



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

**¿Especiación simpátrica en *Brongniartia vazquezii*
(Faboideae: Fabaceae)?**

TESIS PROFESIONAL
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
B I O L O G O
P R E S E N T A:

Alexis Enrique Florentino López

DIRECTOR
Dr. Óscar Dorado

CUERNAVACA, MORELOS

Marzo, 2022

Dedicatoria

A mis padres; Isidro Florentino y Victorina López. A ellos, por siempre apoyarme en mis decisiones, por esas palabras de aliento que me dieron durante toda la carrera y cuando más lo necesitaba, por sus consejos de vida, y por brindarme todo sin importar la situación en la que se encontraran. A ellos por ser el sostén de mi vida.

Los Amo.

Agradecimientos

Agradezco a mis padres por confiar en mí en todo momento; por nunca dudar de mis capacidades y siempre brindarme todo su amor y apoyo.

Al Dr. Óscar Dorado, en primer lugar, por brindarme la oportunidad y confianza de realizar este proyecto, así como compartir todos sus conocimientos conmigo volviéndose mí padre académico. Gracias por todos los regaños, por presionarme siempre a dar lo mejor de mí, por todos sus consejos y por ser un gran amigo. A la Dra. Dulce M. Arias, por todo el apoyo brindado durante mi proyecto de tesis y por la confianza brindada, por su puesto también por los regaños y consejos. Al maestro Esaú Leyva, por ser un buen amigo, y gran docente, así mismo, por haber participado en la revisión de mi tesis y por ser parte del comité evaluador. La Dra. Rosa Cerros y la Dra. Alejandra Vázquez también formaron parte importante del comité revisor; sus críticas, comentarios y consejos brindados para el desarrollo de este proyecto, ya que lograron reforzar y concluir este proyecto de una manera muy satisfactoria. También agradezco al Dr. Alfonso Delgado, por todo su apoyo académico durante mi estancia en el Herbario Nacional MEXU; también al Dr. Pedro Mercado quien me apoyo en la parte del estudio citogenético; y también, por supuesto a la M. en C Leticia Torres por su colaboración en el estudio palinológico de *Brongniartia vazquezii*. El M. en C. Rafael Torres me ayudó mucho para todo el transcurso de mi estancia académica en MEXU.

A la familia Suarez, por permitirme trabajar en sus tierras, por brindarme su hospitalidad, confianza y abrirme las puertas de su casa. Gracias al Sr. Virginio Suárez por todo su apoyo en campo, al igual que su hijo Axel Suárez quienes estuvieron al pendiente de nuestra seguridad durante los muestreos en campo. A la Sra. Cristina Morales y su hija Eli Suarez, por toda la hospitalidad y por todas las atenciones brindadas durante el trabajo de campo. A Denis Suarez, Abigail Suarez, Alondra Suarez y Emily Suárez por convertirse en unas grandes amigas. Sin todos ellos no se hubiera logrado este proyecto.

Agradezco a mis hermanos: Jesús Florentino, Blanca Florentino, Kenia Florentino y Claudia Florentino, por siempre tenderme su mano para apoyarme cada vez que lo necesitaba; por creer en mí y también por sus regaños: los amo hermanos. A mis sobrinos, quienes son parte de mi motor para seguir adelante superándome día a día y brindarme apoyo cada vez que lo requerí.

Agradezco infinitamente a mis compañeros del grupo Trópico Seco: José María Almonte (Chema), Gerardo Cuevas, Francisco Ortiz, Felipe León, Lizbeth Soriano, Daniela Zarco, Grisel Oaxaca, Karime López, por apoyarme incondicionalmente durante mi trabajo tanto en campo, como el trabajo de escritorio. Por todas las enseñanzas que me han brindado y por su amistad incondicional.

A mis compañeros de generación, mis hermanos académicos: Juan Rodríguez, Andrea Escobar, Emanuel Flores, Usiel Santos, Rances Balderas, Azucena Cuevas, Monserrat

Shalom, Yeretzi Donají, Aldo Vidal, y todos mis compañeros del B14 de la generación 2015-2019, que con todos ellos inicié mi camino universitario. Gracias a los que se sumaron en semestres posteriores, que de igual manera se han convertido en parte importante en mi vida académica.

Gracias a mis amigos del alma, que estuvieron en el momento más difícil que pude pasar durante la carrera: Luz Bello, Martha Catalán, Dara Palma, Mafer Catalán, Daniel Salinas y Enrique Mosso.

A mi mejor amigo de la preparatoria Emanuel Navarro, por su apoyo brindado en todo este tiempo. Mil gracias a él y a su familia por abrirme las puertas de su casa mientras realizaba mi estancia en la UNAM.

A mis amigos que me acompañaron en diferentes salidas al campo, cuando me tocaba ir solo: Anyelo Martínez, Emanuel Flores, Juan Rodríguez, Alexia Octavino, Victoria Bustamante y a Brisa Maciel Mercado.

ÍNDICE

Resumen	7
I. Introducción	8
II. Antecedentes	13
II. 1. Historia Evolutiva el Género <i>Brongniartia</i>	13
II. 2. Descripción Taxonómica de <i>Brongniartia vazquezii</i>	17
II. 3. Grupo Podalyrioides y Variación Floral	20
II.4. Especiación y Concepto de Especie.....	22
III. Metodología	26
III. 1. Zona de estudio	26
III. 2. Estudio morfológico	28
III. 3. Estudio palinológico	30
III. 4. Estudio citogenético	32
III. 5. Estudio de aislamiento reproductivo.....	36
III. 5.1 Ciclo floral	36
III. 5.2 Cruzas Entre flores moradas y blancas	37
III. 6. Modelado de nicho ecológico	39
IV. Resultados	41
IV. 1. Estudio Morfológico	41
IV. 2. Estudio Palinológico	48
IV. 3. Estudio Citogenético	53
IV. 4. Estudio de aislamiento reproductivo.....	62
IV. 4.1 Ciclo Floral	62
IV. 4.2 Cruzas Entre flores moradas y blancas	66

IV. 5. Modelado de Nicho Ecológico.....	67
V. Discusión	70
V. 1. Estudio Morfológico	70
V. 2. Estudio Palinológico	71
V. 3. Estudio Citogenético	73
V. 4. Estudio de aislamiento reproductivo	74
V. 5. Modelado de Nicho Ecológico	75
VI. Conclusión	79
VII Literatura Citada	84

Resumen

Como parte de un programa exhaustivo de exploraciones botánicas dentro de la Reserva de la Biosfera Sierra de Huautla, especialmente para la búsqueda de miembros de la familia Fabaceae; fueron descritas dos nuevas especies para la ciencia: *Brongniartia montalvoana* y *B. vazquezii*. El género *Brongniartia* es casi endémico de México; el cual incluye arbustos o en algunos casos árboles con flores vistosas y una gran variedad de colores. Es importante mencionar que el color blanco no había sido registrado en ninguna especie de este género. *B. vazquezii* (Dorado, 1987) fue descrita como una especie con flores de color morado. Desde la descripción original se habían realizado numerosas colectas para esta especie, particularmente desde que esta región se decretó como área natural protegida en 1993, todas con el mismo color de flor. Sin embargo, recientemente se encontraron algunos individuos mezclados con los típicos individuos (de color morado) que presentan flores blancas. En esta población silvestre mezclada (moradas y blancas), no existen individuos con tonalidades intermedias. En este sentido, es difícil determinar el cambio de dirección de este rasgo en esta especie, es decir si es un rasgo derivado o ancestral. Basado en el hipotético caso de que se trate de un evento único, es probable que el color blanco no sea ancestral; la explicación más parsimoniosa es que el color blanco representa un estado de carácter derivado causado por una mutación. Por otro lado, el color blanco de las flores podría representar una forma vestigial en individuos donde este rasgo está disminuyendo su frecuencia en la población. Una tercera posibilidad es que la forma blanca es consecuencia de un proceso de especiación simpátrica y, por lo tanto, estas formas podrían estar aisladas reproductivamente de los individuos con flores de color morado. Para seleccionar la hipótesis más robusta se realizó un estudio donde se produjo información para evidenciar o no: i) si el cambio en la coloración de la flor se trata de poliploidía, ii) marcadores morfológicos adicionales entre ambas formas, donde también se incluye un estudio palinológico iii) si existe flujo génico entre ambas formas. Además, se incluyó: iv) un estudio de modelado de nicho ecológico, para incrementar la evidencia de que sólo se encuentra una sola población con flores blancas.

