para ambas especies, el análisis de AMOVA entre los grupos Oeste y Este, de igual manera que en los casos de los marcadores anteriores, la mayor parte de la variación genética se concentra dentro de las poblaciones. Para el caso de *D. nivicola* fue de 78.7% ($p > 0.05$) (Cuadro 6.3) y 91.29% en *D. jorullensis* ($p > 0.05$) (Cuadro 7.3). Los índices de fijación $F_{SC}=0.0114$ y $F_{ST}=0.2121$, fueron significativos para *Draba nivicola* y no significativos para *D. jorullensis* (Cuadro 8). El valor de F_{ST} para las poblaciones del

Oeste es de $F_{ST}=-0.156$ y para el Pico de Orizaba y Cofre de Perote F_{ST} vale 0.189 y 0.231 respectivamente, estos valores no fueron significativos (Cuadro 9).

Dirección General de Bibliotecas UAQ

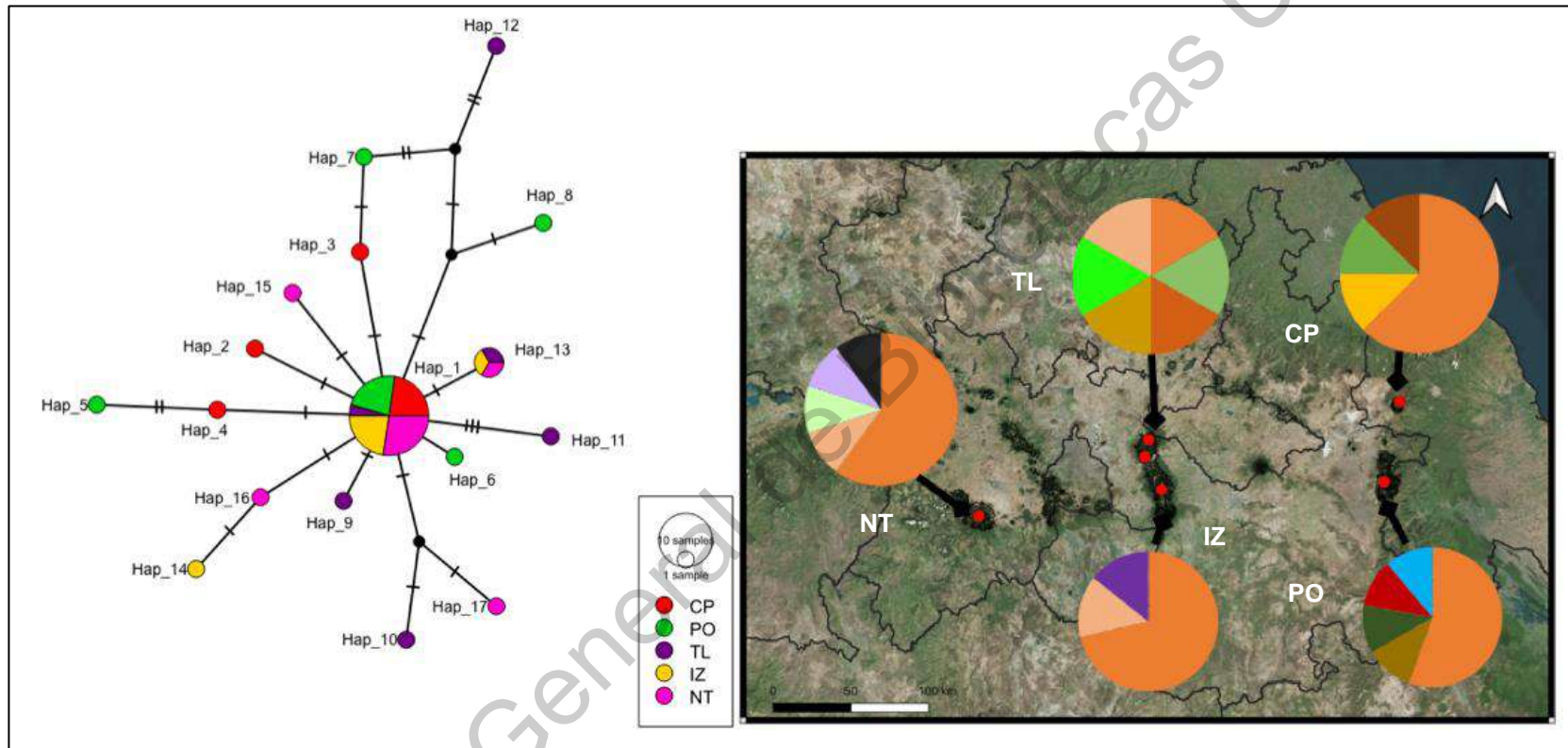


Figura 4. Red de ribotipos (TCS-Network) de *Draba nivicola*, los colores representan a las poblaciones (izquierda), y distribución de las proporciones de ribotipos en cada población, los colores representan ribotipos (derecha). El número total de ribotipos de *D. nivicola* es de $h=17$. NT=Nevado de Toluca, TL=Tiálloc, IZ=Iztaccíhuatl, CP=Cofre de Perote, PO=Pico de Orizaba.

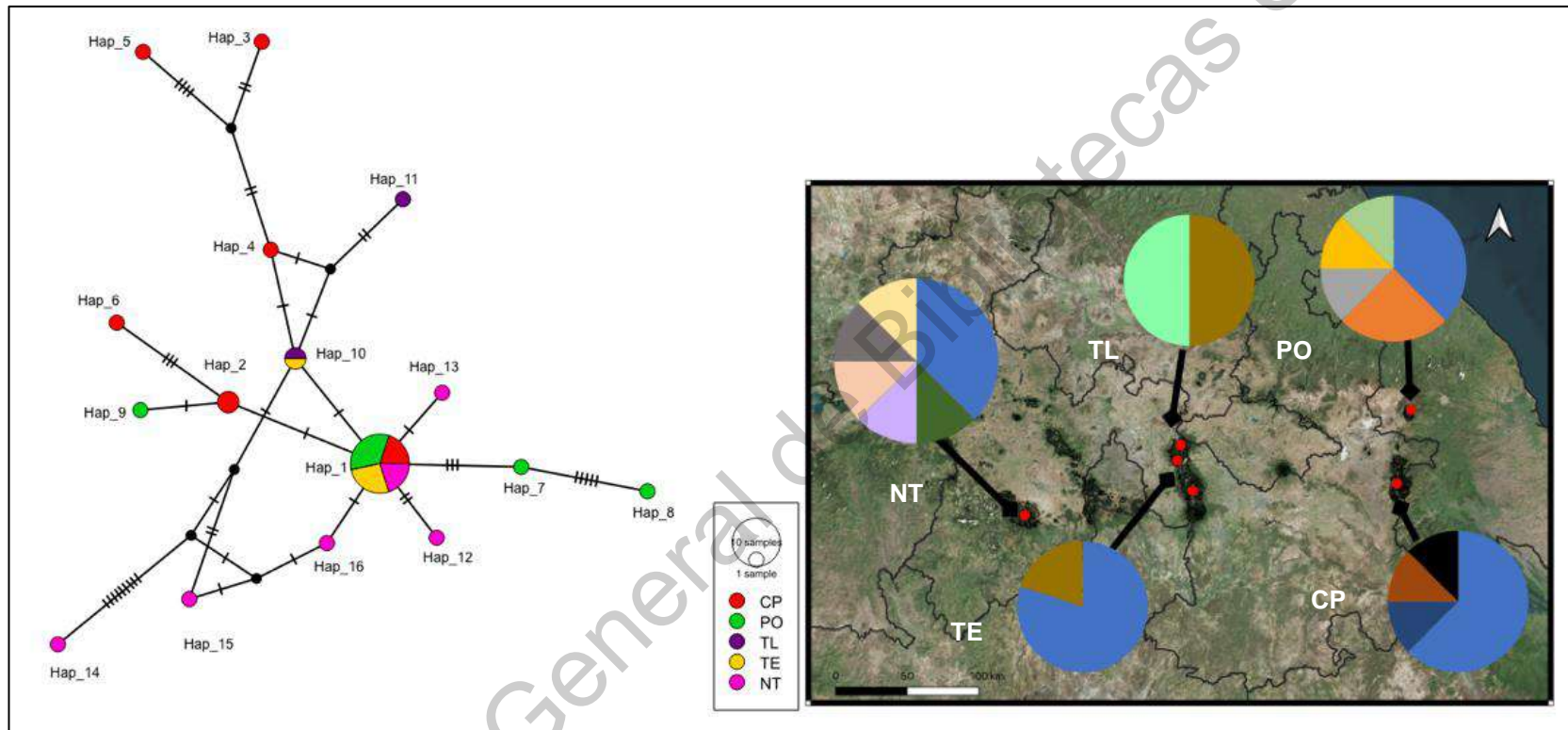


Figura 5. Red de ribotipos (TCS-Network) de *Draba jorullensis*, los colores representan a las poblaciones (izquierda) y distribución de las proporciones de ribotipos en cada población, los colores representan ribotipos (derecha). El número total de ribotipos de *D. nivicola* es de $h=16$. NT=Nevado de Toluca, TL=Tiálloc, TE=Telapón, CP=Cofre de Perote, PO=Pico de Orizaba.

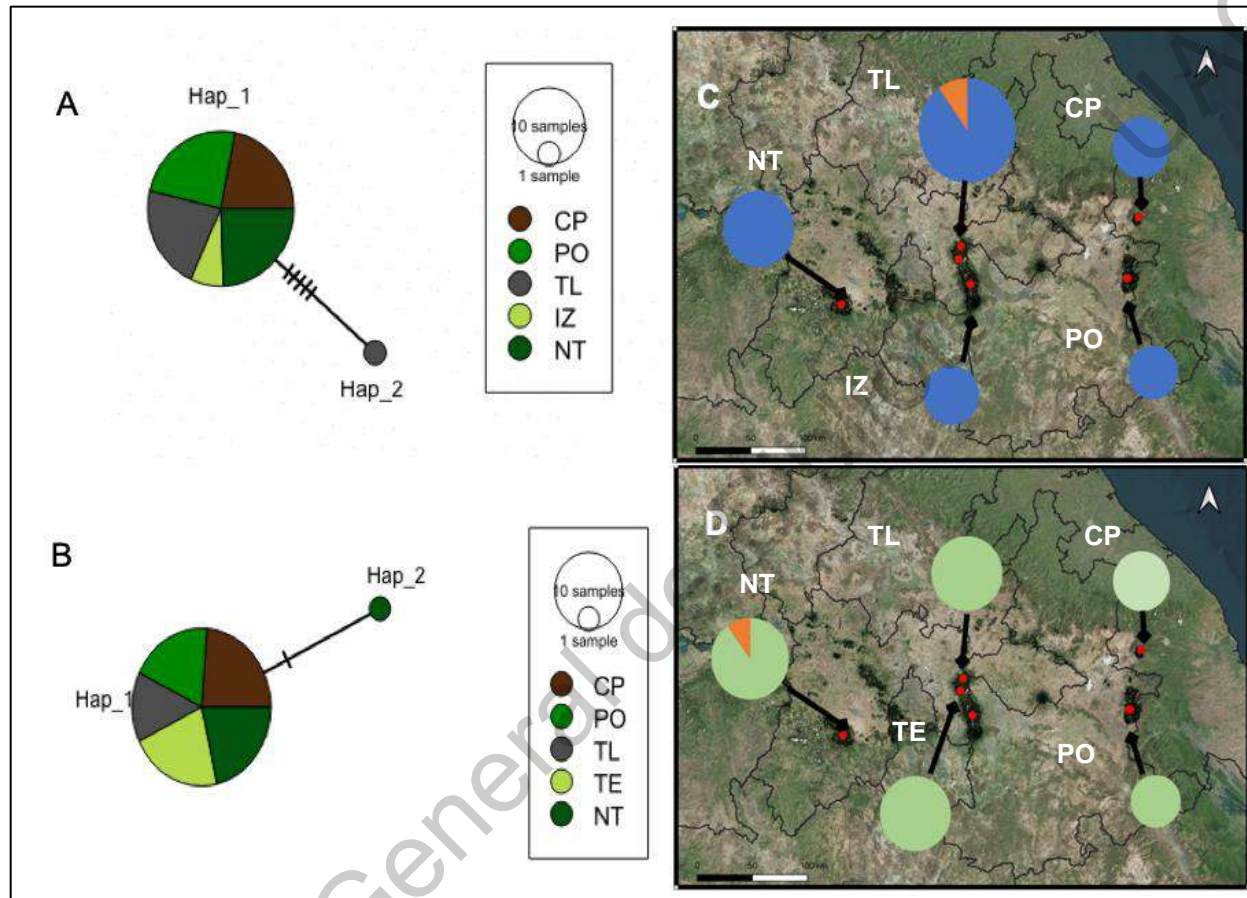


Figura 6. Redes de haplotipos (TCS-Network) de *Draba jorullensis* y *Draba nivicola* del marcador trnL-(c-d). A) *Draba nivicola*. B) *Draba jorullensis*, los colores representan poblaciones. C) y D) Proporciones de haplotipos de ambas especies en las poblaciones. CP=Cofre de Perote, PO=Pico de Orizaba, TL=Tiálloc, TE= Telapón, IZ=Iztaccíhuatl, NT=Nevado de Toluca.

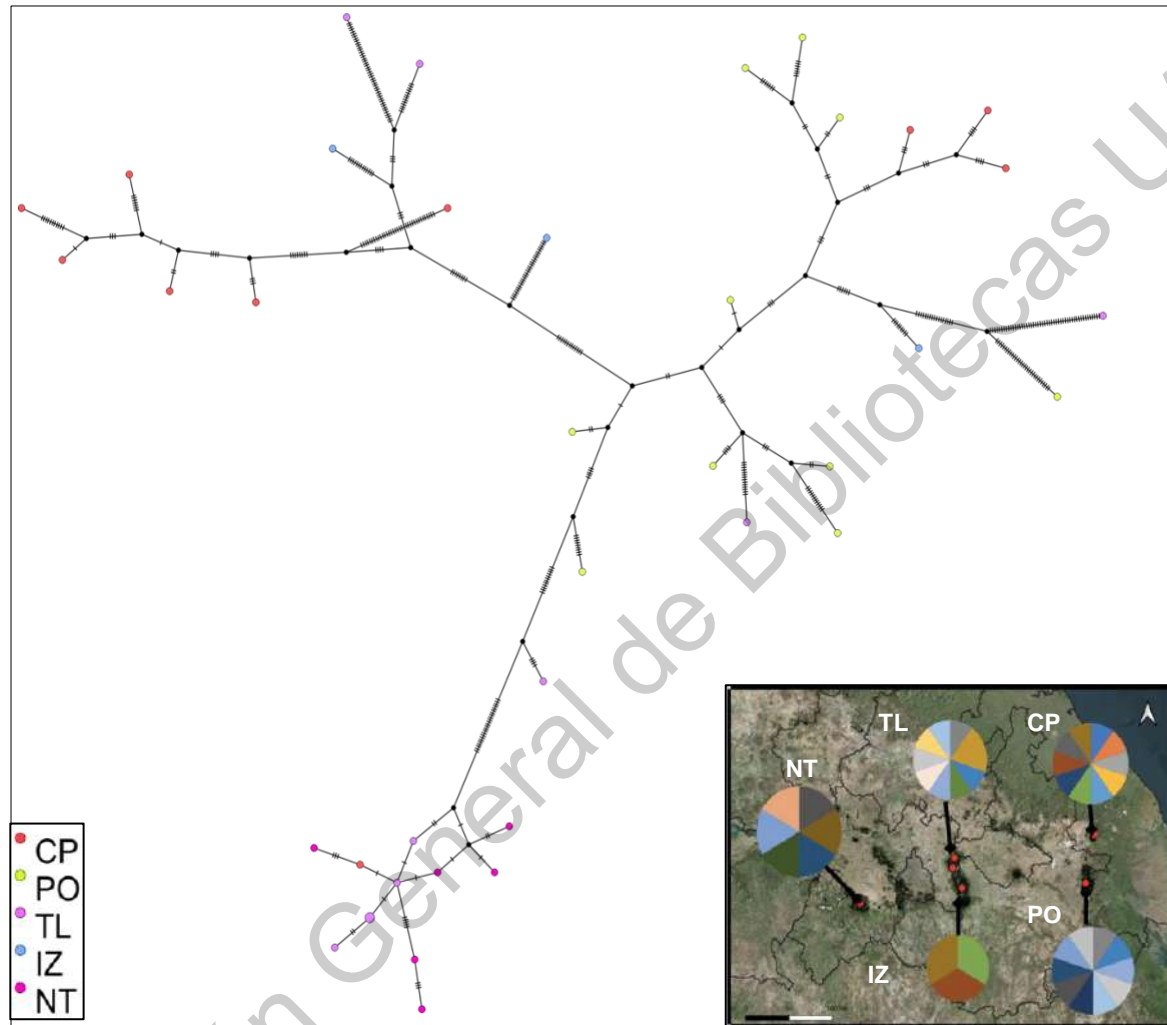


Figura 7. Red de haplotipos (TCS-Network) de *Draba nivicola* del marcador *trnS-trnG*, los colores representan poblaciones (izquierda) y las proporciones de haplotipos en cada población, los colores representan haplotipos (derecha). El número total de haplotipos (h) fue 38. CP=Cofre de Perote, PO=Pico de Orizaba, TL=Tiálloc, IZ=Iztacíhuatl, NT=Nevado de Toluca.

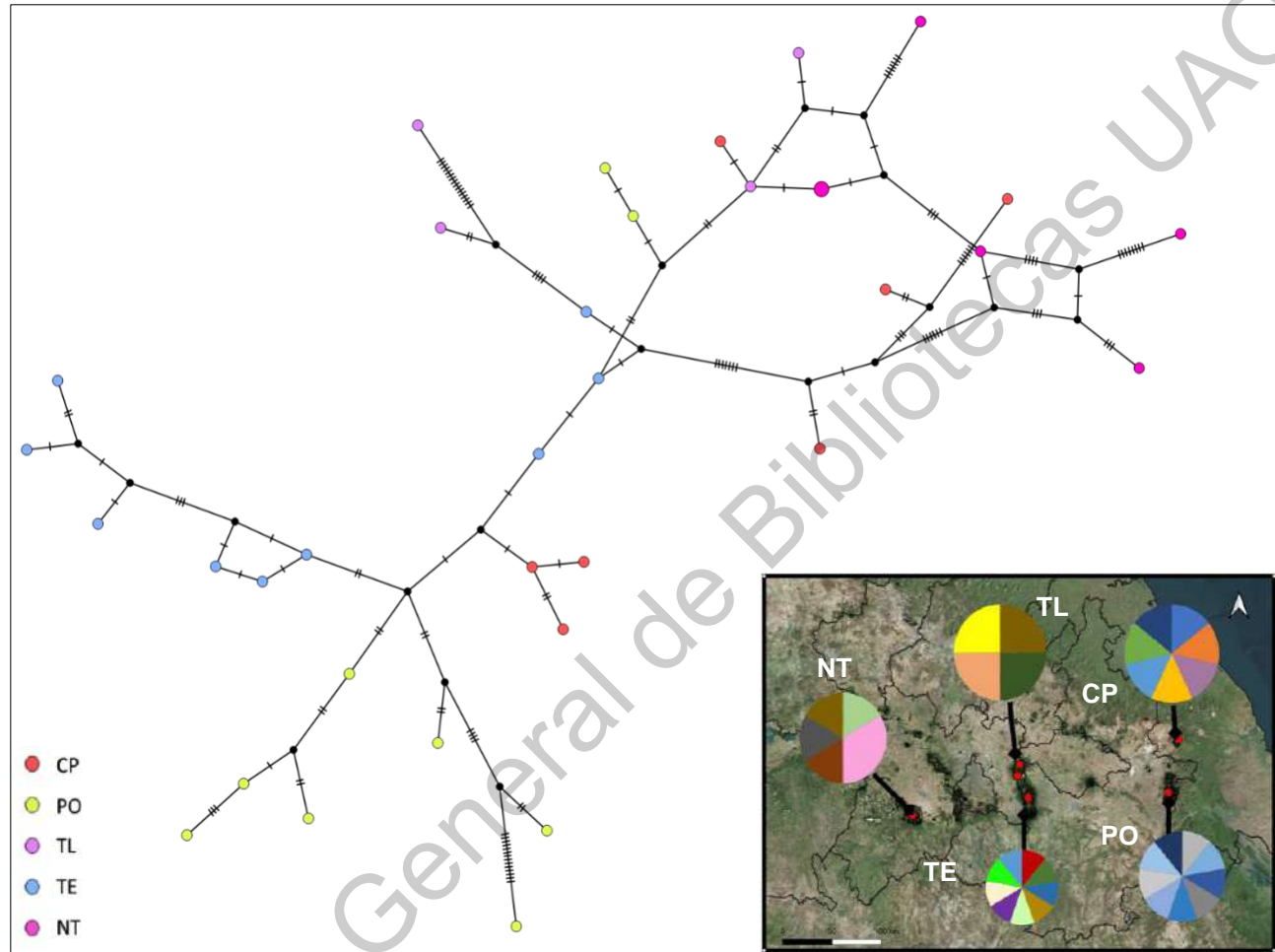


Figura 8. Red de haplotipos (TCS-Network) de *Draba jorullensis* del marcador *trnS-trnG*, los colores representan poblaciones (izquierda) y las proporciones de haplotipos en sus poblaciones, los colores representan haplotipos (derecha). El número total de haplotipos (h) fue de 34. CP=Cofre de Perote, PO=Pico de Orizaba, TL=Tiálóc, TE=Telapón, NT=Nevado de Toluca.