I. INTRODUCCIÓN

El género *Brongniartia* Kunth (Fabaceae, Faboideae), pertenece a la tribu Brongniartieae (Cardoso *et al.* 2017; Queiroz *et al.* 2017), es virtualmente endémico de México y se distribuye principalmente a lo largo de la costa del pacífico desde Sonora hasta Chiapas; también se interna en estados del centro (Cuenca del Río Balsas) y noreste del país, una especie (*B. minutifolia* S. Watson) se comparte entre Chihuahua y el sur de Texas. Es importante mencionar que *B. ulbrichiana* Daños, es endémica de Bolivia, aun cuando está descrita de ese país, es muy posible que represente otro género (Dorado *com. pers.*) basado entre otras razones en lo que se menciona en Queiroz *et al.* (2017), que incluye típicamente arbustos o algunas especies arbóreas. La mayoría de sus especies presentan flores muy llamativas, con una variedad significativa de colores (Dorado y Arias, 2015) que van de rojo, marrón, lila, rosa salmón, morado, azul, hasta el amarillo (Figura 1); es importante mencionar que el color blanco no había sido registrado en ninguna especie de este género.

Dentro de un programa exhaustivo de exploraciones botánicas dentro de la Reserva de la Biosfera Sierra de Huautla (REBIOSH) desde hace más de dos décadas se han realizado innumerables expediciones botánicas, especialmente para miembros de la familia Fabaceae. Como producto de dichas exploraciones, se han descrito dos nuevas especies para la ciencia en la zona, ambas pertenecientes del género *Brongniartia*: *B. montalvoana* Dorado y D. M. Arias y *B. vazquezii* Dorado; la primera es una especie arbórea de flores rojas (Figura 2a) que se distribuye a lo largo de la cuenca alta del Río Balsas (Dorado y Arias. 1992) y, la segunda, *B. vazquezii* es una especie arbustiva con flores moradas (Figura 2b), la cual había sido considerada endémica del sur de Morelos en la Sierra de Huautla (Dorado. 1989); dicha región está cubierta principalmente por selva baja caducifolia (**SBC**) (Miranda y Hernández X. 1963) o bosque tropical caducifolio (**BTC**), (Rzedowski. 1978), también llamado Bosques Secos Tropicales Estacionales (**BTE**) (DRYFLOR. 2016). Recientemente se encontró una población de *B. vazquezii* localizada a alrededor de 45 km en línea recta hacia el norte (Dorado. *com. pers.*); asimismo, se han reportado poblaciones de esta especie en los estados de Puebla y Guerrero, por lo que la distribución de esta especie es más amplia de lo que se creía.

Desde la descripción original de *B. vazquezii* (Figura 2b) se han realizado numerosas colectas, donde todos los individuos tienen el mismo color de flor; sin embargo, recientemente se encontraron algunos individuos mezclados con los típicos individuos morados, los cuales tienen flores blancas (Figura 3), un color muy distintivo nunca descrito en cualquiera de los casi 65 nombres de especies del género (Dorado y Arias. 2015). En esta población silvestre mezclada (moradas y blancas) de *B. vazquezii*, no existen individuos con tonalidades intermedias.

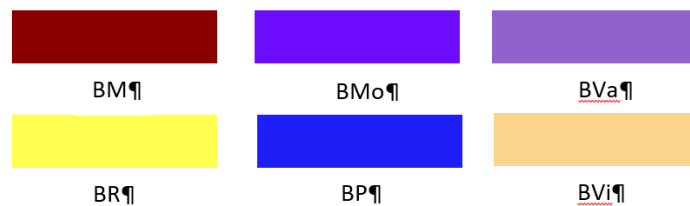


Figura 1. Principales tipos de color de los pétalos de flores en *Brongniartia*; **BM**= *B. montalvoana* Dorado y D.M. Arias, **BMo**= *B. mortonii* McVaugh, **BVa**= *B. vazquezii*, **BR**= *B. rieserbergii*, **BP**= *B. papyracea* Dorado, **BVi**= *B. vicioides* M. Martens y Galeotti.

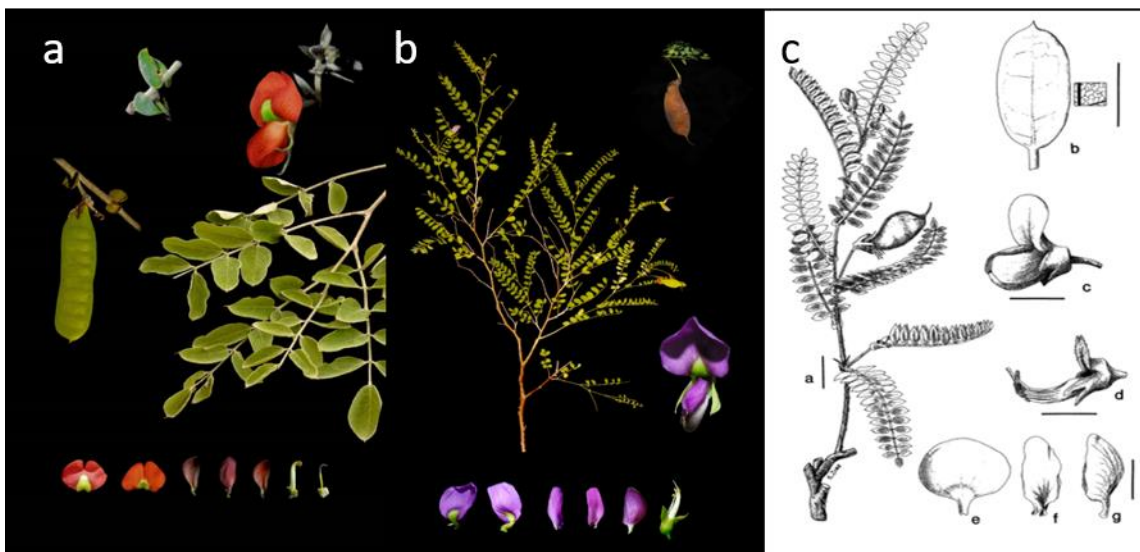


Figura 2. A) *Brongniartia montalvoana*, lámina ilustrativa tomada del banco de fotos de Ó. Dorado; B) *B. vazquezii*, lámina ilustrativa tomada del banco de fotos de Ó. Dorado; C) Ilustración original de la descripción de *B. vazquezii* Dorado (1989).



Figura 3. *Brongniartia vazquezii* forma blanca, lámina ilustrativa tomada del banco de fotos de Óscar Dorado.

El color blanco de las flores podría representar una forma vestigial en individuos donde este rasgo está disminuyendo su frecuencia en la población; esta explicación parecería poco probable porque la forma blanca solo se encuentra en un área muy reducida (alrededor de 250 m²) y en ningún otro sitio de su distribución general; esto fortalece la idea de que el color blanco de las flores no es vestigial.

Por supuesto que es difícil determinar la dirección del cambio de este rasgo en esta especie (Weiss. 1995). Basado en el hipotético caso de que se trate de un evento único *-de novo-*, es probable que el color blanco no sea ancestral y represente un estado de carácter derivado causado por un evento mutacional (autopomorfía). Incluso, la forma blanca podría ser consecuencia de un proceso de especiación simpátrica y, por lo tanto, estas formas (morada y blanca) podrían estar aisladas reproductivamente entre sí; todo esto tomando

como concepto de especie el biológico o reproductivo de Mayr (1942): “una especie es un grupo (o población) de individuos con características similares, que son interfértiles y que están aislados reproductivamente de otras poblaciones”. Adicionalmente, es difícil determinar el futuro ecológico-evolutivo del cambio ya que no se conoce si ese rasgo es ventajoso, desventajoso o neutral; lo anterior, tomando en cuenta que el ambiente es cambiante, por lo tanto, un rasgo que en la actualidad es neutro en un futuro podría ser ventajoso o desventajoso. Algo que podría determinar si el carácter blanco en la flor es ancestral o derivado es una filogenia del género; actualmente se cuenta con una colaboración con colegas de Brasil, especialistas en diferentes grupos de leguminosas con la cual en breve se producirá una hipótesis de relaciones filogenéticas de *Brongniartia* basada en marcadores moleculares y, dependiendo de los resultados (nivel de variación de las especies, particularmente las hermanas), se podría evidenciar la dirección del cambio de color en *B. vazquezii*.