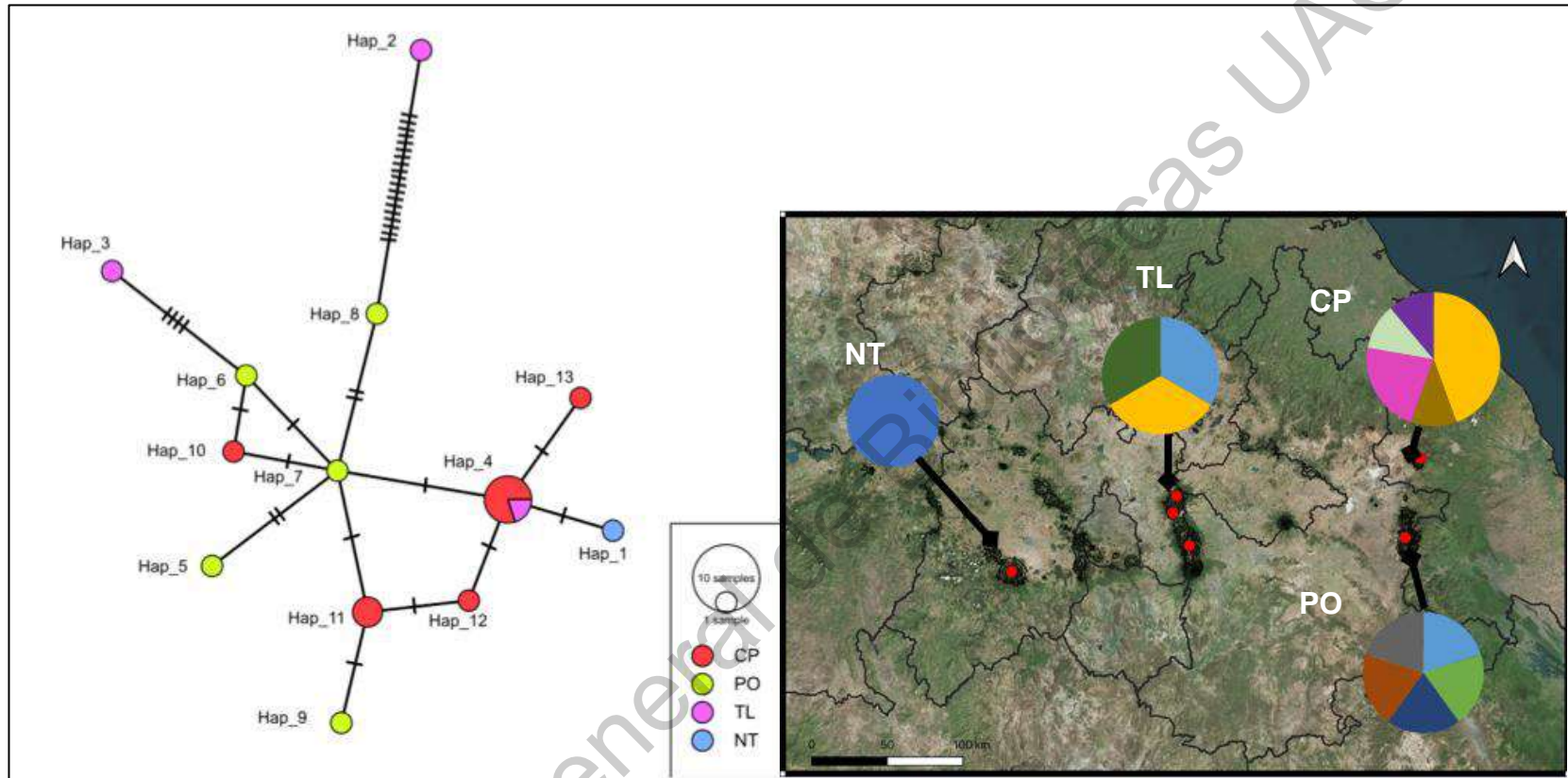


Figura 9. Red de haplotipos (TCS-Network) de *Draba nivicola* del marcador *matK-trnK*, los colores representan poblaciones (izquierda) y sus proporciones en cada población, los colores representan haplotipos (derecha). El número total de haplotipos de *D. nivicola* es $h=13$. CP=Cofre de Perote, PO=Pico de Orizaba, TL= Tlaloc, NT=Nevado de Toluca.

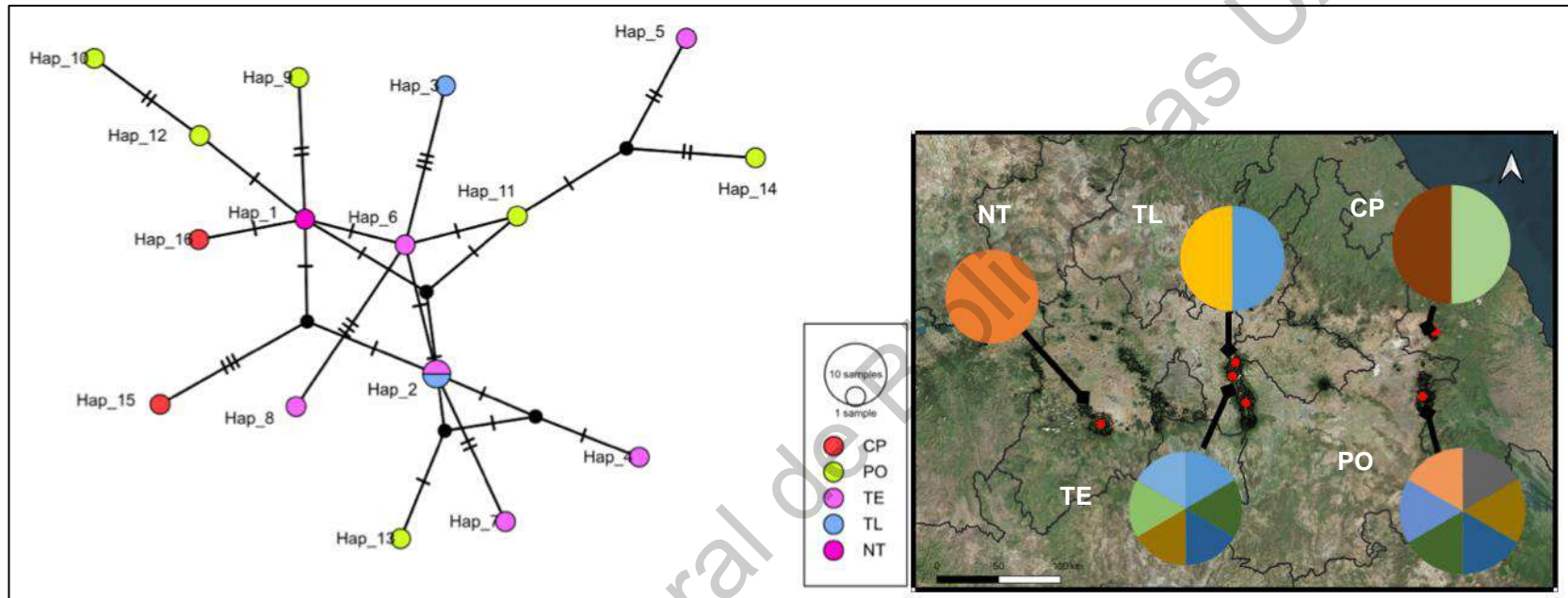


Figura 10. Red de haplotipos (TCS-Network) de *Draba jorullensis* del marcador *matK-trnK*, los colores representan poblaciones (izquierda). Y las proporciones de haplotipos en cada población, los colores representan haplotipos (derecha). El número total de haplotipos de *D. jorullensis* es $h=16$. CP=Cofre de Perote, PO=Pico de Orizaba, TL=Tiálloc, TE=Telapón, NT=Nevado de Toluca.

Cuadro 6. Análisis molecular de varianza (AMOVA) de *Draba nivicola* de los marcadores: *ITS*, *trnL-trnS-trnG* y *matK-trnK*.

Cuadro 6.1. AMOVA de *ITS*.

Fuente de variación	g.l.	Suma de cuadrados	Componentes de varianza	% Varianza
Entre grupos	3	2.681	0.06325	7
Entre poblaciones dentro de grupos	1	0.577	-0.07289	-8.07
Dentro de poblaciones	35	31.967	0.91333	101.7*
Total	39	35.225	0.90369	

*p <0.05, 4 grupos, basados en SAMOVA. g.l.=Grados de libertad.

Cuadro 6.2 AMOVA de *trnL-trnS-trnG*

Fuente de variación	g.l.	Suma de cuadrados	Componentes de varianza	% Varianza
Entre grupos	3	257.78	-1.7204	-6.58
Entre poblaciones dentro de grupos	1	56.94	9.69567	37.1
Dentro de poblaciones	34	617.5	18.16176	69.49*
Total	38	932.22	26.13703	

*p <0.05, 4 grupos, basados en SAMOVA. g.l.=Grados de libertad.

Cuadro 6.3 AMOVA de *matK-trnK*

Fuente de variación	g.l.	Suma de cuadrados	Componentes de varianza	% Varianza
Entre grupos	1	5.607	0.5435	20.31
Entre poblaciones dentro de grupos	1	2.265	0.0243	0.91*
Dentro de poblaciones	15	31.628	2.1085	78.78*
Total	17	39.5	2.67	

*p <0.05, 2 grupos: NT y TL como grupo Oeste y, PO y CP como grupo Este. g.l.=Grados de libertad.

Cuadro 7. Análisis Molecular de Varianza (AMOVA) de los marcadores *ITS*, *trnS-trnG* y *matK-trnK* de *Draba jorullensis*.

Cuadro 7.1 AMOVA de *ITS*.

Fuente de variación	g.l.	Suma de cuadrados	Componentes de varianza	% Varianza
Entre grupos	3	7.201	-0.19046	-10.36
Entre poblaciones dentro de grupos	1	2.7	0.30514	16.6
Dentro de poblaciones	27	46.53	1.72356	93.76*
Total	31	56.431	1.83824	

*p <0.05, 4 grupos, basados en SAMOVA. g.l.=Grados de libertad.

Cuadro 7.2 AMOVA de *trnS-trnG*.

Fuente de variación	g.l.	Suma de cuadrados	Componentes de varianza	% Varianza
Entre grupos	3	62.627	0.6598	9.06
Entre poblaciones dentro de grupos	1	11.55	1.29676	17.81*
Dentro de poblaciones	30	159.76	5.32553	73.13*
Total	34	233.937	7.28209	

*p <0.05, 4 grupos, basados en SAMOVA. g.l.=Grados de libertad.

Cuadro 7.3 AMOVA de *matK-trnK*.

Fuente de variación	g.l.	Suma de cuadrados	Componentes de varianza	% Varianza
Entre grupos	1	3.98	0.3059	13.35
Entre poblaciones dentro de grupos	1	1.66	-0.1064	-4.64
Dentro de poblaciones	14	29.29	2.092	91.29*
Total	16	34.94	2.29	

*p <0.05, 2 grupos. NT, TL y TE como grupo Eeste, y PO y CP como grupo Este. g.l.=Grados de libertad. NT=Nevado de Toluca, TL=TIáloc, TE=Telapón, PO=Pico de Orizaba, CP=Cofre de Perote.

Cuadro 8. Índices de fijación de ambas especies.

<i>Draba nivicola</i>			
Marcador	F_{CT}	F_{SC}	F_{ST}
<i>ITS</i>	0.069	-0.0867	-0.0106
<i>trnL-trnS-trnG</i>	-0.6581	0.34805	0.30514*
<i>matK-trnK</i>	0.20308	0.01142*	0.21218*
<i>Draba jorullensis</i>			
<i>ITS</i>	0.15041	0.06238	-0.10361
<i>trnS-trnG</i>	0.09062	0.19582*	0.26689*
<i>matK-trnK</i>	0.1335	-0.05358	0.08707

*p <0.05, basados en los resultados de los análisis moleculares de varianza (Cuadros 6 y 7).

Cuadro 9. Valores de F_{ST} para *D. nivicola* y *D. jorullensis* por población obtenidos en Arlequin.

<i>Draba nivicola</i>			
Población	<i>ITS</i>	<i>trnL-trnS-trnG</i>	<i>matK-trnK</i>
NT	0.03185	0.39333	-0.1566
TL	-0.07601	0.27316	
IZ	-0.01143	0.31858	-
PO	-0.03115	0.3339	0.1897
CP	0.05619	0.2994	0.2317
<i>Draba jorullensis</i>			
Población	<i>ITS</i>	<i>trnS-trnG</i>	<i>matK-trnK</i>
NT	0.00273	0.27079	0.12495
TL	0.20164	0.22151	
TE	0.13995	0.30231	0.0621
PO	0.07951	0.25893	0.03837
CP	0.01959	0.24657	

Los valores en negritas de *matK-trnK* para *D. nivicola* y *trnS-trnG* de *D. jorullensis* significan que son significativos, basados en los resultados del AMOVA de F_{SC}.

NT=Nevado de Toluca, TL=Tiáloc, TE=Telapón, IZ= Iztaccíhuatl, PO=Pico de Orizaba, CP=Cofre de Perote.

2. Historia genealógica mediante IB.

Las estimaciones de tiempo y divergencia basadas en la matriz de *ITS* que incluyen a ambas especies más seis especies como grupos externos, sugieren que la separación de las tres secuencias del género *Draba* de su pariente más lejano, *Arabis turrata*, ocurrió hace 470,000 años (0.47 Ma). La separación de la especie asiática *D. nemorosa* de las especies de *Draba* en América, ocurrió hace 0.22 Ma, mientras que el tiempo de divergencia de *D. cuneifolia* y *D. platycarpa* del resto de las especies americanas es de 0.1613 Ma. Actualmente, *D. platycarpa* y *D. cuneifolia* fueron asignadas al género *Tomostina* de acuerdo con Jordon-Thaden (2010), la información revelada en este análisis bayesiano, separa a estas dos especies del resto de las americanas, y establece un tiempo de divergencia de 0.09 Ma. Los tiempos de divergencia entre las especies norteamericanas con el resto de las especies de *Draba* de la FVTM, coincide con el último período glacial (Glaciación de Wisconsin, Enriquez de Salamanca, 2011), que ocurrió hace 20,000 años aproximadamente, ya que el clado de *D. nivicola* se muestra con una edad de 0.025 Ma. Por otra parte, aunque la topología de este árbol no resuelve la monofilia de *D. jorullensis* con respecto a *D. nivicola*. Se puede considerar a este clado es joven, ya que surge hace 0.056 Ma, de acuerdo con estas estimaciones en MrBayes. Y además algunas de las secuencias de *D. jorullensis* del Cofre de Perote tienen una edad de divergencia entre 0.01 y 0.007 Ma, y otras del Nevado de Toluca de 0.009 Ma (Figura 11).

En cambio, la historia de divergencia de los marcadores de cloroplasto es un poco diferente. El árbol arrojado del marcador *trnL*, muestra dos clados separados hace 2.4 Ma. El clado que incluye a la especie menos relacionada (*Arabis turrata*), se agrupa junto con la especie asiática (*Draba nemorosa*) y *Draba (Tomostina) platycarpa*. Este clado divergió hace 0.3 Ma. Mientras que el clado que comprende a *D. jorullensis* y *D. nivicola*, y las otras especies americanas (*D. cuneifolia* var. *sonorae*, *D. cuneifolia*, *D. helleriana* y *D. aurea*), divergió hace 0.083 Ma. El tiempo

de divergencia para las dos especies de interés en este estudio es de 0.0321 Ma (32,000 años) aproximadamente (Figura 12).

De manera similar para el marcador *matK-trnK*, las secuencias obtenidas fueron menores a la longitud esperada. La edad sugerida de divergencia entre *D. nivicola* y *D. jorullensis* del resto del grupo externo fue de 2.6 Ma. La edad de divergencia entre la mayoría de las secuencias tanto de *D. nivicola* como de *D. jorullensis* es de 0.055 Ma (55,000 años) y no hay una separación clara entre estas, sin embargo, hay una secuencia de *D. nivicola* de la población Tláloc que diverge aproximadamente 150,000 años (0.149 Ma) del resto (Figura 14).

Adicionalmente, la genealogía basada en el marcador *trnS-trnG*, muestra que no hay una clara separación entre *D. jorullensis* y *D. nivicola*. El clado que comprende tanto a *D. nemorosa*, *D. jorullensis* y *D. nivicola*, surgió aproximadamente hace 1.2 Ma y la separación con las secuencias de *Lepidum* spp., ocurrió hace 1.8 Ma. A pesar de que no hay una clara separación entre ambas especies, hubo diferencias de edades de divergencia para algunas poblaciones. Por ejemplo, se sugiere que las secuencias de *D. nivicola*, del Cofre de Perote y Pico de Orizaba, surgieron entre 800,000 y 600,000 años atrás, en comparación con las mismas poblaciones pero de *D. jorullensis*, las cuales ocurrieron entre 370,000 y 220,000 años atrás respectivamente. Las secuencias más recientes para ambas especies oscilan entre los 60,000 (0.06 Ma) y 15,000 años (0.015 Ma). Algunas secuencias, sobre todo del Nevado de Toluca y del Cofre de Perote de *D. nivicola*, quedan sin resolver, y de manera similar, algunas secuencias del Nevado de Toluca y Pico de Orizaba para *D. jorullensis* quedaron sin resolver (Figura 13).

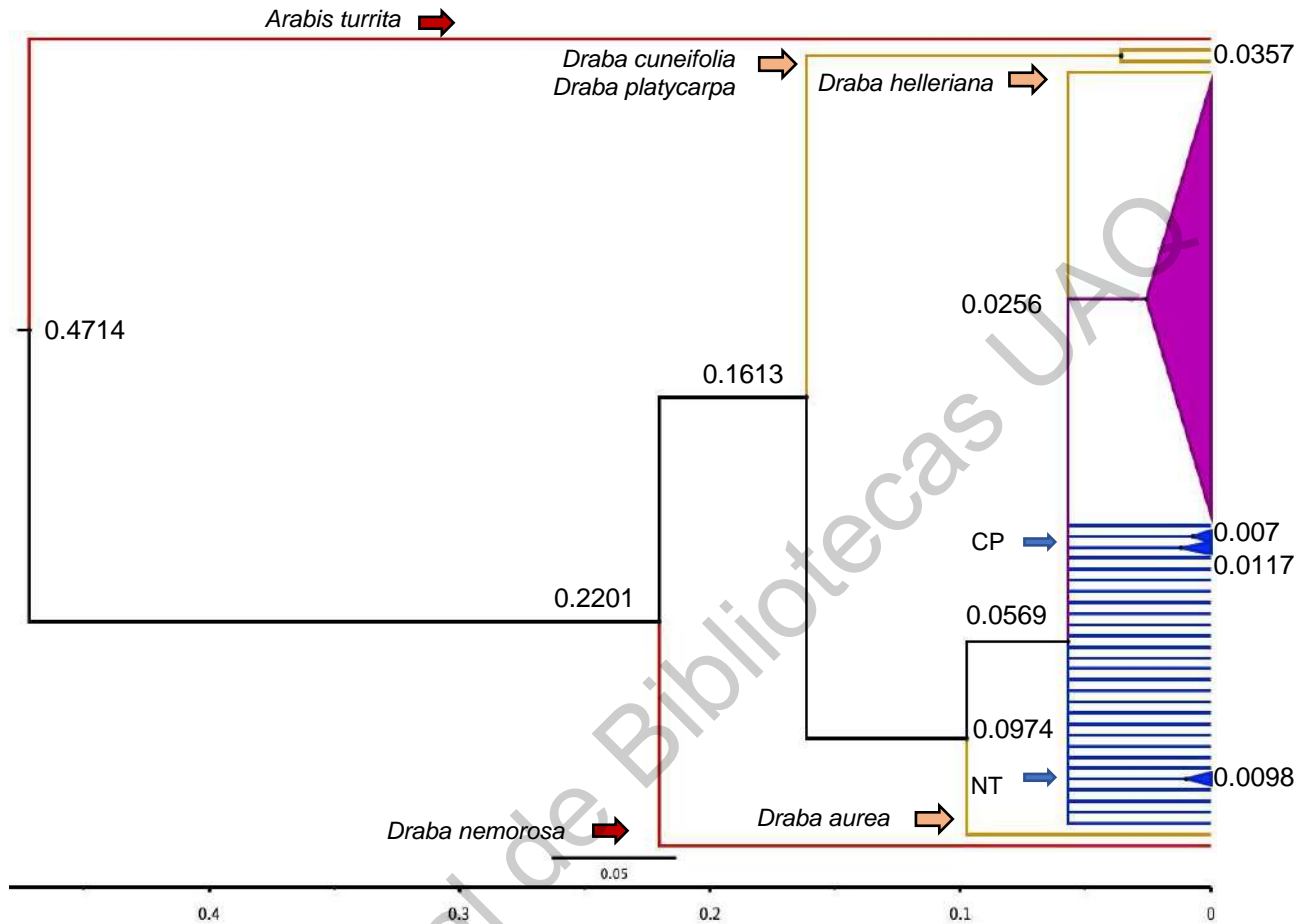


Figura 11. Relaciones genealógicas establecidas por el marcador nuclear *ITS* de ambas especies en el programa MrBayes. *Arabis turrata*, *D. platycarpa*, *D. cuneifolia*, *D. helleriana*, *D. aurea* y *D. nemorosa* conforman el grupo externo. La escala del eje inferior representa millones de años. Los taxa de color azul representan a *D. jorullensis* y los de color rosa a *D. nivicola*. Las etiquetas de los nodos corresponden a la edad del clado.

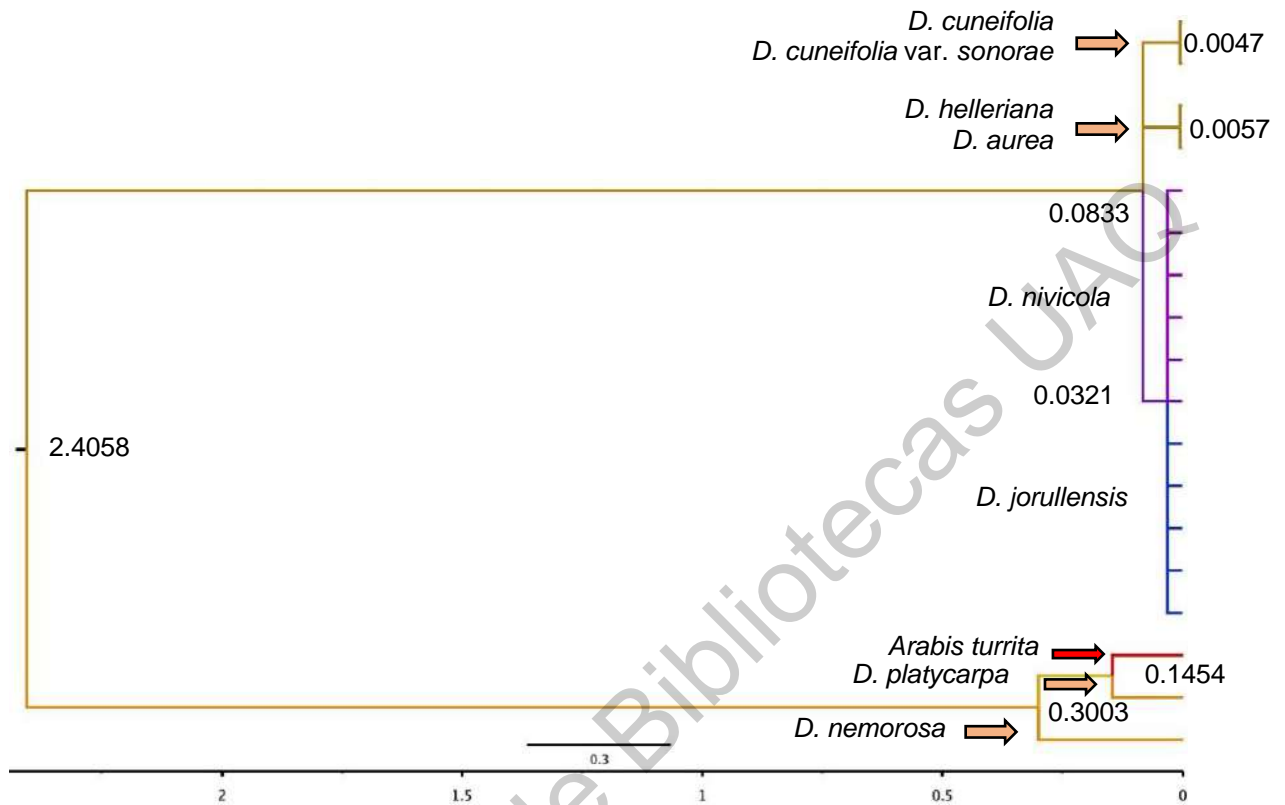


Figura 12. Relaciones genealógicas establecidas por el marcador de cloroplasto *trnL* (sección C-D) de ambas especies en el programa MrBayes. *Arabis turrita*, *D. platycarpa*, *D. nemorosa*, *D. helleriana*, *D. aurea*, *D. cuneifolia* y *D. cuneifolia var. sonora* conforman el grupo externo. La escala del eje inferior representa millones de años. Las etiquetas de los nodos corresponden a la edad del clado.

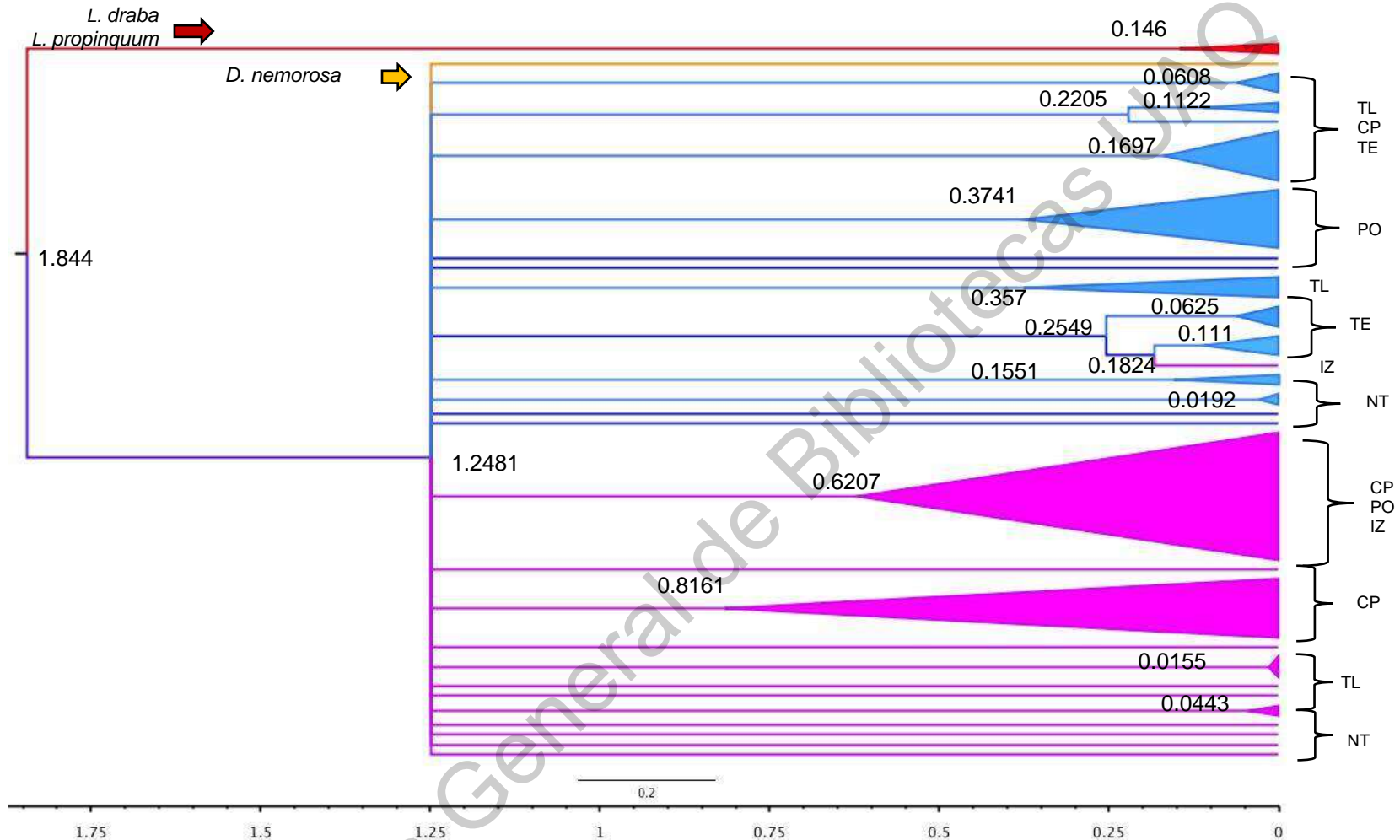


Figura 13. Relaciones genealógicas establecidas por el marcador de cloroplasto *trnS-trnG* de ambas especies en el programa MrBayes. *Draba nemorosa*, fue incluida como especie hermana de *D. nivicola* y *D. jorullensis*, mientras que *Lepidium draba* y *L. propinquum* funcionan como otro grupo externo. Taxa de color rosa=*D. nivicola*. Taxa de color azul=*D. jorullensis*. NT=Nevado de Toluca, IZ=Iztaccíhuatl, TE=Telapón, TL=Tiáloc, CP=Cofre de Perote, PO=Pico Orizaba. La escala del eje inferior representa millones de años. Etiquetas de los nodos representand la edad de clado en Ma.

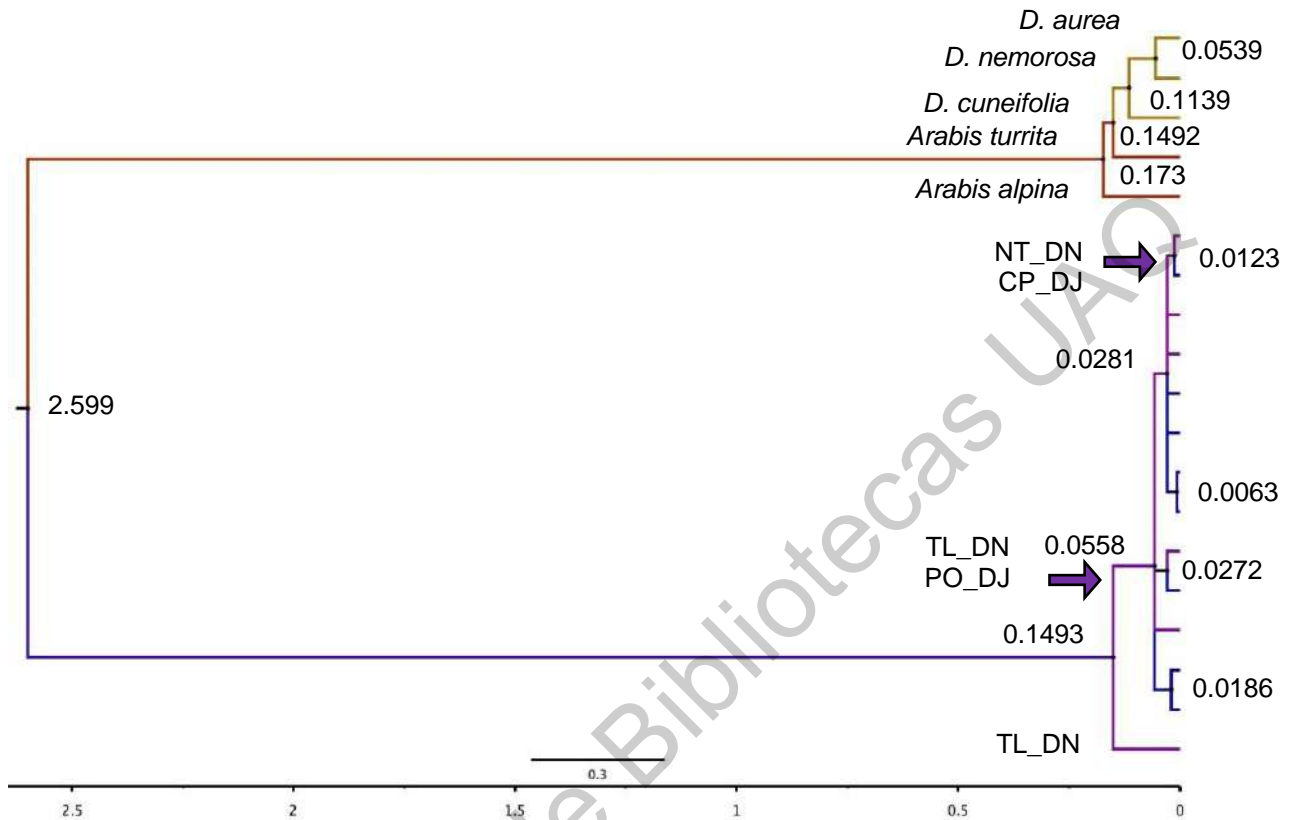


Figura 14. Relaciones genealógicas establecidas por el marcador de cloroplasto *matK-trnK* de ambas especies en el programa MrBayes. El grupo externo está conformado por: *Arabis turrata*, *A. alpina*, *Draba cuneifolia*, *D. nemorosa* y *D. aurea*. La escala del eje inferior representa millones de años. Las etiquetas en los nodos corresponden a la edad del clado en Ma. NT=Nevado de Toluca, CP= Cofre de Perote, TL=Tiálloc, DJ= *Draba jorullensis*, DN= *Draba nivicola*.

Historia demográfica de las poblaciones de *Draba* en la FVTM

De manera complementaria a la historia genealógica de las poblaciones de ambas especies con base en los marcadores moleculares (*ITS*, *trnS-trnG* y *matK-trnK*), se evaluó la historia demográfica de estas. La Figura 15, muestra que en el caso de *ITS*, las poblaciones de *D. nivicola* (A) y *D. jorullensis* (B), tuvieron una ligera contracción en sus poblaciones durante los 10,500 y 5000 años (para el caso de *D. nivicola*) y entre 40,000 y 10,000 (para el caso de *D. jorullensis*), retomando en los últimos 10,000 un crecimiento de las poblaciones.

De manera semejante sucede lo mismo para el marcador *trnS-trnG*, en la que se observa una contracción poblacional en los últimos 24,000 años (0.024 Ma), más marcada para *D. jorullensis* (Figura 16 B) que para *D. nivicola*. Esta última muestra una ligera contracción demográfica desde los últimos 10,000 años. Antes de eso, las poblaciones se mantienen sin cambios (Figura 16 A).

Finalmente, para el caso del marcador *matK-trnK*, las poblaciones de *D. nivicola*. (Figura 17 A), se observó una contracción demográfica en los últimos 1,000 años (0.001 Ma). Se observa un patrón similar para *D. jorullensis* (Figura 17 B), hace 750,000 años comenzó una contracción demográfica y en los últimos 20,000 años se observa sin cambios.

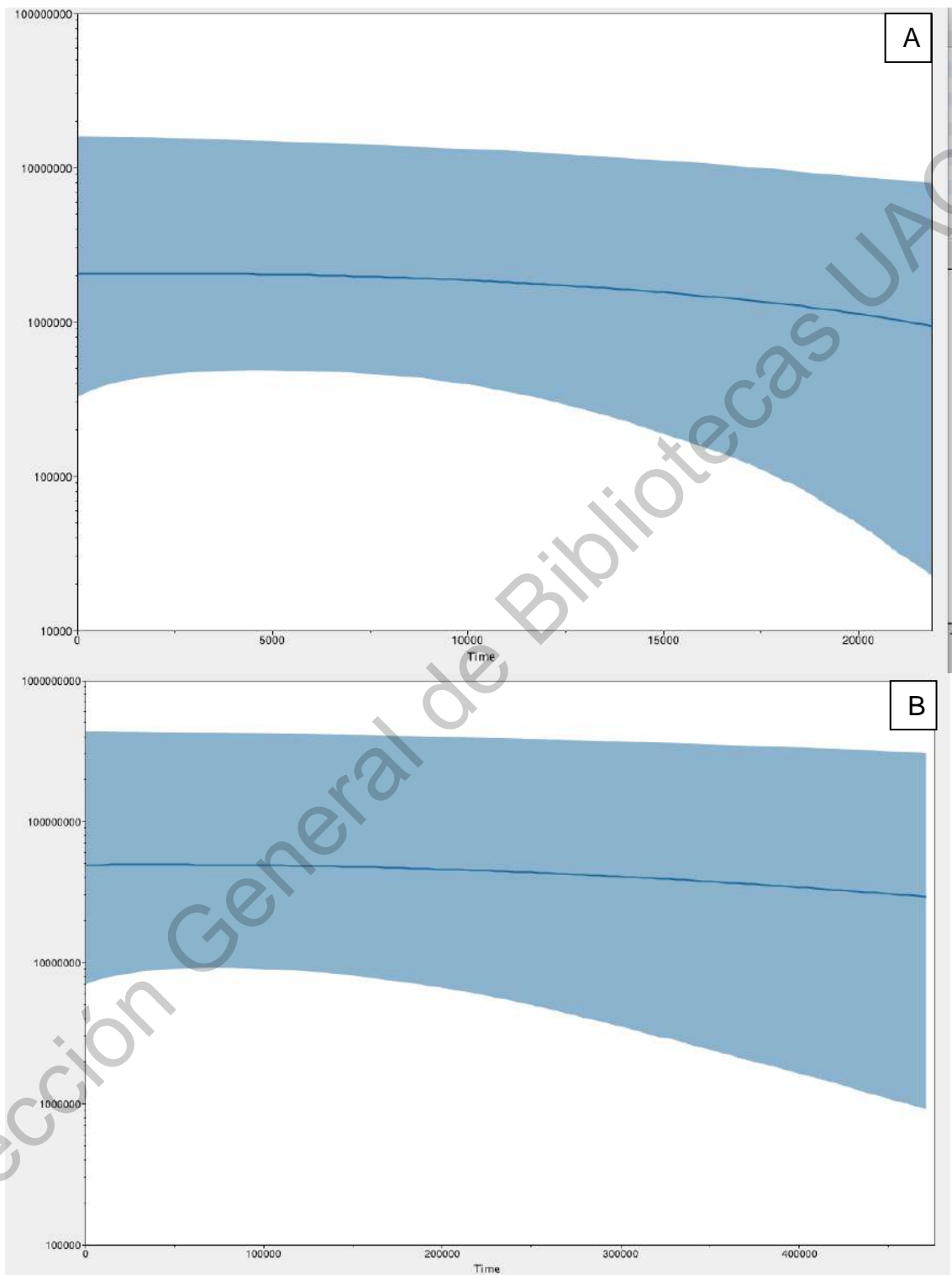


Figura 15. Gráficos de 'skyline' generados con el marcador nuclear *ITS*, el eje x corresponde al tiempo medido en años mientras que el eje y, al número de generaciones. A) *Draba nivicola* y B) *Draba jorullensis*.