Con base en lo anterior, se decidió iniciar un estudio para determinar lo que está ocurriendo en *B. vazquezii* con respecto al color de la flor. En primera instancia se buscarán posibles marcadores morfológicos (además del color de flor) y/o genéticos —incluyendo el número cromosómico y cariotipos— entre ambas formas para distinguirlas, ya que existe cierta información en el sentido de que incluso podría tratarse no solo de dos variedades diferentes sino incluso de dos especies diferentes. Existen numerosos ejemplos en plantas en los que se ha documentado que es posible que puede existir diferenciación intrapoblacional (sin aislamiento geográfico) de la misma especie y por lo tanto especies diferentes pueden originarse vía especiación simpátrica, definida como, un proceso evolutivo donde ocurre un aislamiento reproductivo sin aislamiento geográfico (Mayr, 1963).

Resulta pertinente determinar si existe aislamiento reproductivo entre ambas formas, a través de pruebas de fertilización cruzada (morada x morada, morada x blanca y blanca x blanca). Si ocurre entrecruzamiento y presencia de frutos mezclados con semillas en ambas formas, entonces la presencia de los colores contrastantes de flores puede ser explicada por variabilidad genética en la población (es decir, las dos formas son coespecíficas) o en

contraste, se trata de un caso de especiación simpátrica. En este caso de estudio de *B. vazquezii*, es posible que la forma blanca pueda representar un ejemplo de especiación simpátrica debido a que la forma blanca está confinada a un área determinada (pequeña de alrededor de 250 m²); no se han encontrado poblaciones adicionales. En este sentido, el evaluar rasgos morfológicos, genéticos (números cromosómicos, por ejemplo), de aislamiento reproductivo, de distribución, entre otros, ayuda a determinar si ambas formas representan especies diferentes o si se trata de la misma especie.

Con base en lo anterior se ha planteado como objetivo general: determinar si existen diferencias adicionales al color de la flor en las dos formas de *B. vazquezii* (morada y blanca) y que éstas puedan evidenciar, o no, la coespecificidad de las poblaciones de esta especie. Los objetivos específicos son: **a)** determinar la presencia marcadores morfológicos adicionales (además del color de flores) mediante rasgos descriptivos generales y de polen, así como **b)** determinar marcadores citogenéticos (número cromosómico y cariotipos); **c)** evaluar si existe aislamiento reproductivo entre ambas formas; y **d)** determinar la distribución potencial de *B. vazquezii* a través de un estudio de modelado de nicho ecológico.

El estudio de *B. vazquezii* aportaría un ejemplo, más de especiación simpátrica en la naturaleza, así como representa una gran oportunidad para conocer con mayor profundidad cómo ocurre especiación sin necesidad de que exista alopatria como una fuente de divergencia evolutiva en plantas, particularmente en una de las familias más diversas e importantes del mundo, desde el punto de vista ecológico, hasta económico, p. ej.: las leguminosas.

II. ANTECEDENTES

II.1. Historia evolutiva del género *Brongniartia* Kunth

En la última década se han realizado estudios filogenéticos para la familia de las leguminosas, los cuales han ayudado a una mejor comprensión acerca de la historia evolutiva y la clasificación de esta gran familia de plantas con flor (Queiroz *et al.*, 2017). Una de las hipótesis más robustas propone que la familia se divide en dos grupos de acuerdo con la organización de los pétalos de la flor; uno de flores con pétalos indiferenciados (Mimosoideae, Caesapinoideae) y el segundo con flores de pétalos diferenciados (Papilionoideae). Así mismo esta clasificación sustenta que la flor papilionada es un carácter de los grupos más derivados de esta familia, mientras que las organizaciones florales de Caesalpinoideae y Mimosoideae son ancestrales, teniendo pétalos indiferenciados y estambres libres, los cuales también se presentan en algunas tribus ancestrales dentro de la subfamilia Papilionoideae (Polhill, 1981). Por lo tanto, esta perspectiva evolutiva ejerció una influencia para poder construir la clasificación de las leguminosas (LPWG, 2017).

En la subfamilia Papilionoideae se encuentra la tribu Brongniartieae la cual fue definida por Arroyo (1981). Inicialmente esta tribu incluía únicamente a los géneros anfitropicales americanos; *Brongniartia* y *Harpalyce* Moc & Sessé ex DC. principalmente por compartir un cáliz fuertemente bilabiado y un embrión con una radícula recta (Arroyo, 1981). Estos rasgos compartidos entre *Brongniartia* y *Harpalyce* también se han encontrado en un grupo llamado Templetonia perteneciente a la tribu australiana Bossiaeeae (Polhill, 1981). Dentro de esta tribu se han incluido diferentes géneros a lo largo de diversos estudios; como se mencionó anteriormente el grupo Templetonia se encuentra más cercanamente relacionado a Brongniartieae que al grupo australiano Bossiaea (Crips y Weston, 1987; Crisp *et al.*, 2000; Kajita *et al.*, 2001). De igual forma Crisp y Weston (1987) incluyeron oficialmente los géneros *Hovea* R. Br. Ex W.T. Ait, *Lamprolobium* Benth., *Plagiocarpus* Benth. y *Templetonia* R.B. ex Ait. a la tribu Brongniartieae. Actualmente a esta tribu se incluyeron los géneros *Cyclolobium* Benth. y *Poecilanthus* Benth (Hu *et al.* 2000, 2002), y por último se incluyó el género *Tabaroa* L. P. Queiroz, G. P. Lewis y M. F. Wojc., el

cual es un género recién descubierto en SBC (Queiroz *et al.*, 2010). Actualmente esta tribu se encuentra constituida por 13 géneros y 153 especies (Ross y Crisp, 2005; Queiroz *et al.*, 2010), con morfologías dispares, las cuales divide a esta tribu en tres grupos (Figura 4), es importante mencionar que la tribu Brongniartieae muestra una amplia disyunción entre Australia y el nuevo mundo. Es de suma importancia mencionar que estos géneros actualmente agregados dentro de esta tribu anteriormente se encontraban en tres tribus diferentes dentro de las Papilionoideae (Polhill, 1981).