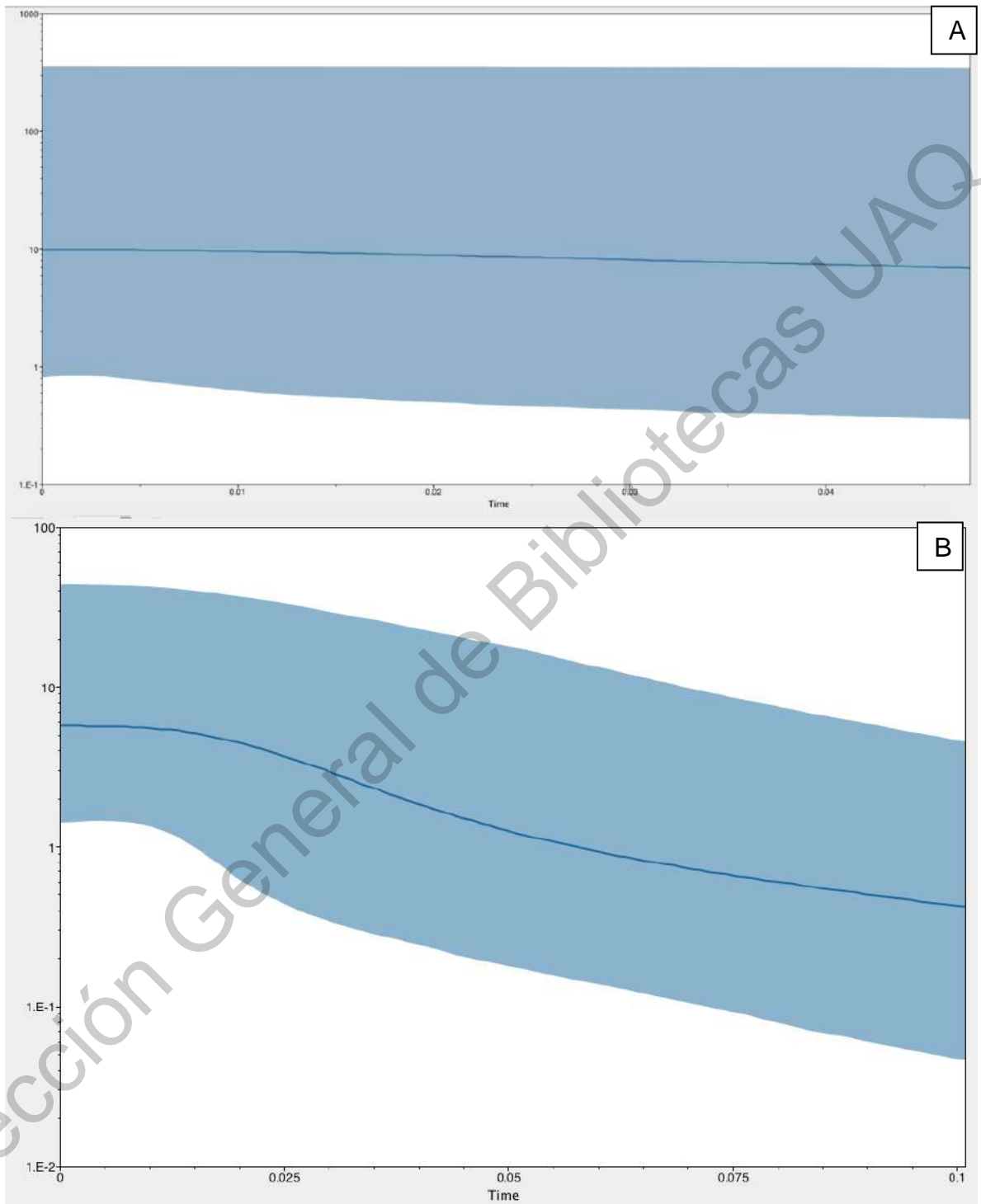


Figura 16. Gráficos de 'skyline' generados con el marcador de cloroplasto *trnS-trnG*, el eje x corresponde al tiempo medido en millones de años mientras que el eje y, al número de generaciones. A) *Draba nivicola* y B) *Draba jorullensis*.

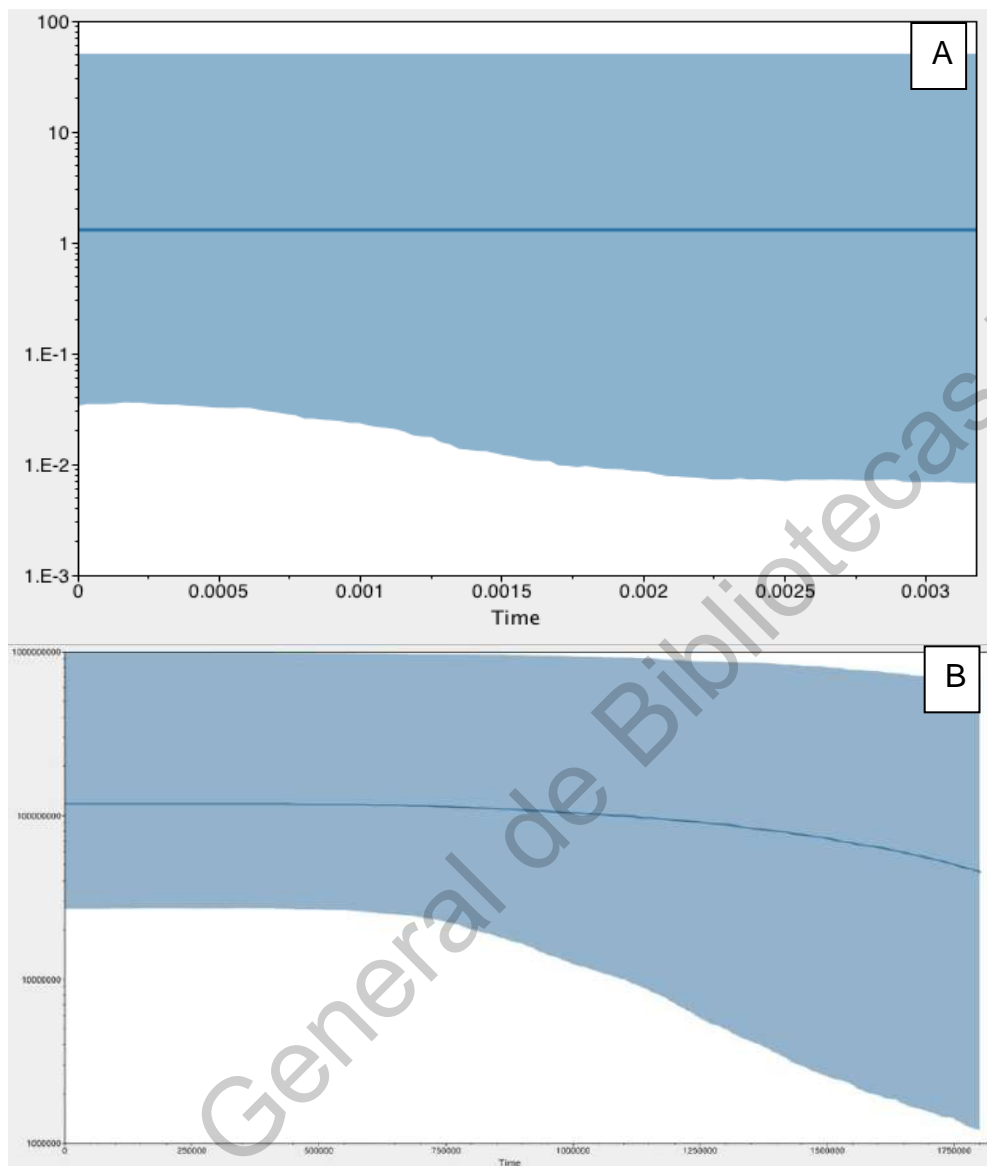


Figura 17. Gráficos de 'skyline' generados con el marcador de cloroplasto *matK-trnK*, el eje x corresponde al tiempo medido en millones y miles de años respectivamente, mientras que el eje y, al número de generaciones. A) *Draba nivicola* y B) *Draba jorullensis*.

3. Descripción y análisis de caracteres morfológicos

De manera complementaria a los análisis anteriores, los caracteres medidos en las hojas de ambas especies se analizaron para distinguir distintos fenotipos entre poblaciones. Aunque hay diferentes fenotipos entre poblaciones de ambas especies, ninguno fue único a una localidad. Las láminas foliares de *Draba nivicola* miden longitudinalmente 1.58 ± 0.5 cm y de ancho 0.37 ± 0.08 cm, y en la base miden 0.25 ± 0.07 cm. También se observaron tres fenotipos distintos: pelo ausente en envés (cero pelos en un mm^2) y haz, pelo escaso (de 5 a 10 pelos por mm^2) sólo en el raquis y pelo abundante (más de 50 pelos por mm^2) en ambos lados de la lámina (Figura 18). Se observaron tricomas en la parte basal de las hojas, así como en el margen y ápice. Los tricomas basales miden 0.30 ± 0.1 mm, los tricomas del margen son similares y miden 0.29 ± 0.08 mm mientras que los tricomas apicales 0.21 ± 0.08 mm.

Los tricomas son de tipo dendrítico, con un tronco basal más corto que sus ramas. En la mayoría, los tricomas tienen un tronco con 5 ó 4 ramificaciones y en cada ramificación hay una bifurcación. En promedio los troncos de los tricomas miden 49.56 ± 15.39 μm y las ramas 107.19 ± 28.26 μm (Figura 20). Se observaron al MEB estomas anisocíticos de 10.09 ± 1.47 μm de longitud.

Similarmente, las láminas de *Draba jorullensis* miden longitudinalmente 1.99 ± 0.6 cm, de ancho 0.55 ± 0.14 cm, y la parte basal 0.27 ± 0.08 cm. Se observaron tricomas de dos tipos en el margen, haz y envés. Los tricomas son de tipo simple y bifurcados. La longitud de los tricomas simples de la parte basal de las hojas es de 0.86 ± 0.32 mm. Los tricomas marginales de la parte medial y apical miden 0.67 ± 0.2 mm. Los tricomas bifurcados miden 0.16 ± 0.1 mm en la parte basal y las ramas bifurcadas, casi siempre iguales en tamaño miden 0.21 ± 0.07 mm de longitud. De igual manera que con *D. nivicola*, en *Draba jorullensis* también se observaron tres fenotipos de presencia o ausencia de tricomas (Figura 19; Figura 21). Los estomas observados al MEB, de tipo anisocítico, miden 10.31 ± 2.03 μm .

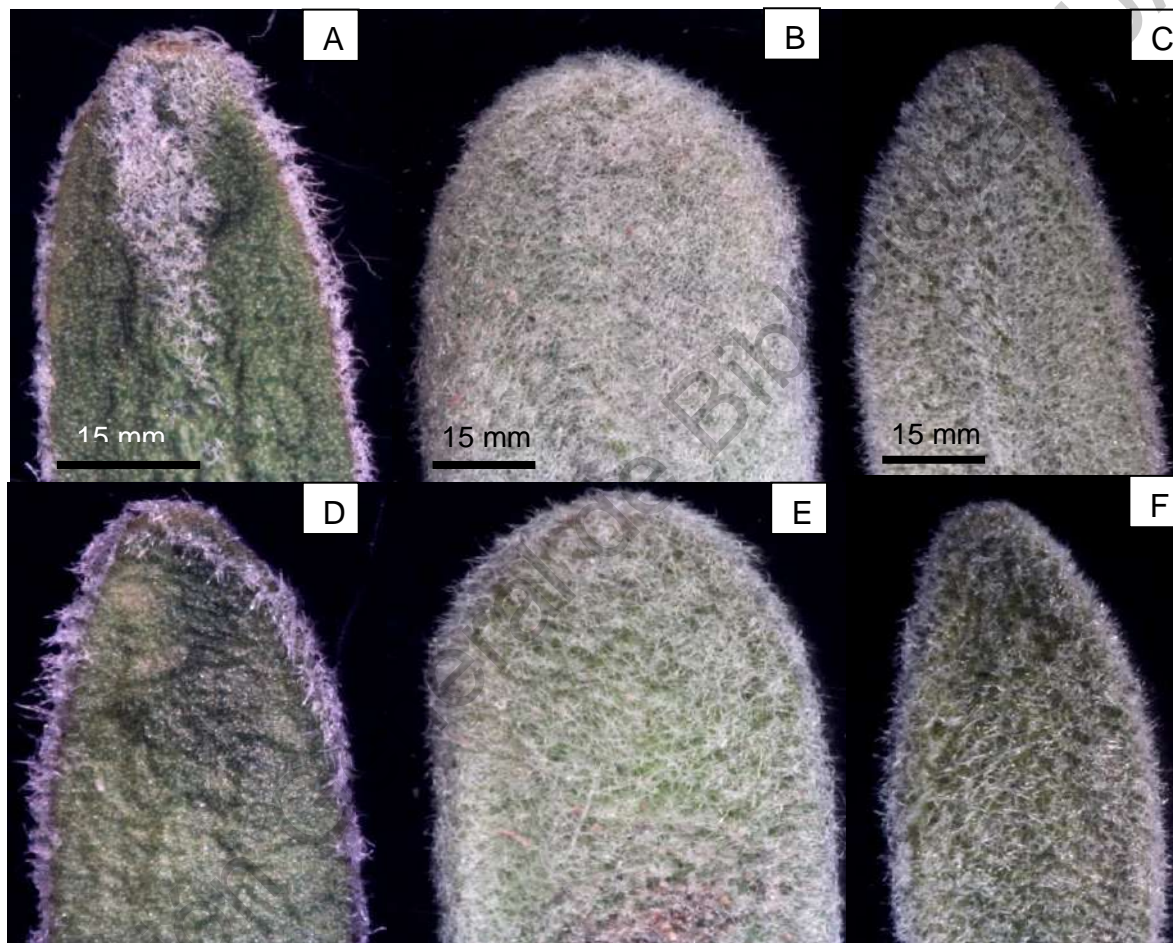


Figura 18. Hojas de *Draba nivicola* al microscopio óptico. Parte superior envés, parte inferior haz. A) y D) Tlálloc, B) y E) Cofre de Perote, C) y F) Pico de Orizaba.

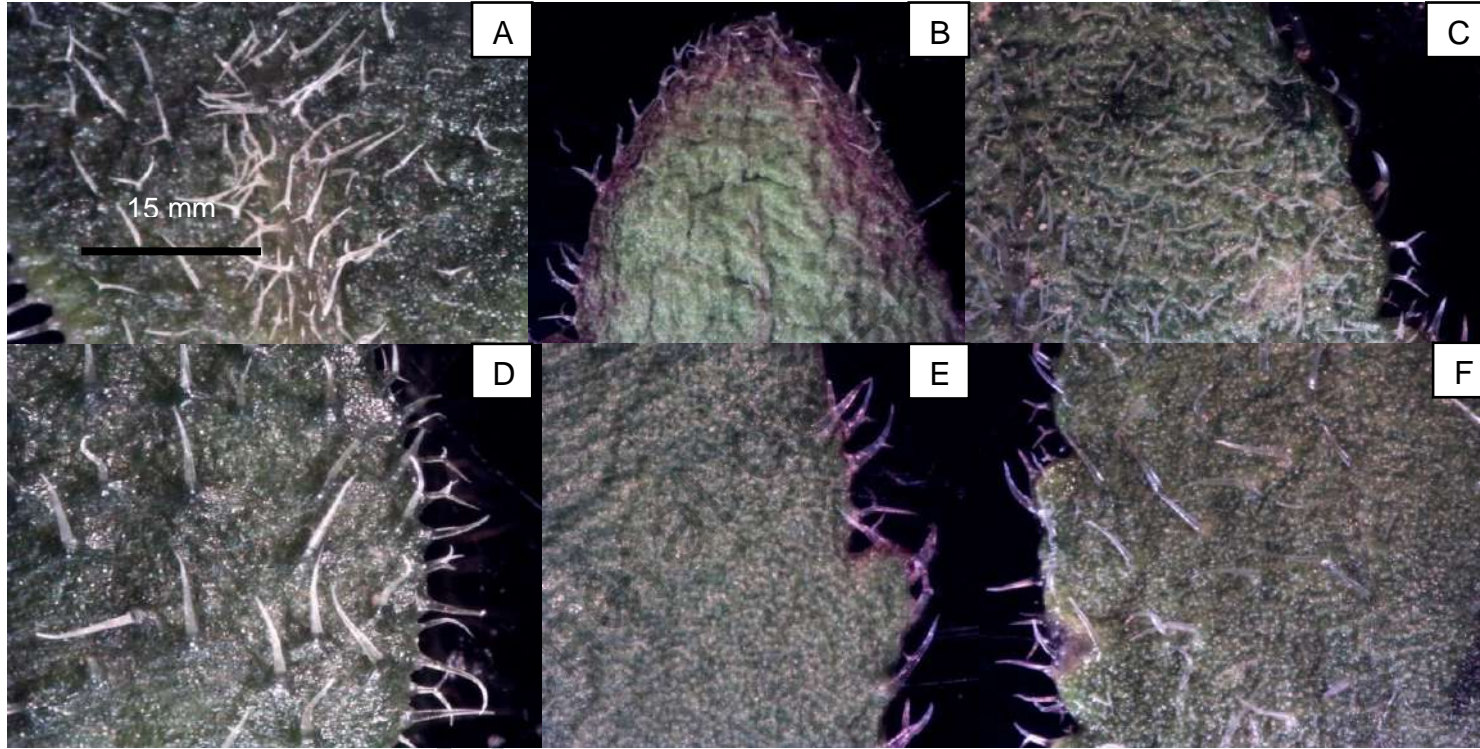


Figura 19. Hojas de *Draba jorullensis* al microscopio óptico. Parte superior, envés, parte inferior, haz. A y D, Nevado de Toluca, B y E, Cofre de Perote, C y F, Telapón. Se observan dos fenotipos: glabro (B y E) e hirsuto (A, D, C y F).

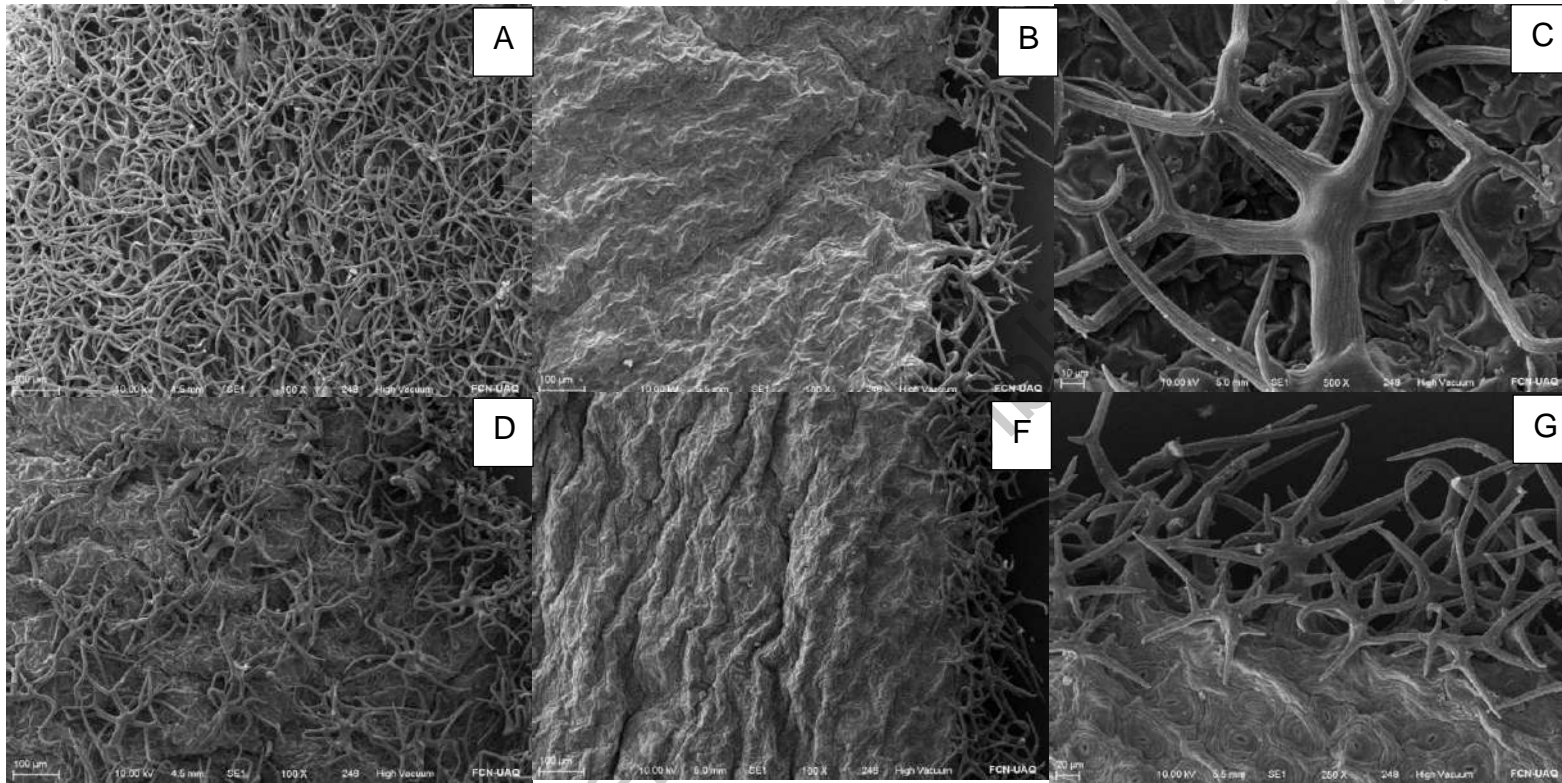


Figura 20. Hojas de *Draba nivicola* al MEB; Parte superior, envés, parte inferior, haz. A y D, Cofre de Perote; B y F, Nevado de Toluca; C Pelo dendrítico de A; G pelo dendrítico de B.

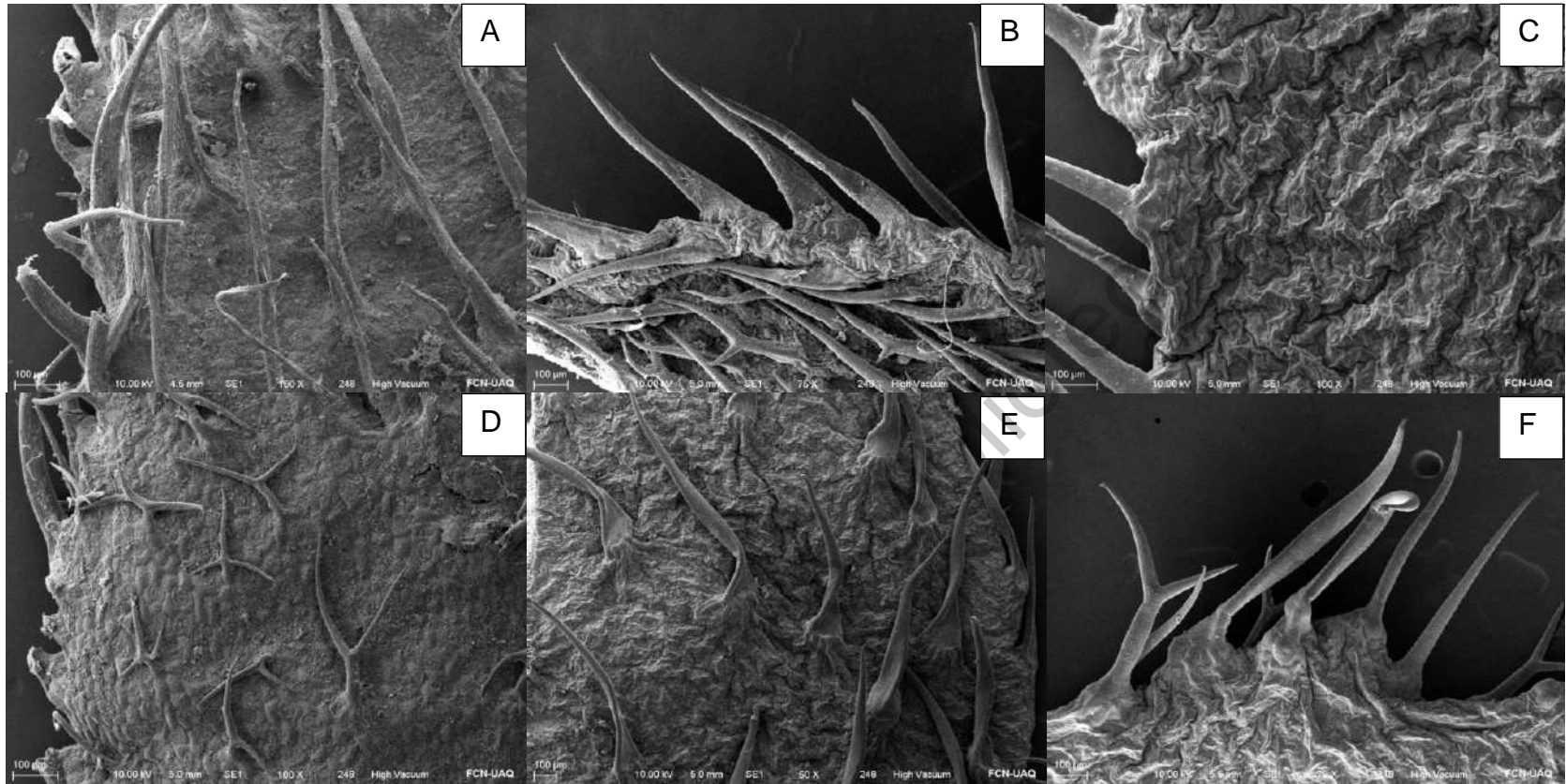


Figura 21. Hojas de *Draba jorullensis* al MEB. Parte superior, envés, parte inferior, haz; A y D, Nevado de Toluca; B y E, Tlálloc; C y F, Cofre de Perote.

Dirección General

El análisis de componentes principales (ACP) de *Draba jorullensis* (Figura 22), mostró que tres componentes principales explican la mayoría de la variación. El primer componente principal concentra 41.3% de la variación total ($\chi^2=52.01$, $p<0.0001$) el segundo componente explica en un 25.6% la variación ($\chi^2=28.8$, $p<0.0007$) y el tercer componente en un 17.65% ($\chi^2=15.09$, $p<0.01$). Además, el agrupamiento jerárquico (método Ward) con base en los caracteres medidos, muestra que se forman cinco grupos, pero no hay agrupamiento de acuerdo con su geografía (Figura 23).

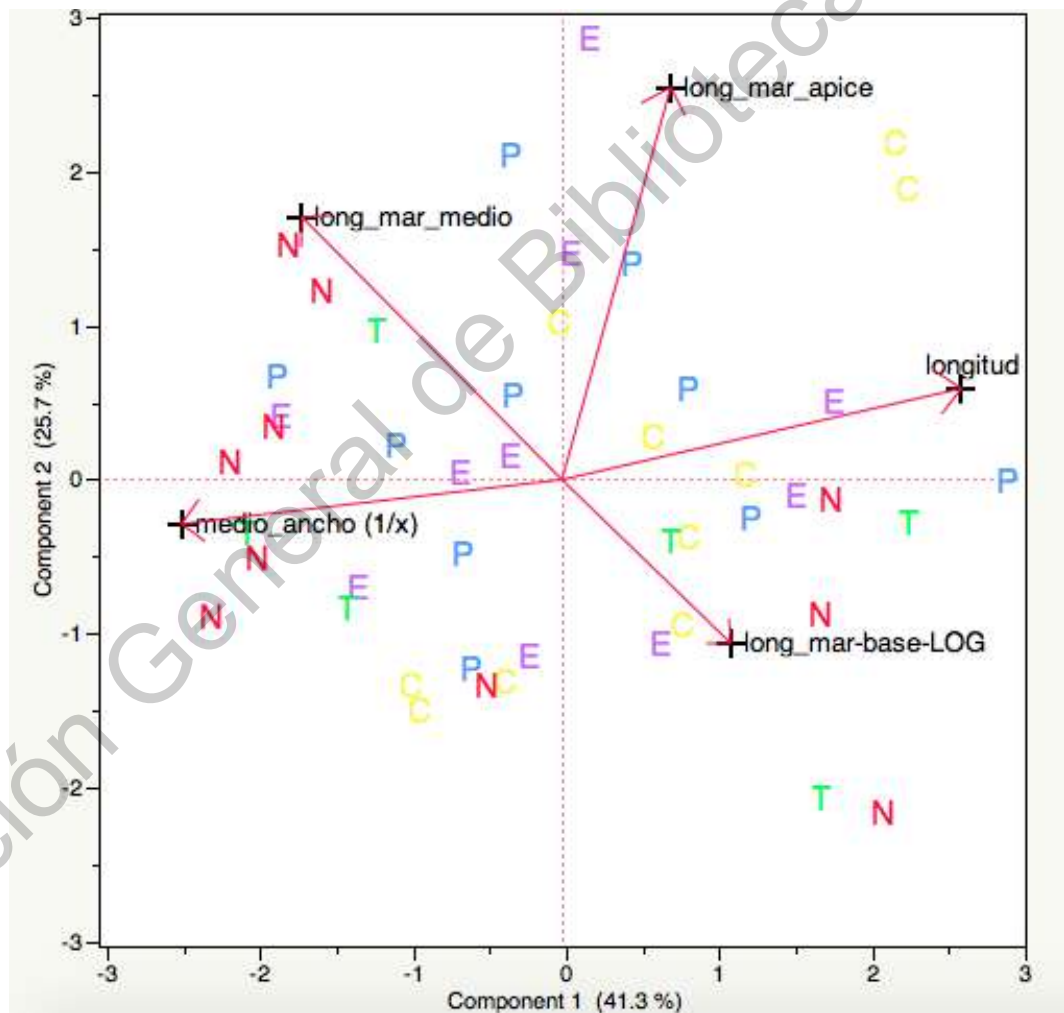


Figura 22. Ordenamiento de los componentes principales de las variables morfológicas de *D. jorullensis*. N= Nevado de Toluca, T=Tiálóc, E=Telapón, P=Pico de Orizaba y C=Cofre de Perote.

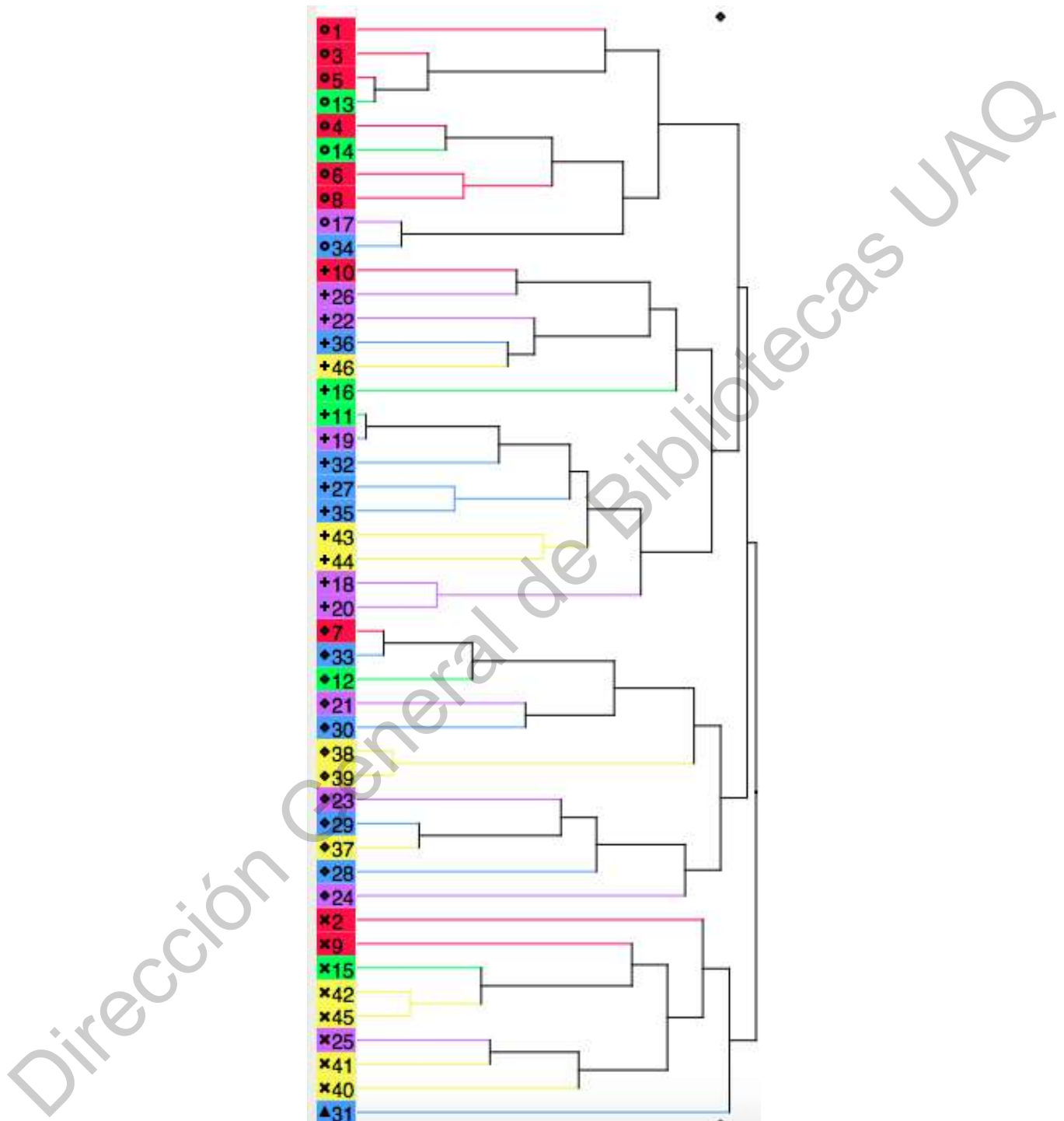


Figura 23. Dendrograma de los caracteres morfológicos de *D. jorullensis*. Se agruparon en 5 clústers ($k=5$). El color rojo corresponde a Nevado de Toluca, el morado a Telapón, el verde a Tláloc, el azul a Pico de Orizaba, el amarillo a Cofre de Perote. Los grupos están marcados con un símbolo.

El ACP de *D. nivicola* resultó en tres componentes principales que explican la mayoría de la variación (Figura 24). El primer componente principal explica el 52.8% de la variación total ($\chi^2=31.4$, $p>0.0002$), el segundo componente concentra un 20.9% de la variación ($\chi^2=4.39$, $p>0.4$) y el tercer componente explica un 15.2% de la variación total ($\chi^2=1.15$, $p>0.5$). De igual manera que con *D. jorullensis*, el agrupamiento jerárquico (método Ward) con base en los caracteres medidos, muestra que se forman cinco grupos, pero no hay agrupamiento de acuerdo con su geografía (Figura 25).

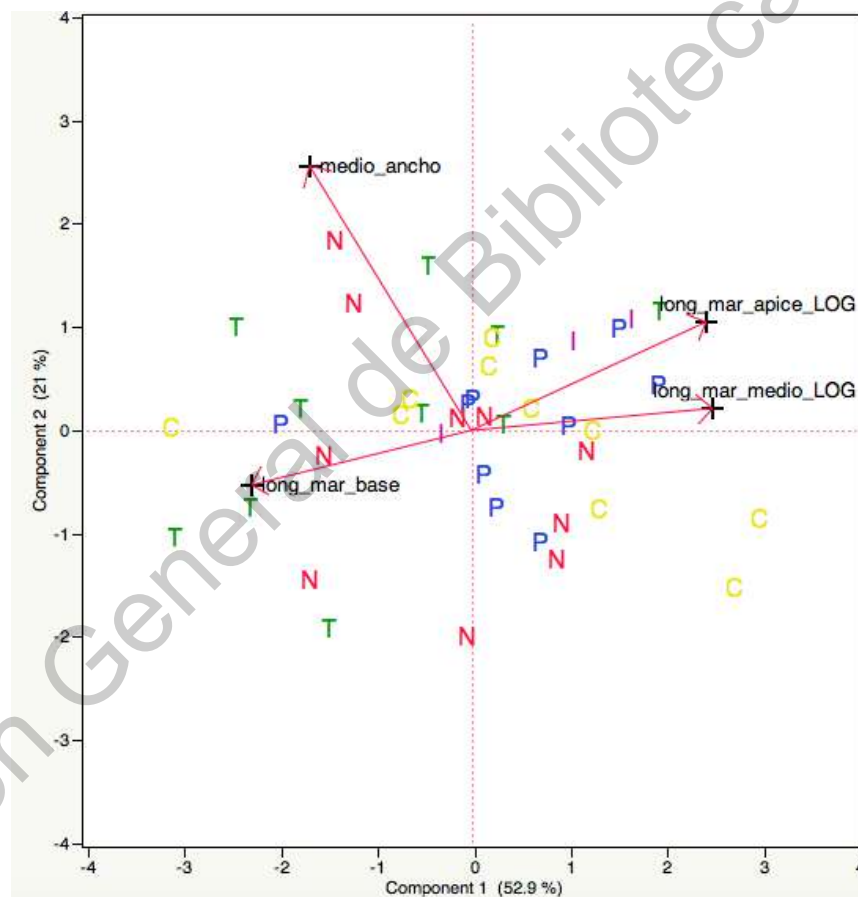


Figura 24. Ordenamiento de los componentes principales de las variables morfológicas de *D. nivicola*. N=Nevado de Toluca, T=Tiálloc, I=Iztaccíhuatl, P=Pico de Orizaba y C=Cofre de Perote.