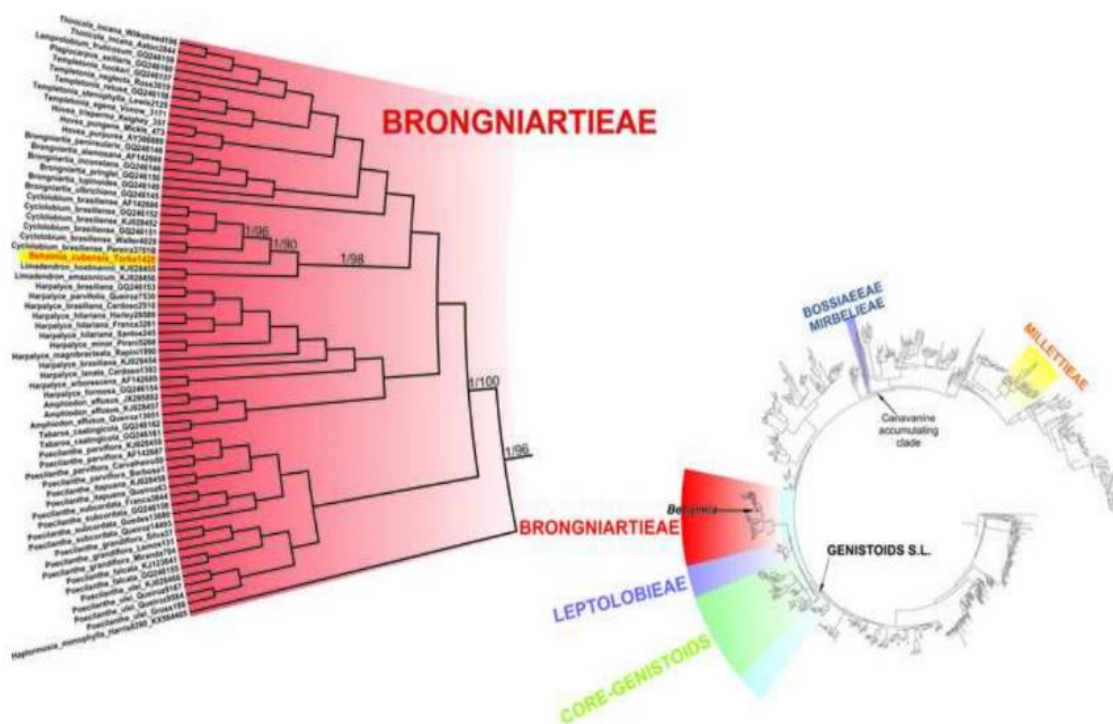


Figura 4. Filogenia donde de los tres clados de leguminosae, en especial el clado Genistioides S. I., donde de color rojo se encuentra la tribu Brongniartieae (Queiroz, 2016).

En un reciente estudio se obtuvo una filogenia de la tribu Brongniartieae mediante un análisis de Máxima Verosimilitud y de probabilidad Bayesiana; donde encontraron cuatro clados fuertemente sustentados: *i)* el género *Poecilanthe*, *ii)* un clado compuesto por los

géneros *Amphiodon*, *Tabaroa* y *Harpalyce*, **iii**) un clado que incluye a los géneros *Limadendron*, *Benhaimia* y *Cyclolobium*, y el **iv**) el género *Brongniartia* (Figura 5). Todos los estudios filogenéticos han demostrado hasta el momento que la tribu Brongniartieae es uno de los subclados dentro del clado Genistioides S. I., el cual es una ramificación temprana y rica en especies del grupo de las Papilionoideae. Este clado incluye 94 géneros y más de 2,400 especies, distribuidas principalmente en el hemisferio sur (Crisp *et al.* 2000).

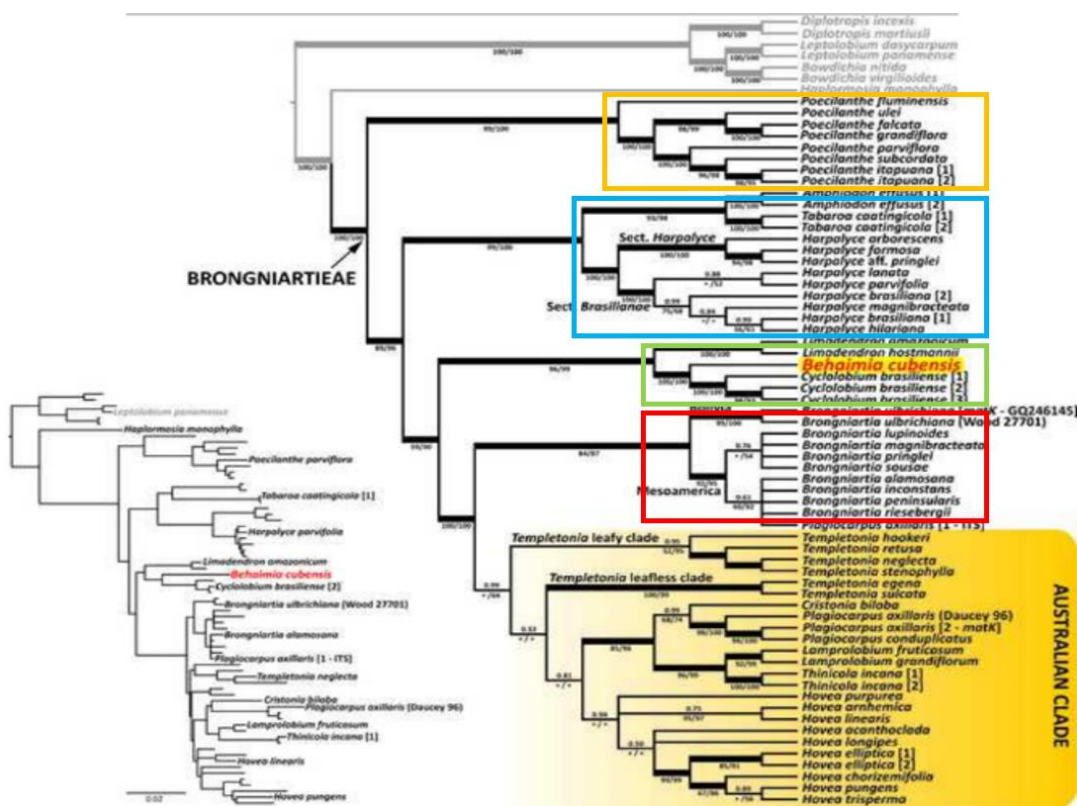


Figura 5. Filogenia de la tribu Brongniartieae, donde se marca con recuadros de color los cuatro clados que conforman dicha tribu: naranja el clado formado por el género *Poecilanthe*, azul los géneros *Amphiodon*, *Tabaroa* y *Harpalyce*, verde los géneros *Limadendron*, *Benhaimia* y *Cyclolobium*, y el recuadro rojo el género *Brongniartia*. Dentro del género *Brongniartia* existen algunos peines aún sin resolver (Queiroz, 2016)

La filogenia de esta tribu muestra un clado de una especie australiana insertada dentro del clado del género americano *Brongniartia*, lo que significa que este género está más emparentado con el clado australiano *Plagiocarpus*, que con géneros del nuevo mundo (Queiroz *et al.*, 2010; Cardoso *et al.*, 2012a, 2013a). De igual manera, el análisis multiloci demuestran que *Brongniartia* filogenéticamente está más relacionado con el clado australiano (Thompson *et al.*, 2001; Queiroz *et al.*, 2010; Cardoso *et al.*, 2012a, 2013a) que a los grupos americanos de la tribu Brongniartieae. Además de esto último la monofilia de *Brongniartia* se considera un tanto dudosa ya que se encontró que *B. ulbrichiana* no se agrupa con otras especies dentro del género (Queiroz *et al.*, 2010), siendo *B. ulbrichiana* una especie boliviana y el resto de las especies del género agrupadas en México y una compartida con Estados Unidos. Para poder comprender la biogeografía y los procesos de diversificación dentro de este género se tendrán que hacer más análisis exhaustivos.

En conclusión, con estudios filogenéticos multiloci se ha encontrado que la filogenia de la tribu Brongniartieae está altamente resuelta para la mayoría de los clados que la componen, especialmente en los clados americanos, en donde todos los géneros actualmente circunscritos fueron altamente sustentados como monofileticos; a excepción del género *Brongniartia* ya que la especie *Plagiocarpus axilaris* (cuyo género es australiano) se encuentra más emparentado con el género americano que con los australianos.

La tribu Brongniartieae presenta una gran diversidad morfológica, una amplia distribución, y una variación muy marcada dentro de sus preferencias ecológicas a excepción de: *Brongniartia* con 65 especies, *Harpalyce* con 25 spp y *Hovea* con 37 spp. En general la tribu Brongniartieae es un grupo con géneros bastante pequeños, la mayoría con menos de 10 especies y algunos con solo una o dos especies (Cardoso *et al.*, 2012). Geográficamente la tribu presenta una amplia disyunción intercontinental entre el Nuevo Mundo y Australia, pero también por separaciones geográficas recurrentes en todo el continente coincidente con cambios de bioma entre géneros hermanos.