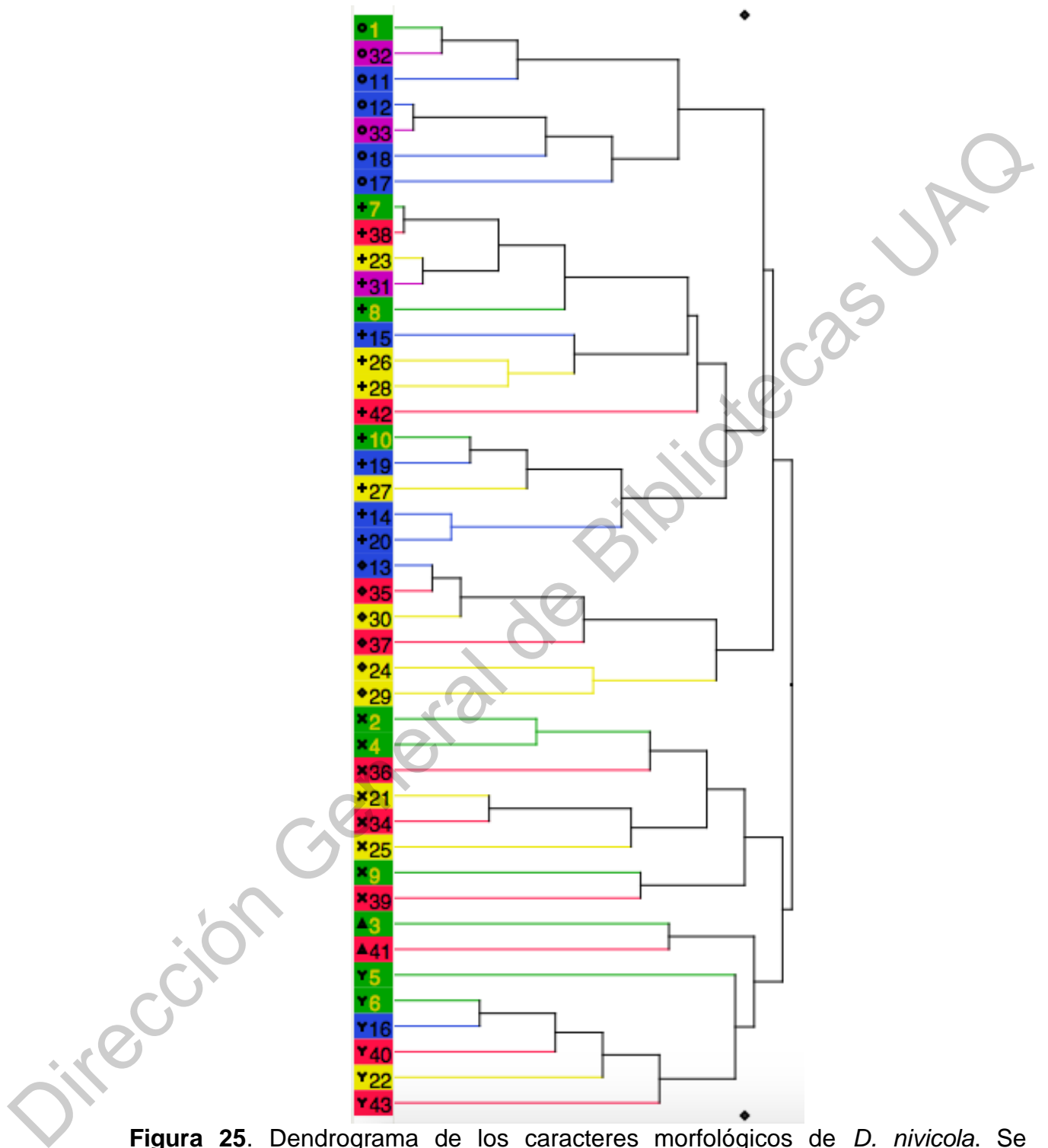


Figura 25. Dendrograma de los caracteres morfológicos de *D. nivicola*. Se agruparon en 5 clústers (k=5). El color rojo corresponde a Nevado de Toluca, el morado a Iztaccíhuatl, el verde a Tláloc, el azul a Pico de Orizaba, el amarillo a Cofre de Perote. Los grupos están marcados con un símbolo.

VII. Discusión

1. Historia evolutiva a través de la estructura genética.

Los análisis hechos revelan que no hay una estructura filogeográfica de las poblaciones de estas especies herbáceas perennes. En contraste con lo que se ha encontrado para otras especies alpinas de la misma familia, como *Arabis alpina* (Koch *et al.* 2006; Assefa *et al.* 2007).

La diversidad genética dentro de las poblaciones de las especies de *Draba* es mayor que la diversidad entre ellas. Esto es diferente de lo que se ha encontrado en especies perennes alpinas leñosas, como *Abies*, las cuales tienen una baja diversidad genética y alta diferenciación entre poblaciones (Aguirre-Planter *et al.* 2000).

En el caso de las especies de *Draba*, la diferenciación genética entre poblaciones es baja. Esta diferenciación genética baja puede ser consecuencia de un crecimiento poblacional reciente, lo cual es congruente con los valores negativos y significativos obtenidos en las pruebas de neutralidad (D_T y F_S), además de la relación entre la diversidad haplotípica y nucleotídica (Avice, 2000; Hamilton, 2009).

Específicamente, para ambas especies de *Draba*, hay un ribotipo está presente en todas las poblaciones en gran porcentaje, esto sugiere que quizás hubo flujo genético nuclear a través del polen, como se ha visto en poblaciones de *Psittacanthus calyculatus* en la FVTM (Pérez-Crespo *et al.* 2017), y esto ha ocurrido durante la última glaciación (Figura 11). Además, la relación entre los estimadores G_{ST} provenientes de información nuclear y de cloroplasto, también reflejan estas diferencias del flujo genético mediado por polen o por semillas. De ser posible que exista un flujo genético nuclear, indicaría una posible polinización efectiva por medio de dípteros de las familias Syrphidae, Tachinidae, Muscidae y Anthomyiidae (Inouye, 2019; Arroyo *et al.* 1982), como se ha visto en otras especies alpinas en América del Sur. Con respecto a la dispersión de semillas en *Draba*, y otras Brassicaceae, se sugiere que uno de los dispersores de semillas podrían ser las aves (entre las plumas) que comparten patrones de vicarianza similares (Mummenhoff y Franzke

2007; Jordon-Thaden, 2010). Durante los muestreos en los volcanes visitados, se observaron pequeñas aves paseriformes posando entre la vegetación del zacatonal, posiblemente *Junco phaesonotus* y *Oriturus superciliosus*, estos podrían ser otros candidatos a la dispersión de las semillas de *Draba*. Además, la forma de vida herbácea perenne, como un carácter específico ecológico (Loveless y Hamrick, 1984; Baranzelli *et al.* 2020) de *Draba*, también es un factor importante a notar en la historia del flujo genético.

El patrón del flujo genético observado en las redes de ribotipos, sugiere que el Cofre de Perote es la población ancestral y que este flujo genético ha sido en dirección oeste, hacia los volcanes del centro (Tlálloc y Telapón). Para ambas especies, los pocos pasos mutacionales que hay entre los ribotipos del Nevado de Toluca y Cofre de Perote, indican que el Nevado podría ser parte del linaje ancestral, tomando en cuenta que éste (1.3 Ma) y el Cofre de Perote (1.6 Ma) son los picos más viejos del área de estudio.

Las redes de haplotipos de cloroplasto sugieren que el flujo genético por medio de dispersión de semillas, se da entre poblaciones cercanas como el Nevado de Toluca y Tlálloc. Y debido a que el Cofre de Perote contiene la mayoría de los haplotipos, y estos comparten pocos pasos mutacionales con los haplotipos de otras poblaciones, se sugiere que el Cofre de Perote podría ser la población ancestral.

A diferencia de otras especies endémicas raras de la misma familia, *e.g.* el complejo *Streptanthus glandulosus*, cuyas poblaciones se diferenciación en consecuencia del aislamiento en 'islas edáficas' y el poco flujo genético entre ellas (Mayer *et al.* 1994), el flujo genético de las poblaciones de ambas especies de *Draba* en los picos de la porción centro-oriental, no se ve limitado por la distancia entre estas 'islas altitudinales'. Los valores encontrados sugieren que el flujo genético es lo suficientemente alto para prevenir divergencia genética por deriva (Wright, 1931). Además, los análisis de los caracteres morfológicos de ambas especies indican que no existe una relación entre los fenotipos observados y la localidad de las muestras. Estos resultados, aunque existen diferentes fenotipos, no revelan una diferenciación

morfológica única para cada pico, posiblemente consecuencia de la poca diferenciación genética.

Uno de los caracteres morfológicos importantes son los tricomas. Los de *D. jorullensis* con respecto a los de *D. nivicola* difieren en las ramificaciones y en el tamaño. Algo similar se ha visto en el género *Pachycladon* (Brassicaceae) con tres especies nativas de Nueva Zelanda, estas poseen morfología de hojas similares, pero tricomas con diferente morfología de tipo bifurcado y dendrítico, además de una variación de densidad de pelo entre especies. Mershon *et al.*, (2015), informan que la morfología de los tricomas es una característica que regula la reflectancia y absorbancia de la luz en las hojas del género *Pachycladon*, la especie glabra de este género posee una capacidad menor para absorción y reflectancia de la luz respecto a las especies con tricomas abundantes. Cabe señalar que los tricomas observados de *Draba* en este trabajo y los de *Pachycladon*, son de tipo no glandular. Los tricomas no glandulares generalmente presentan compuestos fenólicos (flavonoides) y una de las posibles funciones de estos compuestos es la protección contra la radiación ultravioleta (UV-B) (Bickford, 2016). Por ende, una capa densa de tricomas no glandulares con flavonoides, resultaría en una barrera dinámica que modifica el microclima de la hoja, de acuerdo con la relación de densidad de pelos y concentración de flavonoides, esta protección brindada por los compuestos fenólicos se vería traducida en una fijación de carbono mayor, ya que la fotosíntesis no se vería interrumpida por compuestos dañinos provocados por radiación UV-B (Liakoura *et al.* 1997).

Las diferencias entre *D. nivicola* y *D. jorullensis* de morfología y densidad también podrían ser consecuencia a la diferente exposición de radiación UV-B a la que están sometidas, ya que los individuos de *D. nivicola* se encuentran totalmente expuestos en el dosel de la vegetación alpina, mientras que los de *D. jorullensis* se encuentran en un gradiente de menor a mayor exposición a la radiación debido a que también se encuentran entre el bosque de coníferas y no únicamente en el zacatonal como *D. nivicola*. Se esperaría que los tricomas dendríticos de *D. nivicola* confirieran una mayor protección a la radiación que los bifurcados de *D. jorullensis*, ya que además,

la densidad de estos es mayor en *D. nivicola* que en *D. jorullensis*, sin embargo, son necesarios estudios posteriores sobre la ecofisiología de los tricomas de estas especies alpinas.

2. Patrón biogeográfico de las especies de *Draba* en la FVTM.

La estimación genealógica y de divergencia, indican que las poblaciones tanto de *D. nivicola* como de *D. jorullensis* son recientes y corresponden posiblemente a finales del Pleistoceno. La separación del género *Draba* respecto a *Arabis turrita* y *Lepidium* sp., es consistente con lo encontrado por Jordon-Thaden (2010) con respecto al grupo central de *Draba*, el cual se originó aproximadamente durante el comienzo del Pleistoceno (edad Gelasense: 2.6 - 1.8 Ma; Gradstein *et al.* 2021), posteriormente hubo una radiación para el género *Draba* durante las épocas interglaciales y una estabilización de linajes en las épocas glaciales. La dispersión de semillas de *Draba* pudo haber estado relacionada con la fauna del Pleistoceno. La fecha de divergencia para las especies de *Draba* (incluyendo a su pariente asiático *D. nemorosa*), de acuerdo con el marcador *ITS*, corresponden a la fecha de radiación de nuevos linajes de *Draba* en la edad o piso Chibanense (Pleistoceno medio) propuesto por Jordon-Thaden (2010), sin embargo, se debe tomar en cuenta que este marcador es influenciado por la evolución (recombinación) (Koch *et al.* 2003). Con respecto al marcador *trnL*, este sugiere que el origen de las especies tanto del grupo externo como *D. nivicola* y *D. jorullensis*, ocurrió hace 2.4 Ma, lo cual también es consistente con lo encontrado por Jordon-Thaden (2010) y además, muestra que tanto *D. nivicola* como *D. jorullensis*, surgieron alrededor de 37,000 años, en una época interglacial, no obstante, se debe tomar en cuenta el tamaño obtenido de las secuencias para *trnL* (Cuadro 6), es menor a lo esperado.

Las poblaciones recientes presentan una alta diversidad genética, numerosos haplotipos únicos y ninguna estructura filogeográfica. Esto se ha visto en la especie alpina de la misma familia, *Arabis alpina*, de la cual se sabe que las poblaciones africanas son más diversas que las poblaciones del centro de Europa, sugiriendo que hubo una expansión post-glacial de Europa Central hacia el sur

(Koch *et al.* 2006). De manera similar, la ausencia de estructura filogeográfica y abundancia de haplotipos únicos de las poblaciones de *D. nivicola* y *D. jorullensis*, sugieren que son poblaciones recientes. Además, no hay clados resueltos para cada una de las especies en los árboles de genes, sin embargo, el árbol del marcador *trnS-trnG*, muestra que la población del Cofre de Perote de *Draba nivicola* es la más ancestral (0.8 Ma) y que las poblaciones del Nevado de Toluca y Tláloc son más recientes (0.04 y 0.015 Ma). Particularmente, en el caso del Cofre de Perote, cabe señalar que este volcán se formó su principal estructura hace 1.3 – 0.5 Ma (Carrasco-Nuñez *et al.* 2010), lo que es coherente con la existencia de las poblaciones de *D. nivicola* presentes ahí hace 0.8 Ma. Algunas secuencias de *trnS-trnG* del Nevado de Toluca y del Cofre de Perote de *D. nivicola*, y de manera similar, algunas secuencias del Nevado de Toluca y Pico de Orizaba para *D. jorullensis* quedan sin resolver, posiblemente representen secuencias ancestrales (Figura 13, Ver Apéndice Figura 26).

En consecuencia, la historia demográfica de *D. nivicola*, también se puede pensar en una colonización reciente en dirección este-oeste como se ha visto para otras especies distribuidas en la FVTM (Aguirre-Planter *et al.* 2000; Ruiz-Sánchez y Specht, 2013; Anguiano-Constante *et al.* 2021). Esto concuerda con la edad de los volcanes, siendo el Cofre de Perote el más viejo, seguido del Nevado de Toluca y Tláloc es más joven.

En cambio, la colonización de los volcanes por *D. jorullensis* no parece ser en dirección este-oeste. El mismo marcador para *D. jorullensis* sugiere que el Pico de Orizaba y Tláloc son poblaciones ancestrales (0.37 Ma) y que Telapón y Nevado de Toluca son las más recientes (0.25 y 0.02 Ma). Esto concuerda con el árbol del marcador *ITS*, el cual muestra al Nevado de Toluca como la más reciente (0.009 Ma). La amplia distribución de *D. jorullensis*, podría ser producto de un patrón distinto de migración y expansión durante la glaciación de Wisconsin. Para completar este patrón biogeográfico es necesario analizar las poblaciones faltantes, especialmente las más lejanas como el Nevado de Colima y Tacaná. Además, Jordon-Thaden (2010), señaló que en el estudio filogenético con el marcador *trnL*, *D. jorullensis* presentó un

haplotipo ancestral que se relacionaba con el grupo externo, que en su mayoría correspondían con la parte sur de la cordillera de Norte América y la cordillera de Suramérica, lo cual pone a *D. jorullensis* en relación con las cordilleras del Anillo de Fuego. Esto último explicaría la edad de las poblaciones de *D. jorullensis* en la genealogía de *trnS-trnG*, si esta especie está biogeográficamente más relacionada con las especies de *Draba* de la cordillera del Sur, el patrón de migración y de flujo genético sería distinto y posiblemente de sur a norte. Además, la edad de los volcanes y el volcanismo reciente de la FVTM (Mastretta-Yanes *et al.* 2015), ha dado forma al establecimiento de las especies. Por ejemplo, las erupciones históricas como de la erupción del Pico de Orizaba de tipo andesítica-dacítica hace 0.35 Ma (Macías, 2005), y de lava en Telapón hace 0.38 Ma y Tláloc hace 0.94 Ma (Macías *et al.* 2012), coinciden con el establecimiento y radiación de las poblaciones de *D. jorullensis* en estos picos.

Durante el último periodo glacial, el nivel del límite de la vegetación en las montañas bajó hasta los 1,000 m y la temperatura se mantuvo en un rango de 2 a 9 °C. Es posible que esto pudo haber causado que las poblaciones de tanto *D. nivicola* como *D. jorullensis*, migraran a altitudes más bajas y que se reprodujeran libremente ('genetic admixture'). Además de eso, las poblaciones fueron influenciadas por las fluctuaciones climáticas del Pleistoceno. Los análisis tanto de los marcadores de cloroplasto como del núcleo muestran una radiación de la mayoría de las poblaciones de *Draba* entre los 0.05 – 0.015 Ma. Esto coincide con las fechas de la última glaciación. Posteriormente las poblaciones se contrajeron ligeramente y se mantuvieron en elevaciones más altas una vez que las condiciones fueron cálidas comenzando el Holoceno. Los resultados de los gráficos de 'skyline' apoyan esta hipótesis de contracción reciente de las poblaciones de *Draba*, seguido de una ligera expansión o estabilización. Las fechas difieren para cada marcador, debido al tamaño diferente de muestra y tasa de mutación de los marcadores (Ho y Shapiro, 2011). A pesar de esto, la contracción y estabilización coincide con el fin de la era glacial, alrededor de los 10,000, comienzo del Holoceno.

No se ha podido afirmar que las especies de *Draba* permanecieron en una dinámica de isla alpina y distancia, en la que las poblaciones se refugiaron en los picos para después colonizar nuevos picos en la época interglacial, ya que genética y morfológicamente son muy similares, esto indicaría que posiblemente aún no ha pasado suficiente tiempo para su diferenciación genética, después de la expansión y estabilización demográfica combinada con la dinámica de volcanismo reciente (Mastretta-Yanes *et al.* 2015).

Draba nivicola es una de las cuatro especies endémicas a la porción centro-oriental de la FVTM y ninguna es exclusiva de un sólo pico. Y *Draba jorullensis*, en cambio tiene una distribución más amplia (Steinmann *et al.* 2021). Para entender con mayor profundidad la historia de colonización de especies en los picos de la FVTM, es importante estudiar a las demás especies endémicas como *Castilleja toluensis*, *Plantago toluensis* y *Cerastium purpusii*, que posiblemente podrían tener patrones demográficos similares a los de *Draba*. Aunque las poblaciones de *Draba* en la FVTM no se encuentren en un evidente cuello de botella, la protección de los ecosistemas donde habitan, propicia a su vez la conservación del hábitat de otras especies endémicas, especialmente de reptiles y anfibios (Sunny *et al.* 2015).

VIII. Conclusiones

La hipótesis propuesta en un principio de la existencia una estructura genética típica de poblaciones aisladas, en *Draba* en las poblaciones naturales de la FVTM es rechazada, ya que los resultados muestran que aparentemente no existe una barrera geográfica que limite el flujo genético y que además estas poblaciones son muy recientes (finales del Pleistoceno). La diversidad genética de las poblaciones de *Draba* de ambas especies es alta. Existe poca o nula diferenciación genética entre poblaciones. Las poblaciones de ambas especies de *Draba* sufrieron una reciente expansión post-glacial y posiblemente por eso el flujo genético no es bajo y parece estar mediado a través del polen más que por la dispersión de semillas. El patrón biogeográfico de *D. nivicola* se puede explicar por medio de una colonización este-oeste promovida principalmente por las fluctuaciones climáticas (períodos

glaciales e interglaciales), además por el volcanismo reciente y el efecto de conectividad de poblaciones en altitudes más bajas durante el periodo glacial. Mientras que el patrón biogeográfico de *D. jorullensis* parece ser distinto, no se tienen los datos completos para afirmar el sentido de la colonización de los volcanes, no obstante, el volcanismo reciente ha formado el establecimiento de poblaciones naturales de esta especie. Los resultados obtenidos apoyan al paradigma de la diversificación y expansión de especies del Pleistoceno.