II. 2. Descripción taxonómica de *Brongniartia vazquezii*

De acuerdo con Dorado (1989), *Brongniartia vazquezii* es un arbusto pequeño de 1.5 m de altura, corteza grisácea, las ramas más jóvenes de color gris verdoso, estrigulosas a glabras en la madurez, tricomas no glandulares de tres celdas de 0.1 a 0.2 mm de largo. Estípulas (2.5) 3-7 mm de largo, 2-3 mm de ancho, foliáceas, semicordadas, el lóbulo apical agudo, el lóbulo basal redondeado, escasamente estriguloso a glabro en la madurez, verde pálido, con venación verde oscuro visible abaxialmente, a veces decidua antes de las hojas 3.8-5 cm de largo, con (13)17-31 foliolos; pecíolo 3-6 mm de largo, terete, estriguloso, glabro en la madurez; peciolulo 0.2-3 mm de largo, 1.3-3 mm de ancho, base aguda o redondeada, elíptica u oblanceolada, escasamente estrigulosa a glabro en la madurez, verde pálido, ápice redondeado a agudo y mucronado; venación broquidodroma, venas más oscuras que la lámina circundante y especialmente conspicuas en la superficie abaxial, venas secundarias comúnmente más oscuras que la lámina circundante y especialmente conspicuas en la superficie abaxial, venas secundarias 4-5, con ángulo agudo de divergencia, las venas secundarias superiores son más obtusas que las venas inferiores del más alto nivel terciario. Flores solitarias o apareadas en pedúnculos axilares; pedúnculo 1.0-1.4 cm de largo, delgado, ascendente; bractéola 0.5 cm de largo, 0.1 mm de ancho, lineal, a menudo decidua antes de la antesis; cáliz 6-7 mm de largo (incl. base), campanulado, glabro externamente, pubescente internamente, lóbulos 3.5-4.2 mm de largo, dos lóbulos superiores unidos aproximadamente 5/6 de su longitud, lanceolados, ápices agudos; pétalos rosa a lila (en flores secas); estandarte (incl. la uña) 10-11 mm de largo, 10 - 10.5 mm de ancho, orbicular, la uña de 1.5 mm de largo; alas (incl. la uña) 9-10 mm de largo, 3.5-4 mm de ancho, elípticas, redondeadas en el ápice, la uña de 1 mm de largo, con una aurícula subigual en un ángulo de 45°; pétalos de quilla (incl. la uña) 10.5-11 mm de largo, 4.5-5 mm de ancho, semilunado, unidos ligeramente por debajo de la mitad, la uña 1.7-1.8 mm de largo, aurícula formando un ángulo recto con la uña; androceo 10-11 mm de largo, fuertemente incurvado dentro de la quilla, filamento libre vexilar 8-9 mm de largo; ovario 3.6-3.7 mm de largo, glabro, estilo de 6.5 mm de largo. Frutos (solo frutos inmaduros vistos) 2.2-2.5 cm de largo, 9.5-11 mm de ancho, oblongo-obovado a lunado, glabro, ápice

redondeado y con un mucrón hasta de 3.5 mm de largo, semillas 2-3. Semillas de 6-7 mm de largo, 5-6.5 mm de ancho, 3-3.4 mm de grueso, elíptica a circular, verde oliva a café castaño, moteada con negro (Figura 6).



Figura 6. Lamina ilustrativa de *B. vazquezii*.

II. 3. Grupo Podalyrioides y variación floral

El género *Brongniartia* comprende alrededor de 65 especies (Dorado *et al.*, 2019), las cuales se dividen en 5 grupos principales (Dorado *com. pers.*); uno de los cuales es el grupo Podalyrioides con alrededor de 25 especies (Anexo 1). Este se distribuye principalmente a lo largo de la costa del pacífico desde Sonora hasta Chiapas. Una de las características de este grupo es la coloración de sus flores, encontrando tonalidades que van desde el amarillo (*B. yahualica* Dorado & D. M. Arias), rojo (*B. montalvoana*), púrpura (*B. mertonii* McVaugh), rosa (*B. herbacea* R. Grether & Rzed.) y morado (*B. vazquezii*). La coloración de la flor es determinante en el grupo Podalyrioides, tanto así que es un rasgo que ayuda, inicialmente, a clasificar las 25 especies del grupo en: **i)** flores amarillas, al norte de México, y **ii)** especies con flores de tonalidades más oscuras como lo son: morado, morado-azul, lavanda, lila, marrón a rojo ladrillo, rosa; las especies con dichas tonalidades se distribuyen principalmente al centro de la república. Como ya se mencionó anteriormente, el rasgo del color blanco en las flores no se había reportado en ninguna otra especie del género *Brongniartia*, por lo cual es un hallazgo importante para dicho grupo, ya que podría representar una novedad evolutiva. Existe un hallazgo reciente que actualmente se está describiendo en el estado de Guerrero, con flores blanco-amarillentas, pero no son blancas como tal, y, además, se asume que no hay polimorfismo en ese carácter, como tal, cosa que en la forma blanca de *B. vazquezii* sí ocurre.

De acuerdo con Dorado *et al.* (2019) *B. vazquezii* está cercanamente emparentada con *B. bicornuta* Dorado, D. M. Arias & J. J. de Jesús-Almonte, debido a que ambas especies presentan las siguientes características: **i)** ramas y follaje glabros, estigulosos o pilosos y **ii)** pubescencia de 0.1-0.2 (-0.4) mm de largo. Las características que logran diferenciar a estas dos especies son: **i)** longitud de la hoja, donde en *B. vazquezii* van de 3.5-8 cm y en *B. bicornuta* son de 7.5-15 cm, y **ii)** el estandarte en *B. vazquezii* es de color morado-azul y a veces lila, mientras que en *B. bicornuta* es bicolor, lavanda en la base rodeando una mácula amarillo-verdosa, llegando gradualmente a verde amarillento en la parte apical.

A continuación, se presenta una clave dicotómica y artificial de las especies del grupo Podalyrioides (Dorado, 1988, y Dorado *et al.*, 2019).

1.- Flores amarillas

2.- Hojas entre 20-59 pares de pinas, comúnmente estrechos que 1.6 mm, elípticamente alineados, a menudo terete o revoluta plegada.

3.- Partes vegetativas y florales densamente estrigulosa; bractéolas 1.5-2.3 mm de largo **B. canescens** (S. Watson) Rydb.

3.- Partes vegetativas y florales glabras o a veces escasamente pilosas; bractéolas 0.3-1.1 (-1.5) mm de largo **B. minutifolia** S. Watson

2.- Hojas entre 13-27 pares de pinas, comúnmente separadas de 2 mm, nunca son linealmente elípticas a lineal lanceoladas o terete o doblada.

4.- Flores semitubular; cáliz largo como 2 cm; se conoce solo de una región pequeña al norte de Jalisco, en Yahualica, y al sur de Zacatecas.

..... **B. yahualica** Dorado & D. M. Arias

4.- Flores campanuladas; cáliz pequeño de 1.6 cm de largo; al sur de Sonora y norte de Durango.

5.- hojas elípticas muy estrechas, 4 veces más largo que ancho; al sur de Sonora..... **B. tenuifolia** Standl.

5.- hojas estrechamente elípticas a orbiculares, doblemente más largo que anchas al norte de Durango..... **B. riesebergii** Dorado

1.- Flores contrarias (morado, morado-azul, lavanda, lila, marrón a rojo ladrillo, rosa).....6

6.- Tallo y brácteas con corteza papirácea muy conspicua de color Amarillo-verdoso; flores morado-azul a morado; en la costa sur of Jalisco..... **B. papyracea** Dorado

6.- Tallos y ramas sin corteza papirácea (rara vez con corteza papirácea ligeramente rojiza en la base del tronco en *B. mertonii* McVaugh); flores de color purpura, con ramas color blanco plateado.....7

7.- Cáliz pequeño como 1.1 cm; fruto pequeño de 3.7 cm de largo, 1-3 semillas; flores de color rojo pálido, rosa, morado-azul, rojo pálido, morado o lavanda.....8

8.- Ramas y follaje glabros, estigulosos o pilosos, pelos de 0.1-0.2 (-0.4) mm de largo.

9.- Longitud de la hoja 3.5-8 cm, tamaño promedio (0.3) 0.4-0.66 X 0.13-0.3 cm; estandarte de color morado-azul, a veces lila, todo el pétalo (a excepción de la macula de color verdosa)..... **B. vazquezii** Dorado

9.- longitud de las hojas 7.5-15 (-19) cm, tamaño promedio 0.6-2.2 (-3) X 0.35-0.8 (-1.2) cm; estandarte color lavanda pero bicolor (lavanda en la base que rodea

la mácula de color amarillo verdoso, convirtiéndose gradualmente de color verde amarillento en la parte superior).....**B. bicornuta** Dorado

II. 4. Especiación y concepto de especie

En todo el mundo, actualmente existe una gran diversidad de especies; por ejemplo, la Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO, 2020) reporta que se han descrito alrededor de 1.5 a 2 millones de especies. No obstante, afortunadamente, mucho se ha hablado del tema, se dice que podrían existir alrededor de 8.7 millones de especies vivas o más (Mora, *et al.*, 2011). El estudio sobre cómo se ha originado esta gran diversidad de especies ha sido uno de los principales objetivos de estudio dentro de la biología evolutiva (Cuevas, 2012). Por su puesto que uno de los primeros personajes en estudiar el origen de las especies fue, precisamente el mismo Darwin, quien se refirió al origen y diversificación de las angiospermas como uno de los misterios más grande (Cuevas, 2012). Es un hecho que actualmente existe más evidencia sobre cuáles son los procesos de especiación, lo cual ha ayudado a comprender y tener una idea más amplia sobre este proceso (especiación). La especiación puede ser considerada como un proceso temporal por el que algunas poblaciones se diferencian y alcanzan una independencia evolutiva (Perfectti, 2002). Antes de que el proceso de especiación se cumpla por completo se van alcanzando varios grados de diferenciación (Harrison, 1998) (Figura 7).

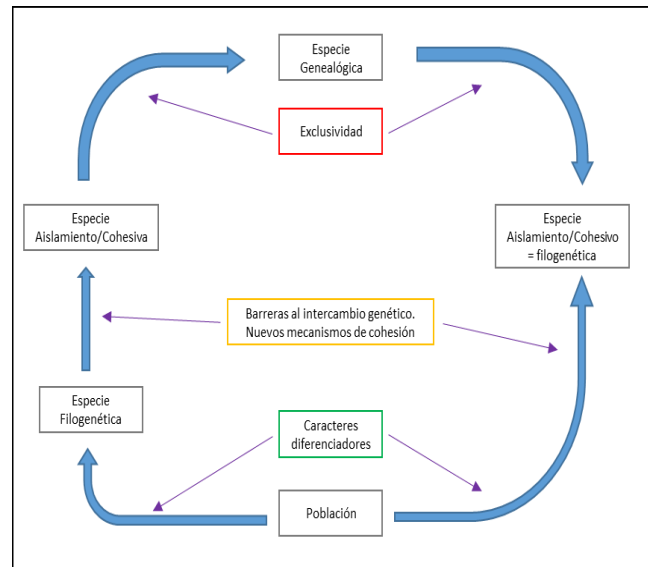


Figura 7. Diagrama donde se muestra el proceso de formación de las especies con relación a los conceptos existentes de especie. Tomado de Perfectti, 2002, previamente modificado de Harrison, 1998.

Cuando se habla de especiación resulta pertinente definir ¿qué es una especie? Etimológicamente el término especie proviene del latín *specie* el cual significa: el conjunto de cosas a las que se le confiere una misma definición (Perfectti, 2002). Es bien sabido que

Tabla 1. Diferentes tipos de especiación reportadas en Alberto Tinaut y Francisca Ruan 2002.

- Concepto de Agamospecie
- Concepto Biológico
- Concepto Cladístico
- Concepto Cohesivo
- Concepto de Especies Compuestas
- Concepto Ecológico
- Concepto Evolutivo
- Concepto de Concordancia Genealógica
- Concepto Genético
- Concepto de Cluster Genotípico
- Concepto de Henning
- Concepto Internodal
- Concepto Morfológico
- Concepto No Dimensional
- Concepto Fenético
- Concepto Filogenético
- Concepto Politético
- Concepto Competencia Reproductora
- Concepto Sucesional
- Concepto Taxonómico

el concepto de especie ha estado siempre en continuo debate, y existen diferentes conceptos (Smith, 1904). En 2002 Tinaut y Ruano en el capítulo Biodiversidad, Clasificación y Filogenia, reportan al menos 20 diferentes conceptos de especie (dife 1); teniendo cada uno diferentes implicaciones, es decir, ninguno puede ser totalmente inclusivo y que involucre a todos los organismos existentes. Algunos conceptos involucran solo a las especies que se reproducen sexualmente y otros únicamente se basan en cuestiones morfológicas, por mencionar algunas

limitaciones. Sin embargo, el concepto adecuado a usar es aquel que se adecue al tipo de estudio que se realiza. La definición más utilizada por la mayoría de los biólogos había sido el concepto biológico reproductivo (**CBR**) (Mallet, 2008). Este concepto propuesto por Mayer (1963) se basa principalmente en aspectos reproductivos, donde define que una especie “es un grupo natural de individuos que se pueden entrecruzar entre ellos pero que están aislados reproductivamente de otros grupos o poblaciones”.

Por otro lado, se han tomado diferentes criterios para diferenciar los tipos de especiación (Perfectti, 2002); **i)** según la distribución de las poblaciones (Wiley, 1981), **ii)** por la duración del proceso y situación geográfica (Mayr, 1963), y **iii)** según el tipo de proceso genético en las poblaciones (Templeton, 1982). Siendo el primero (por su distribución) el más empleado; este criterio se basa en los patrones de separación geográfica que presentan las poblaciones, y que se encuentran en proceso de divergencia (Perfectti, 2002). Dentro de este criterio se encuentran cuatro tipos de especiación: **i)** alopátrica, **ii)** parapátrica, **iii)** estasispátrica, la cual se considera una variante de la

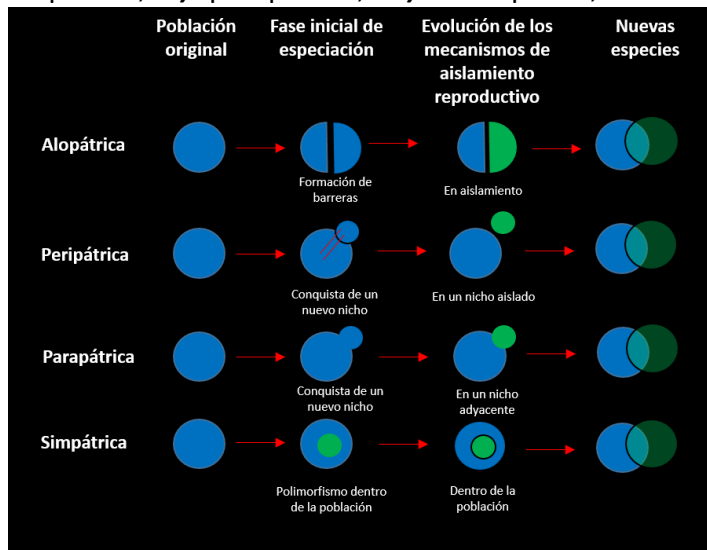


Figura 8. Principales modelos de especiación y las fases que frecuentemente ocurren cuando existe especiación.