Dirección General de Bibliotecas UAG

IX. Referencias

- Aguirre-Planter, E., G. R. Furnier, y L. E. Eguiarte. 2000. «Low Levels of Genetic Variation within and High Levels of Genetic Differentiation among Populations of Species of *Abies* from Southern Mexico and Guatemala». *American Journal of Botany* 87 (3): 362-71.
- Al-Shehbaz, I.A., 1977. Protogyny in the Cruciferae. - *Systematic Botany*, 2: 327-333.
- Almeida-Leñero, L. & Escamilla, M. & Giménez de Azcárate, Joaquín & Trápaga, María Arcelia & Cleef, Antoine M. 2019. Vegetación alpina de los volcanes Popocatepetl, Iztaccihuatl y Nevado de Toluca. Biodiversidad de la Faja Volcánica Transmexicana, Eds. Luna, I., Morrone, J.J. y Espinosa, D. UNAM, México.
- Anguiano-Constante, Marco Antonio, Pilar Zamora-Tavares, Eduardo Ruiz-Sanchez, Ellen Dean, Aarón Rodríguez, y Guadalupe Munguía-Lino. 2021. «Population differentiation and phylogeography in *Lycianthes moziniana* (Solanaceae: Capsiceae), a perennial herb endemic to the Mexican Transition Zone». *Biological Journal of the Linnean Society* 132 (2): 359-73. <https://doi.org/10.1093/biolinnean/blaa198>.
- Antonelli, Alexandre, W. Daniel Kissling, Suzette G. A. Flantua, Mauricio A. Bermúdez, Andreas Mulch, Alexandra N. Muellner-Riehl, Holger Kreft, *et al.* 2018. «Geological and Climatic Influences on Mountain Biodiversity». *Nature Geoscience* 11 (10): 718-25. <https://doi.org/10.1038/s41561-018-0236-z>.
- Arce, J.L, Macías, R., García-Palomo, A., Capra, L., Macías, J.L., Layer, P., & Rueda, H. 2008. Late Pleistocene flank collapse of Zempoala volcano (Central Mexico) and the role of fault reactivation. *Journal of Volcanology and Geothermal Research*, 177(4): 944-958.
- Arroyo Kalin M.T., Primack, R., Armesto, J. 1982. Community studies in pollination ecology in the high temperate Andes of central Chile. I. Pollination mechanisms and altitudinal variation. *American Journal of Botany*. 69(1): 82-97.
- Assefa, A., Ehrlich D., Taberlet P., Nemomissa S., Brochmann C. 2007. Pleistocene colonization of afro-alpine 'sky islands' by the arctic-alpine *Arabis alpina*. *Heredity* 99, 133–142.
- Avise, J. C. 2000. *Phylogeography: The history and formation of species*. Cambridge, MA: Harvard University Press.
- Baranzelli, Matias Cristian, Andrea Cosacov, Nicolás Rocamundi, Eduardo Andrés Issaly, Dana Lucía Aguilar, Gonzalo Andrés Camps, Guadalupe Andraca-Gómez, Iván Alejandro Petrinovic, Leigh A. Johnson, y Alicia Noemí Sérsic. 2020. «Volcanism Rather than Climatic Oscillations Explains the Shared Phylogeographic Patterns among Ecologically Distinct Plant Species in the Southernmost Areas of the South American Arid Diagonal». *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* 45 (agosto): 125542. <https://doi.org/10.1016/j.ppees.2020.125542>.
- Barrett, S. C. H., & J. R. Kohn. 1991. Genetic and evolutionary consequences of small population size in plants: implications for conservation. In D. A. Falk and K. E. Holsinger [eds.], *Genetics and conservation of rare plants*. Oxford University Press. New York, New York, USA.
- Beaman, J.H. The timberlines of Iztaccihuatl and Popocatepetl. *Ecology* 1962, 43, 377–385.
- Beck, James B., Heike Schmuths, y Barbara A. Schaal. 2008. «Native Range

Genetic Variation in *Arabidopsis Thaliana* Is Strongly Geographically Structured and Reflects Pleistocene Glacial Dynamics». *Molecular Ecology* 17 (3): 902-15. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2007.03615.x>.

- Beilstein A. & Windham, M. 2003. A Phylogenetic Analysis of Western North American *Draba* (Brassicaceae) Based on Nuclear Ribosomal DNA Sequences from the ITS Region. *Systematic Botany*. 28 (3): 584-592
- Bickford, Christopher P. 2016. "Ecophysiology of Leaf Trichomes". *Functional Plant Biology* 43 (9). CSIRO Publishing: 807. doi:10.1071/fp16095.
- Bingham, R. & Orthner, A. 1998. Efficient pollination of alpine plants. *Nature*. 391(6664): 238-239.
- Bryson, Robert W., Robert W. Murphy, Amy Lathrop, y David Lazcano-Villareal. 2011. «Evolutionary Drivers of Phylogeographical Diversity in the Highlands of Mexico: A Case Study of the *Crotalus Triseriatus* Species Group of Montane Rattlesnakes: Phylogeography of the *Crotalus Triseriatus* Group». *Journal of Biogeography* 38 (4): 697-710. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2699.2010.02431.x>.
- Bryson, Robert W., Uri Omar García-Vázquez, y Brett R. Riddle. 2012. «Diversification in the Mexican Horned Lizard *Phrynosoma Orbiculare* across a Dynamic Landscape». *Molecular Phylogenetics and Evolution* 62 (1): 87-96. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2011.09.007>.
- Cadoux, A., Missenard, Y., Martínez-Serrano, R.G. & Guillou, H. 2011. Trenchward Plio-Quaternary volcanism migration in the Trans-Mexican Volcanic Belt: the case of the Sierra Nevada range. *Geological Magazine*, 148(3): 492-506
- Carrasco-Núñez, G., 2000, Structure and proximal stratigraphy of Citlaltépetl volcano (Pico de Orizaba), Mexico, *in* Delgado-Granados, H., Aguirre- Díaz, G., and Stock, J. M., eds., *Cenozoic Tectonics and Volcanism of Mexico*: Boulder, Colorado, Geological Society of America Special Paper 334.
- Carrasco-Núñez, G., Siebert L., Díaz-Castellón, R., Vázquez-Selem, L., Capra L. 2010. Evolution and hazards of a long-quiescent compound shield-like volcano: Cofre de Perote, Eastern Trans-Mexican Volcanic Belt. *Journal of Volcanology and Geothermal Research* 197: 209–224.
- Castro-Govea, R., Siebe, C. & Abrams, M. 2007. Recent Eruptive History of La Malinche Volcano, Mexico: Towards the Construction of a Hazards Map. *Journal of Volcanology and Geothermal Research* 162(1-2): 20–42
- Cheng, T., Xu, C., Lei, L., Li, C., Zhang, Y. and Zhou, S. 2016. Barcoding the kingdom Plantae: new PCR primers for ITS regions of plants with improved universality and specificity. *Mol Ecol Resour*, 16: 138-149. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12438>
- Clement, M., D. Posada, and K. A. Crandall. 2000. TCS: a computer program to estimate gene genealogies. *Molecular Ecology* 9: 1657–1659.
- Clement, M., Snell, Q., Walker, P., Posada, D., & Crandall, K. (2002). TCS: Estimating gene genealogies. *Parallel and Distributed Processing Symposium, International Proceedings*, 2, 184.
- Cutter, Asher D. 2013. «Integrating Phylogenetics, Phylogeography and Population Genetics through Genomes and Evolutionary Theory». *Molecular Phylogenetics and Evolution* 69 (3): 1172-85. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2013.06.006>.
- Dong, W., Liu, J., Yu, J., Wang, L. & Zhou, S. 2012. Highly variable chloroplast markers for evaluating plant phylogeny at low taxonomic levels and for DNA barcoding. *Plos One*, 7(4): 1-9

- Dong, W., Xu, C., Li, C., Sun, J., Zuo., Y., Shi, S., Cheng, T., Guo, J. & Zhou, S. 2015. *ycf1*, the most promising plastid DNA barcode of land plants. *Scientific Reports*, 5: 1-5.
- Doyle, J. J. & J. L. Doyle. 1990. A rapid total DNA preparation procedure for fresh plant tissue. *Focus* 12:13-15.
- Drummond, Alexei J, y Andrew Rambaut. 2007. «BEAST: Bayesian Evolutionary Analysis by Sampling Trees». *BMC Evolutionary Biology* 7 (1): 214. <https://doi.org/10.1186/1471-2148-7-214>.
- Dupanloup, I., Schneider, S. & Excoffier, L. 2002. A simulated annealing approach to define the genetic structure of populations. *Molecular Ecology*, 11(12): 2571–2581.
- Ellstrand, N. C. .2014. Is gene flow the most important evolutionary force in plants? *American Journal of Botany*, 101: 737-753.
- Ellstrand, N. C. 2003. Current knowledge of gene flow in plants. *Philosophical Transactions of the Royal Society, B, Biological Sciences* 358: 1163–1170.
- Ennos, R. A. 1994. «Estimating the Relative Rates of Pollen and Seed Migration among Plant Populations». *Heredity* 72 (3): 250-59. <https://doi.org/10.1038/hdy.1994.35>.
- Enríquez de Salamanca Sánchez-Cámara, Alvaro. 2011. El ocaso de los glaciares. *Foresta*. 53. 46-54.
- Evans, M., Rebecca, E.K., Dolan, W., Menges, E.S., Gordon, D.R. 2000. Generic diversity and reproductive biology in *Warea carteri* (Brassicaceae), a narrowly endemic Florida scrub annual. *American Journal of Botany*, 87(3): 372-38
- Excoffier, L, and Lischer, H.E.L. 2010. Arlequin Suite ver 3.5, a New Series of Programs to Perform Population Genetics Analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources*, 10: 564-567
- Excoffier, L. G. Laval, and S. Schneider (2005) Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics Online* 1:47-50.
- Ferrari, L., Orozco-Esquivel, T., Manea, V. & Manea, M. 2012. The dynamic history of the Trans-Mexican Volcanic Belt and the Mexico subduction zone. *Tectonophysics*, 522–523, 122–149.
- Fjeldså, Jon, Rauri C.K. Bowie, y Carsten Rahbek. 2012. «The Role of Mountain Ranges in the Diversification of Birds». *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 43 (1): 249-65. <https://doi.org/10.1146/annurev-ecolsys-102710-145113>.
- Franzke, Andreas, Martin A. Lysak, Ihsan A. Al-Shehbaz, Marcus A. Koch, y Klaus Mummenhoff. 2011. «Cabbage Family Affairs: The Evolutionary History of Brassicaceae». *Trends in Plant Science* 16 (2): 108-16. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2010.11.005>.
- Futuyma, D. J. 1986. *Evolutionary Biology* 2nd edition, Sinauer Associates Inc. Sunderland, Mass.
- Gao Y., Yin S., Yang H., Wu L., & Yan Y. 2017. Genetic diversity and phylogenetic relationships of seven *Amorphophallus* species in southwestern China revealed by chloroplast DNA sequences, *Mitochondrial DNA Part A*, 29(5): 679-686.
- García-Palomo, A., Macías, J.L., Arce, J.L., Capra, L., Garduño, V.H., and Espíndola, J.M., 2002, *Geology of Nevado de Toluca Volcano and surrounding*

areas, central Mexico: Boulder, Colorado, Geological Society of America Map and Chart Series MCH089, 26 p.

- García-Tovar, Gloria P., Martínez-Serrano, Raymundo G., Solé, Jesús, Correa-Tello, Juan Carlos, Núñez-Castillo, Elizabeth Y., Guillou, Hervé, & Monroy-Rodríguez, Emir. 2015. Geología, geocronología y geoquímica del vulcanismo Plio-Cuaternario del Campo Volcánico Apan-Tecocomulco, Faja Volcánica Trans-Mexicana. *Revista mexicana de ciencias geológicas*, 32(1), 100-122
- Glen Stecher, Koichiro Tamura, and Sudhir Kumar (2020) Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) for macOS. *Molecular Biology and Evolution* (<https://doi.org/10.1093/molbev/msz312>)
- Gómez-Tuena, A., Orozco-Esquivel, M.T. & Ferrari, L. 2007. Igneous petrogenesis of the Trans Mexican Volcanic Belt in: Alaniz-Álvarez S.A., Nieto-Samaniego, A.F., (eds), *Geology of México: Celebrating the Centenary of the Geological Society of Mexico*. Geological Society of America Special Paper, 422: 129-181
- Gradstein, F. M., James G. Ogg, Mark D. Schmitz, and Gabi M. Ogg. 2020. *Geologic Time Scale 2020*. 2. 1st ed. Vol. 2. 2 vols. Amsterdam: Elsevier.
- Grundt H.H., Popp M., Brochmann C., Oxelman B. 2004. Polyploid origins in a circumpolar complex in *Draba* (Brassicaceae) inferred from cloned nuclear DNA sequences and fingerprints. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 32, 695–710
- Hamilton, M. B. 1999. Four primer pairs for the amplification of chloroplast intergenic regions with intraspecific variation. *Molecular Ecology* 8: 521-523
- Hamilton, M. B. 2009. *Populations genetics*. Wiley-Blackwell, Oxford, 424 pp.
- Hamrick, J. L. & Schnabel, A. 1985 Understanding the genetic structure of plant populations. In *Population genetics in forestry* (ed. H. R. Gregorius), pp. 50–70. Berlin: Springer.
- Hamrick, J.L. & Godt, J.W. 1996. Effects of Life History Traits on Genetic Diversity in Plant Species. *Philosophical Transactions of The Royal Society B: Biological Sciences*. 351: 1291-1298.
- Hazzi, Nicolas A., Juan Sebastián Moreno, Carolina Ortiz-Movliav, y Rubén Darío Palacio. 2018. «Biogeographic Regions and Events of Isolation and Diversification of the Endemic Biota of the Tropical Andes». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 115 (31): 7985-90. <https://doi.org/10.1073/pnas.1803908115>.
- Heenan, P. B., y A. D. Mitchell. 2003. «Phylogeny, Biogeography and Adaptive Radiation of Pachycladon (Brassicaceae) in the Mountains of South Island, New Zealand». *Journal of Biogeography* 30 (11): 1737-49. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2699.2003.00941.x>.
- Hewitt, GODFREY M. 1999. «Post-Glacial Re-Colonization of European Biota». *Biological Journal of the Linnean Society* 68 (1): 87-112. <https://doi.org/10.1006/bijl.1999.0332>.
- Hewitt, Godfrey M. 2011. «Quaternary Phylogeography: The Roots of Hybrid Zones». *Genetica* 139 (5): 617-38. <https://doi.org/10.1007/s10709-011-9547-3>.
- Ho, Simon Y. W., y Beth Shapiro. 2011. «Skyline-plot Methods for Estimating Demographic History from Nucleotide Sequences». *Molecular Ecology Resources* 11 (3): 423-34. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2011.02988.x>.
- Ikeda H, Setoguchi H. 2007. Phylogeography and refugia of the Japanese endemic alpine plant, *Phyllodoce nipponica* Makino (Ericaceae). *Journal of Biogeography* 34: 169– 176.

- Inouye, D.W. 2019. Effects of climate change on alpine plants and their pollinators. *Annals of the New York Academy of Sciences*: 1-12.
- Jamieson I.G. 2007. Has the debate over genetics and extinction of island endemics truly been resolved? *Animal Conservation*, 10:139–144
- Johnson, L., & Soltis, D. (1994). MatK DNA Sequences and Phylogenetic Reconstruction in Saxifragaceae s. str. *Systematic Botany*, 19(1), 143-156.
- Joly, Simon, Peter B. Heenan, y Peter J. Lockhart. 2009. «A Pleistocene Inter-Tribal Allopolyploidization Event Precedes the Species Radiation of Pachycladon (Brassicaceae) in New Zealand». *Molecular Phylogenetics and Evolution* 51 (2): 365-72. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2009.02.015>.
- Jordon-Thaden I. & Koch M. 2008. Species richness and polyploid patterns in the genus *Draba* (Brassicaceae): a first global perspective. *Plant Ecology & Diversity* ·Vol. 1, No. 2, 255–263
- Jordon-Thaden I. 2010. Species and Genetic Diversity of *Draba*: Phylogeny and Phylogeography. Doctoral dissertation, University of Heidelberg, Germany.10.11588/heidok.00010332
- Jordon-Thaden I., Al-Shehbaz A., Koch M. 2013. Species richness of the globally distributed, arctic–alpine genus *Draba* L. (Brassicaceae). *Alpine Botany* 123: 97-106.
- Jordon-Thaden, I., Hase, I., Al-Shehbaz, I., & Koch, M. A. 2010. Molecular phylogeny and systematics of the genus *Draba* (Brassicaceae) and identification of its most closely related genera. *Molecular phylogenetics and evolution*, 55(2), 524–540. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2010.02.012>
- Juan, C., Emerson, B.C., Oromí, P., Hewitt, G.M. 2000. Colonization and diversification: towards a phylogeographic synthesis for the Canary Islands. *Trends of Ecology and Evolution*, 15:104–109.
- Kay, Kathleen M, Justen B Whittall, y Scott A Hodges. 2006. «A survey of nuclear ribosomal internal transcribed spacer substitution rates across angiosperms: an approximate molecular clock with life history effects». *BMC Evolutionary Biology* 6 (1): 36. <https://doi.org/10.1186/1471-2148-6-36>.
- Koch M., Al-Shehbaz A., Mummenhoff K. 2003. Molecular Systematics, Evolution, and Population Biology in the Mustard Family (Brassicaceae). *Annals of the Missouri Botanical Garden*, Vol. 90, No. 2, pp. 151-171.
- Koch, M., Haubold, B., & Mitchell-Olds, T. (2001). Molecular Systematics of the Brassicaceae: Evidence from Coding Plastidic matK and Nuclear Chs Sequences. *American Journal of Botany*, 88(3), 534-544. Retrieved March 23, 2021, from <http://www.jstor.org/stable/2657117>
- Koch, Marcus A., Christiane Kiefer, Dorothee Ehrich, Johannes Vogel, Christian Brochmann, y Klaus Mummenhoff. 2006. «Three Times out of Asia Minor: The Phylogeography of *Arabis Alpina* L. (Brassicaceae): PHYLOGEOGRAPHY OF ARABIS ALPINA». *Molecular Ecology* 15 (3): 825-39. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2005.02848.x>.
- Leigh, JW, Bryant D (2015). PopART: Full-feature software for haplotype network construction. *Methods Ecol Evol* 6(9):1110–1116.
- Liakoura, V., M. Stefanou, Y. Manetas, C. Cholevas, y G. Karabourniotis. 1997. “Trichome Density and Its UV-B Protective Potential Are Affected by Shading and Leaf Position on the Canopy”. *Environmental and Experimental Botany* 38 (3). Elsevier BV: 223–29. doi:10.1016/s0098-8472(97)00005-1.