parapátrica, y **iv)** simpátrica (Perfectti, 2002) (Figura 8). Con base a lo anterior, uno de los componentes esenciales para que se pueda llevar a cabo el proceso de especiación es la presencia de una barrera, la cual impide el flujo genético entre las poblaciones, es decir, produce un aislamiento entre estas. De forma general se reconocen dos formas de aislamiento, el geográfico y el reproductivo. El aislamiento

geográfico consta de una separación entre poblaciones por medio de la distancia geográfica o por la aparición de una barrera física, como un río, separación de continentes o un conjunto de montañas. Por otro lado, las barreras geográficas *per se* no se consideran del todo barreras reproductivas, esto debido a que el aislamiento geográfico no siempre asegura un aislamiento en la compatibilidad reproductiva. Dentro del aislamiento geográfico se encuentra la especiación alopátrica (Mayr, 1942); como se mencionó anteriormente, a este modelo de especiación se le podría considerar como el más conocido debido a que existe un mayor número de ejemplos documentados (Perfectti, 2002). Está

consiste en la separación geográfica de un acervo genético continuo, produciendo dos o más poblaciones aisladas (Perfectti, 2002). Por otro lado, el aislamiento reproductivo consta de la restricción del flujo genético entre poblaciones por medio de barreras reproductivas (no físicas), es decir por eventos que intervengan en los hábitos reproductivos y en la fertilidad de las poblaciones (Levin, 1978). Existen diversas barreras reproductivas, las cuales se dividen en precigóticas; que previenen la formación del cigoto, y postcigóticas, que se ven reflejadas después de la formación del cigoto (Coyne, 2004). Dentro de las precigóticas, se encuentran las barreras por: *i)* aislamiento conductual, *ii)* aislamiento ecológico; este se puede dar por el aislamiento de hábitat, aislamiento temporal, y aislamiento por polinizadores, *iii)* aislamiento mecánico y *iv)* aislamiento en su sistema de apareamiento (Coyne, 2004). Como barreras postcigóticas existen los aislamientos por: *i)* inviabilidad ecológica, *ii)* esterilidad, *iii)* inviabilidad híbrida, *iv)* esterilidad híbrida (Coyne, 2004). Finalmente, la especiación simpátrica (**ES**) se da por medio de las barreras reproductivas, antes mencionadas, la cual consta principalmente en la divergencia de ciertos miembros de una población que logran adquirir una independencia evolutiva dentro de la misma área de distribución (Perfectti 2002), es decir existe una barrera intrínseca dentro de la población que evita el intercambio genético de ciertos individuos de la población, a tal grado que llegan a la especiación.

III. METODOLOGÍA

III. 1. Zona de estudio

El estado de Morelos se localiza en la región centro sur de México (Figura 9). Colinda al norte con el Estado de México y la Ciudad de México, al este y suroeste con Puebla, al sur y suroeste con Guerrero y al oeste con el Estado de México (Aguilar. 1990). Se encuentra entre los paralelos $18^{\circ}20'$ y $19^{\circ}07'$ latitud norte y los meridianos $98^{\circ}37'$ y $99^{\circ}30'$ longitud oeste de Greenwich (Contreras-MacBeath *et al.* 2006).

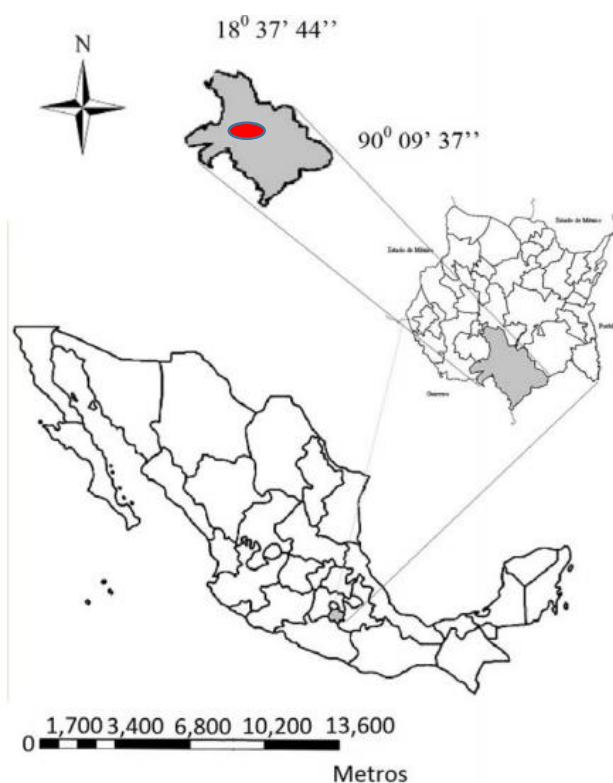


Figura 9. Localización espacial del estado de Morelos en la República Mexicana. Con un punto rojo el poblado de La Era en el municipio de Tlaquiltenango. Foto tomada del libro Factores Estratégicos de los Proyectos de Turismo Rural en el Municipio de Tlaquiltenango, Morelos.

Debido a su ubicación geográfica, las características ecológicas del estado están relacionadas con la zona neártica (al norte) y neotropical (hacia el sur), donde la zona norte recibe influencia del Eje Volcánico Transversal, y en la parte sur de la Cuenca del Balsas (Aguilar. 1995). En esta última, al sur de la entidad se ubica una zona montañosa conocida como Sierra de Huautla (Contreras-MacBeath *et al.* 2006). La Sierra de Huautla abarca parte de los municipios de Tlaquiltenango, Puente de Ixtla, Tepalcingo, Ciudad Ayala y Jojutla, con una superficie de 59.310.650 hectáreas (Arellano *et al.*, 2013).



Figura 10. Selva baja caducifolia característica de la zona de estudio en La Era, Tlaquiltenango, donde se localiza *B. vazquezii*.

El sitio de estudio, de nombre La Era, se encuentra localizado al sur del estado de Morelos, en el municipio de Tlaquiltenango (Figura 6). Éste se encuentra entre 99°14'9.6" N y 98°54'50.4" O, (Rueda. 2006). La localidad de La Era es una de las 33 comunidades pertenecientes al municipio de Tlaquiltenango y se encuentra ubicada en la periferia de la REBIOSH, se ubica en la parte centro norte del municipio y al norte de la Reserva. Las poblaciones de ambas

formas de *B. vazquezii* (blanca y morada) las encontramos al sureste del poblado de La Era en un terreno ejidal aproximadamente de una hectárea de superficie, el cual es propiedad de un poblador; gracias a su invaluable apoyo este proyecto se realizó exitosamente. Como se mencionó anteriormente, ambas poblaciones de *B. vazquezii* (morada y blanca) solo abarcan una superficie del terreno de unos 250 m², a una altitud de 1037 msnm. En nuestra zona de estudio podemos apreciar una vegetación de **SBC** con un suelo arenoso y encontramos especies asociadas como: *Bursera copallifera* (Moc. & Sessé ex DC.) Bullock, *B. longipes* (Rose) Standl., *B. morelensis* Ramírez (Burseraceae), *Neobuxbaumia mezcalaensis* (Bravo) Backeb. (Cactaceae), *Jatropha cordata* (Ortega) Müll.Arg. (Euphorbiaceae), *Brongniartia montalvoana*, *Lysiloma divaricatum* (Jacq.) JFMacbr., *L.*

tergeminum Benth., y *Senegalia picachensis* (Brandege) Britton & Rose (Fabaceae) (Figura 10).

Es común encontrar en la **SBC** una gran cantidad de especies con armas físicas tales como: aguijones y espinas. En el primer caso hay muchas especies que tienen aguijones como varias especies de *Mimosa*, algunas especies de *Senegalia*, *Piptadenia*, y muchas otras familias como Malvaceae, como *Ceiba aesculifolia* (Kunth) Britten & Baker f., hablando de espinas se puede mencionar al género *Vachellia*; en algunos casos son ramas espinoides las que se presentan como *Haematoxylon brasiletto* H.Karst. y *Randia echinocarpa* Moc. & Sessé ex DC.

III. 2. Estudio morfológico

Para determinar si existen diferencias taxonómicas adicionales al color de la flor, se analizaron diversos caracteres biológicos en ambas formas de *B. vazquezii* (morada y blanca). Primero se elaboraron descripciones morfológicas para ambas formas; cabe mencionar que la descripción de *B. vazquezii* fue realizada por Dorado en 1989; sin embargo, se reelaboró la descripción de la forma morada para mantener el mismo margen de error en las mediciones para ambas formas, y así poder realizar una comparación equilibrada, es decir, comparar los datos obtenidos en cada descripción.

Para las descripciones se consultaron 34 colectas realizadas herborizadas para esta especie por el grupo Trópico Seco y colectas realizadas para este proyecto (19 de la forma morada y 15 de la forma blanca). Se midieron las estructuras seleccionadas para realizar estas descripciones. Resulta pertinente mencionar que para estas descripciones se seleccionaron rasgos cuantitativos, es decir que se pudieran medir de una forma numérica; como, por ejemplo: cantidad, largo, ancho y grosor; sin embargo, se seleccionaron ciertos rasgos cualitativos (Tabla 2) ya que se observó que existían diferencias entre ambas formas de *B. vazquezii*, aunado a esto, se tomó como base la descripción original de *B. vazquezii*.