- Loveless, M.D. & Hamrick, J.L. 1984. Ecological determinants of genetic structure of plant populations. *Annual Reviews of Ecologic Systematics*. 15, 65-95
- Macías J.L. 2005. Geología e historia eruptiva de algunos de los grandes volcanes activos de México. *Boletín de la Sociedad Geológica Mexicana*. 57(3):379-424.
- J.L. Macías, J.L. Arce, F. García-Tenorio, P.W. Layer, H. Rueda, G. Reyes-Agustin, F. López-Pizaña and D. Avellán. 2012. Geology and geochronology of Tlaloc, Telapón, Iztaccíhuatl, and Popocatepetl volcanoes, Sierra Nevada, central Mexico. *Field Guides*, 25;163-193.
- Magurran, A.E. (2004). *Measuring Biological Diversity*. Blackwell Publishing, Oxford, UK.
- Manni, F., Guérard, E. & Heyer, E. 2004. Geographic patterns of (genetic, morphologic, linguistic) variation: how barriers can be detected by using Monmonier's algorithm. *Human Biology*, 76(2): 173–190.
- Mastretta-Yanes, Alicia, Sergio Zamudio, Tove H. Jorgensen, Nils Arrigo, Nadir Alvarez, Daniel Piñero, y Brent C. Emerson. 2014. «Data from: Gene Duplication, Population Genomics and Species-Level Differentiation within a Tropical Mountain Shrub». Dryad. <https://doi.org/10.5061/DRYAD.N3JK5>.
- Mastretta-Yanes, A., Moreno-Letelier, A., Piñero, D., Jorgensen, T. H. & Emerson, B. C. 2015. Biodiversity in the Mexican highlands and the interaction of geology, geography and climate within the Trans-Mexican Volcanic Belt. *Journal of Biogeography*, 42(9): 1586-1600
- Mayer, Michael S., Pamela S. Soltis, y Douglas E. Soltis. 1994. «The Evolution of the *Streptanthus glandulosus* Complex (Cruciferae): Genetic Divergence and Gene Flow in Serpentine Endemics». *American Journal of Botany* 81 (10): 1288-99. <https://doi.org/10.2307/2445405>.
- McDonald, A. 1998. Fitogeografía e historia de la flora alpina-subalpina del noreste de México. En: Ramamoorthy T., Bye R., Lot A. y Fa J. (eds.). *Diversidad biológica de México*. Instituto de Biología, UNAM. México, D.F. pp. 665-668.
- Mershon, JP, M Becker, y CP Bickford. 2015. "Linkage between Trichome Morphology and Leaf Optical Properties in New Zealand Alpine *Pachycladon* (Brassicaceae)". *New Zealand Journal of Botany* 53 (3). Informa UK Limited: 175–82. doi:10.1080/0028825x.2015.1042486.
- Miranda F. y Hernández-X. E. 1963. Los tipos de vegetación de México y su clasificación. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, 28: 29-179.
- Monmonier, M.S. 1973. Maximum-difference barriers: an alternative numerical regionalization method. *Geographical Analysis*, 5(3): 245–261.
- Mummenhoff, Klaus, y Andreas Franzke. 2007. «Gone with the bird: Late tertiary and quaternary intercontinental long-distance dispersal and allopolyploidization in plants». *Systematics and Biodiversity* 5 (3): 255-60. <https://doi.org/10.1017/S1477200007002393>.
- Nei M (1987). *Molecular Evolutionary Genetics*. Columbia University Press: New York, NY, USA.
- Nei, M. 1972. Genetic distance between populations. *American Naturalist*, 106: 283—292.
- Nixon, G.T. 1989. The geology of Iztaccíhuatl Volcano and adjacent areas of The Sierra Nevada and Valley of Mexico: Geological Society of America, Special Paper, 219: 58 pp,

- Nordborg, M. 2000. Coalescent Theory. Department of Biological Sciences, University of Southern California. 1-37 pp.
- Nybom, H. 2004. Comparison of different nuclear DNA markers for estimating intraspecific genetic diversity in plants. *Molecular Ecology*, 13: 1143-1155
- Pérez-Crespo, María José, Juan Francisco Ornelas, Antonio González-Rodríguez, Eduardo Ruiz-Sanchez, Antonio Acini Vásquez-Aguilar, y Santiago Ramírez-Barahona. 2017. «Phylogeography and Population Differentiation in the *Psittacanthus Calyculatus* (Loranthaceae) Mistletoe: A Complex Scenario of Climate-Volcanism Interaction along the Trans-Mexican Volcanic Belt». *Journal of Biogeography* 44 (11): 2501-14. <https://doi.org/10.1111/jbi.13070>.
- Petit, Rémy J., Aguinagalde, I., de Beaulieu, JL., Bittkau, C., Brewer, S., Cheddadi, R., Ennos, R., Fineschi, S., Grivet, D., Lascoux, M., Mohanty, A., Müller-Starck, G., Demesure-Musch, B., Palmé, A., Martín, JP., Rendell, S., Vendramin, G.G. 2003. Glacial Refugia: Hotspots But Not Melting Pots of Genetic Diversity. *Science*, 300 (5625): 1563-1565
- Pons O & Petit RJ. 1995. Estimation, variance and optimal sampling of gene diversity. *Theoretical and Applied Genetics*. 90. 462-470.
- Posada, David. (2008). jModelTest: Phylogenetic Model Averaging. *Molecular biology and evolution*. 25. 1253-6. [10.1093/molbev/msn083](https://doi.org/10.1093/molbev/msn083).
- Rambaut, A. 2014. FigTree v1.4.2. Available at: <https://github.com/rambaut/figtree/releases>
- Ramírez-Amezcuca Y., Steinmann, W.V., Ruiz-Sánchez E., Rojas-Soto, O. 2016. Mexican alpine plants in the face of global warming: potential extinction within a specialized assemblage of narrow endemics. *Biodiversity Conservation*, 5:865–885.
- Rangel, Thiago F., Neil R. Edwards, Philip B. Holden, José Alexandre F. Diniz-Filho, William D. Gosling, Marco Túlio P. Coelho, Fernanda A. S. Cassemiro, Carsten Rahbek, y Robert K. Colwell. 2018. «Modeling the Ecology and Evolution of Biodiversity: Biogeographical Cradles, Museums, and Graves». *Science* 361 (6399): eaar5452. <https://doi.org/10.1126/science.aar5452>.
- Rollins, R.C. 1984. *Draba* (Cruciferae) in Mexico and Guatemala. Contributions from the Gray Herbarium of Harvard University, No. 213, pp. 1-10
- Rollins, R.C. 1993. The Cruciferae of continental North America. Stanford University Press. Stanford, CA.
- Ronquist, F. & Huelsenbeck, J.P. 2003. MrBayes: Bayesian Phylogenetic Inference under Mixed Models. *Bioinformatics*, 19, 1572-1574. <http://dx.doi.org/10.1093/bioinformatics/btg180>
- Rosenberg, N.A. & Nordborg, M. 2002. Genealogical trees, coalescent theory and the analysis of genetic polymorphisms. *Nature Reviews Genetics*, 3(5): 380–390
- Rozas, J., Ferrer-Mata, A., Sánchez-DelBarrio, J.C., Guirao-Rico, S., Librado, P., Ramos-Onsins, S.E., Sánchez-Gracia, A. (2017). DnaSP 6: DNA Sequence Polymorphism Analysis of Large Datasets. *Mol. Biol. Evol.* 34: 3299-3302. DOI: [10.1093/molbev/msx248](https://doi.org/10.1093/molbev/msx248)
- Ruiz-Sanchez, Eduardo, Flor Rodriguez-Gomez, y Victoria Sosa. 2012. «Refugia and Geographic Barriers of Populations of the Desert Poppy, *Hunnemannia Fumariifolia* (Papaveraceae)». *Organisms Diversity & Evolution* 12 (2): 133-43. <https://doi.org/10.1007/s13127-012-0089-z>.
- Ruiz-Sanchez, Eduardo, y Chelsea D. Specht. 2013. «Influence of the Geological History of the Trans-Mexican Volcanic Belt on the Diversification of *Nolina Parviflora*

(Asparagaceae: Nolinoideae)». Editado por Pauline Ladiges. *Journal of Biogeography* 40 (7): 1336-47. <https://doi.org/10.1111/jbi.12073>.

- Ruiz-Sanchez, Eduardo, y Juan Francisco Ornelas. 2014. «Phylogeography of Liquidambar Styraciflua (Altingiaceae) in Mesoamerica: Survivors of a Neogene Widespread Temperate Forest (or Cloud Forest) in North America?» *Ecology and Evolution* 4 (4): 311-28. <https://doi.org/10.1002/ece3.938>.
- Ruzzante, Daniel E., Sandra J. Walde, Víctor E. Cussac, Merel L. Dalebout, Jacob Seibert, Silvia Ortubay, y Evelyn Habit. 2006. «Phylogeography of the Percichthyidae (Pisces) in Patagonia: Roles of Orogeny, Glaciation, and Volcanism». *Molecular Ecology* 15 (10): 2949-68. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2006.03010.x>.
- Rzedowski, J., 2006. Vegetación de México. 1ra. Edición digital, Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, México, 504 pp.
- Sequencher® version 4.1.4 DNA sequence analysis software, Gene Codes Corporation, Ann Arbor, MI USA <http://www.genecodes.com>
- Shimizu R., y col., 2009. The allopolyploid *Arabidopsis kamchatica* originated from multiple individuals of *Arabidopsis lyrata* and *Arabidopsis halleri*. *Molecular Ecology* 18, 4024–4048.
- Skrede I., Brochmann C., Borgen Liv., Rieseberg L.H. 2008. Genetics of intrinsic postzygotic isolation in a circumpolar plant species, *Draba nivalis* (Brassicaceae) *Evolution* 62-8: 1840–1851. -
- Steinbauer, M. J., Field, R. , Grytnes, J. , Trigas, P. , Ah-Peng, C. , Attorre, F. , Birks, H. J., Borges, P. A., Cardoso, P. , Chou, C. , De Sanctis, M. , de Sequeira, M. M., Duarte, M. C., Elias, R. B., Fernández-Palacios, J. M., Gabriel, R. , Gereau, R. E., Gillespie, R. G., Greimler, J. , Harter, D. E., Huang, T. , Irl, S. D., Jeanmonod, D. , Jentsch, A. , Jump, A. S., Kueffer, C. , Nogué, S. , Otto, R. , Price, J. , Romeiras, M. M., Strasberg, D. , Stuessy, T. , Svenning, J. , Vetaas, O. R. and Beierkuhnlein, C. 2016. Topography-driven isolation, speciation and a global increase of endemism with elevation. *Global Ecology and Biogeography.*, 25: 1097-1107.
- Steinmann, V. W., Ramírez-Amezcuca, Y., Arredondo-Amezcuca, L. y R. A., Hernández-Cárdenas. 2017. Flora Alpina del Centro de México. Instituto de Ecología, A. C. Centro Regional del Bajío. Informe final-SNIB-CONABIO proyecto JF076. Ciudad de México.
- Steinmann, V., Amezcua, L., Amezcua, Y., Maza-Villalobos, S., Mastretta-Yanes, A., Rodríguez, S., Chávez, C., Leñero, L., Avalos, H., Hoth von der Meden, J. & Hernández-Cárdenas, R. 2019. La vegetación alpina mexicana. *Biodiversitas*. 142: 1-16.
- Steinmann, Victor W., Libertad Arredondo-Amezcuca, Rodrigo Alejandro Hernández-Cárdenas, y Yocupitzia Ramírez-Amezcuca. 2021. «Diversity and Origin of the Central Mexican Alpine Flora». *Diversity* 13 (1): 31. <https://doi.org/10.3390/d13010031>.
- Sunny, Armando, Octavio Monroy-Vilchis, Martha M. Zarco-González, Germán David Mendoza-Martínez, y Daniel Martínez-Gómez. 2015. «Genetic Diversity and Genetic Structure of an Endemic Mexican Dusky Rattlesnake (*Crotalus Triseriatus*) in a Highly Modified Agricultural Landscape: Implications for Conservation». *Genetica* 143 (6): 705-16. <https://doi.org/10.1007/s10709-015-9868-8>.

- Taberlet, Pierre & Gielly, Ludovic & Pautou, Guy & Bouvet, Jean. 1991. Universal Primers For Amplification Of 3 Noncoding Regions Of Chloroplast Dna. *Plant molecular biology*, 17: 105-9.
- Takezaki, N., and M. Nei, 1996. Genetic distances and reconstruction of phylogenetic trees from microsatellite DNA. *Genetics* 144: 389–399.
- Templeton, A. R., K. A. Crandall, & C. F. Sing. 1992. A cladistic analysis of phenotypic associations with haplotypes inferred from restriction endonuclease mapping and DNA sequence data. III. Cladogram estimation. *Genetics* 132: 619–633.
- Vázquez-Domínguez, E., y col., 2009. Avances metodológicos para el estudio conjunto de la información genética, genealógica y geográfica en análisis evolutivos y de distribución. *Revista Chilena de Historia Natural* 82: 277-297
- Vázquez-Ramírez, J. 2014. Fenología reproductiva de las comunidades vegetales del Parque Nacional Cofre de Perote, Veracruz, México. Tesis de maestría. Universidad Veracruzana. Veracruz, México.
- Vellend, M. & Geber, A.M. 2005. Connections between species diversity and genetic diversity. *Ecology Letters*, 8: 767-781.
- Vellend, M. 2004. Parallel effects of land-use history on species diversity and genetic diversity of forest herbs. *Ecology*, 85: 3043-3055
- White TJ, Bruns T, Lee S, Taylor J 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, White TJ ed. *PCR protocols: a guide to methods and applications*. San Diego, Academic Press. Pp. 315-322
- Widmer A. & Baltisberger M. 1999. Molecular evidence for allopolyploid speciation and single origin of the narrow endemic *Draba ladina* (Brassicaceae). *American Journal of Botany* 86(9): 1282–1289
- Willis, K. J., y R. J. Whittaker. 2000. «The Refugial Debate». *Science* 287 (5457): 1406-7. <https://doi.org/10.1126/science.287.5457.1406>.
- Wright, S. 1931. Evolution in mendelian populations. *Genetics*, 16: 111-178
- Wright, S. 1965. The interpretation of population structure by F-Statistics with special regard to systemas of mating. *Evolution* 19(3): 395-420.
- Yang S, Xue S, Kang W, Qian Z, Yi Z. 2019. Genetic diversity and population structure of *Miscanthus lutarioriparius*, an endemic plant of China. *PLoS ONE* 14(2): e0211471

X. Apéndice

Ejemplares de herbario: *Draba nivicola*: QMEX 00000163; QMEX 00000164; QMEX 000000308; QMEX 0000000765; QMEX 00000769; QMEX 00000771; QMEX 00000776. *Draba jorullensis*: QMEX 00000775; QMEX 00000783; QMEX 00000788; QMEX 00000789; QMEX 00001163; QMEX 00001132; QMEX 00001153; QMEX 00001154; QMEX 00001159; QMEX 00001155.

Accesiones de GenBank: ITS: *Arabis turrita*, AJ232906; *Draba nemorosa*, MK044724; *Draba platycarpa*, AF146492; *Draba aurea*, DQ467639; *Draba helleriana*, DQ467533; *Draba cuneifolia*, DQ467526. trnL: *Draba platycarpa*, GU202647; *Arabis turrita*, DQ180265; *Draba nemorosa*, DQ466927; *Draba cuneifolia*, DQ467111; *Draba helleriana*, DQ467115; *Draba aurea*, DQ467212; *Draba cuneifolia* var. *sonorae*, GU202708. trnS-trnG: *Lepidium draba* AY833709; *Lepidium propinquum*, AY833694; *Draba nemorosa*, HM047328. matK-trnK: *Tomostina cuneifolia*, MF963480; *Draba nemorosa*, JF953670; *Draba aurea*, JN966259; *Arabis turrita*, AF144347; *Arabis alpina*, MK926402.

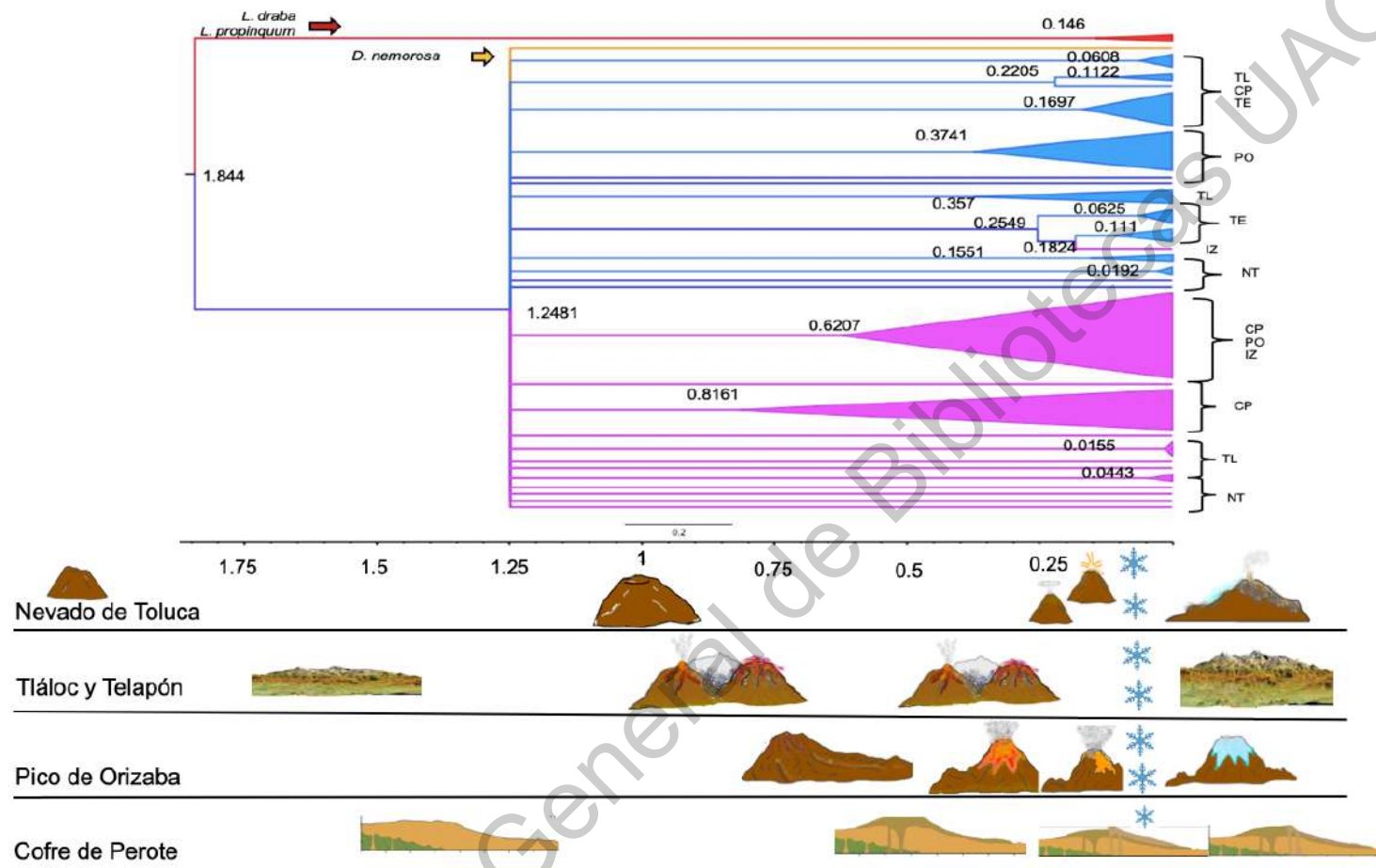


Figura 26. Historia genealógica (arriba) de *D. jorullensis* (azul) y *D. nivicola* (rosa) en las poblaciones naturales en la FVTM y la cronología de la formación de los picos principales (abajo), con sus erupciones y última glaciación (asteriscos azules). (Elaboración propia con imágenes modificadas de Carrasco-Nuñez, 2010 y García-Tovar *et al.* 2015).

Dirección General de Bibliotecas UAQ