Tabla 2. Lista de los rasgos utilizados para elaborar las descripciones de *B. vazquezii*.

1.-Largo y ancho de las estípulas	13.-Largo y ancho de las alas
2.-Largo de las hojas	14.-Largo de la uña de las alas
3.-Número de folíolos	15.-Largo y ancho de los pétalos de la quilla
4.-Largo del pecíolo	16.-Largo de la uña de la quilla
5.-Largo del peciólulo	17.-Largo del androceo
6.-Largo del pedúnculo	18.-Largo del estambre vexilar
7.-Largo y ancho de la bractéola	19.-Largo del ovario
8.-Largo del cáliz	20.-Largo del estilo
9.-Largo de los lóbulos	21.-Largo y ancho de los frutos
10.-Unión de los lóbulos superiores	22.-Número de semillas
11.-Largo y ancho del estandarte	23.-Largo, ancho y grosor de las semillas
12.-Largo de la uña del estandarte	24.-Largo de los tricomas

III. 3. Estudio palinológico

Se realizó un estudio palinológico con el apoyo de la M. en C. Leticia Torres, donde se elaboraron las descripciones de la morfología del polen para ambas formas de *B. vazquezii*. Esto último para determinar la existencia de marcadores morfológicos adicionales a este nivel. Para llevar a cabo esta metodología se utilizó la técnica de acetólisis propuesta por Erdtman (1960), modificada para leguminosas por Torres (2010). Se incluyeron nueve muestras de polen obtenidas de ejemplares botánicos herborizados (Tabla 3) y nueve muestras de flores obtenidas directamente de campo de ambas formas de *B. vazquezii*.

Para las observaciones en el microscopio óptico (**MO**) se utilizó un microscopio óptico (Axioskop); se montaron siete muestras en gelatina glicerizada y se realizaron cuatro muestras permanentes de la forma morada y tres de la forma blanca. Las medidas fueron obtenidas de 28 granos de polen en vista ecuatorial y 28 en vista polar. Las fotografías se tomaron con una cámara Zeiss Axios Coop en el mismo microscopio, bajo un campo claro y con un objetivo de 100x. El resto de las muestras fueron deshidratadas gradualmente en alcoholes de 50% y 100% durante 10 minutos. Las muestras se secaron y se montaron en una capa de oro-paladio; de esta forma se pudieron observar bajo el Microscopio Electrónico de Barrido (**MEB**) de la marca Hitachi modelo S2460-N. Las descripciones del polen se realizaron con base en: *i)* glosario de Punt y colaboradores (1994) *ii)* glosario palinológico de Sáenz (2004) y *iii)* tratado de palinología de Saxena (1993). A continuación, se describe la técnica completa de acetólisis ocupada para este estudio.

Material biológico

El polen fue obtenido de las anteras de los botones de flores recién cortados en campo y de plantas herborizadas, fueron seleccionadas de acuerdo a un tamaño donde no se encontraban células madre, es decir cuando las anteras son lo suficientemente maduras con polen, pero que la flor aun no abre; así, de esta manera se aseguró que la flor no estuviera contaminada con polen de otras flores. Posteriormente se re-hidrataron en un baño maría y se extrajeron las anteras con el polen. Los reactivos para este tratamiento son:

gelatina (Q. P.), Glicerol Anhidrido (glicerina), fenol líquido, anhídrido acético, etanol absoluto, ácido acético glacial, ácido sulfúrico, hidróxido de potasio, agua destilada.

Método

- 1.- Preparar el baño maría, encenderlo a 80° C
- 2.- Preparar la mezcla acetolítica; Anhídrido Acético + Ácido Sulfúrico en proporción 9:1.
- 3.- Colocar las muestras en hidróxido de potasio al 5% (10 gr de hidróxido de potasio + 200 ml de agua destilada) por 10 minutos a baño maría + remover con una espátula (previamente marcada) para cada muestra + centrifugar 5 minutos (a 5000 revoluciones por minuto) + decantar toda el agua con una pipeta Pasteur (previamente marcada) para evitar pérdida excesiva de polen.
- 4.- Agregar agua destilada + remover con espátula por 10 minutos a baño María + centrifugar 5 minutos + decantar con una pipeta pasteur. Repetir este paso una vez más.
- 5.- Agregar ácido acético + remover con espátula por 10 minutos a baño María + centrifugar 5 minutos + decantar con pipeta pasteur. Repetir este paso una vez más.
- 6.- Agregar mezcla acetolítica + baño maría listo a 80° C por 10 minutos + ácido acético para detener la reacción + centrifugar 5 minutos + decantar con pipeta pasteur.
- 7.- Agregar ácido acético + remover con espátula por 10 minutos a baño maría + centrifugar 5 minutos + decantar con pipeta pasteur.
- 8.- Agregar ácido acético + remover con espátula por 10 minutos a baño maría + centrifugar 5 minutos + decantar con pipeta pasteur.
- 9.- Agregar agua destilada + remover con espátula por 10 minutos a baño maría + centrifugar 5 minutos + decantar con pipeta pasteur.
- 10.- Agregar agua destilada + remover con espátula por 10 minutos a baño maría + centrifugar 5 minutos + decantar con pipeta pasteur.
- 11.- Colocar con la pipeta una muestra sobre el portaobjetos y observar al microscopio.
- 12.- En caso de que la muestra quede con exceso de residuos o muy oscura, someter nuevamente a hidróxido de potasio al 5% por 5 minutos a baño maría + remover con espátula + centrifugar 5 minutos + decantar con pipeta pasteur.

Tabla 3. Datos de ubicación de los ejemplares utilizados para la extracción del polen.

Forma	Localidad	Colector
<i>B. vazquezii</i> morada	Camino de terracería La Era- San Miguel Los Elotes, 1.9 km al sureste del poblado de "La Era", en zona de curvas, 60 m bajando hacia el río, cercano a cables de luz. En el municipio de Tlaquiltenango.	O. Dorado 9459
	Sobre la carretera Jojutla Chinameca, dos kilómetros después de la desviación al poblado de La Era. En el municipio de Tlaquiltenango.	O. Dorado 9779
	Carretera Alpuyeca-Tepalcingo, 500 m antes del poblado de la Mezquitera. En el municipio de Tlaquiltenango, Morelos.	O. Dorado 9997, 10111, 10112, 10118, 10119, 10122.
<i>B.vazquezii</i> blanca	Camino de terracería La Era- San Miguel Los Elotes, 1.9 km al sureste del poblado de "La Era", en zona de curvas, 60 m bajando hacia el río, cercano a cables de luz. En el municipio de Tlaquiltenango.	O. Dorado 9460, 10097, 10100, 10101, 10104, 10107

III. 4. Estudio citogenético

Este estudio consiste en un conteo cromosómico, para ello se obtuvieron los cariotipos para cada forma y se determinó si existía poliploidía o algunas diferencias entre sus cromosomas. A continuación, se presenta la técnica citogenética realizada y la cual es ocupada en el laboratorio de Morfo-Anatomía y Citogenética Vegetal en el Instituto de Biología UNAM dirigido por el Dr. Pedro Mercado.

Material Biológico

Para el estudio citogenético, se extrajeron células de raíces jóvenes en crecimiento activo (las cuales pueden ser tanto raíces primarias como secundarias) de ambas formas de *B. vazquezii* estas fueron obtenidas de la germinación de semillas (previamente colectadas en campo) en cajas de Petri, las cuales se cultivaron en una capa de algodón húmedo y papel filtro. Los cromosomas meióticos se obtuvieron de botones florales jóvenes.

Reactivos para el pre-tratamiento

Las soluciones utilizadas en el pre-tratamiento tienen la función de inhibir la formación del huso mitótico, acumulando células en la etapa de metafase.

-8-hidroxiquinoleína 0.002 M (0.99 g por litro). Los cristales son disueltos en agua destilada a 60°C en agua destilada a baño maría.

-Colchicina 0.05% en agua destilada.

Fijador

Alcohol etílico absoluto-ácido acético en una proporción 3:1. Se debe utilizar recién preparado.

Colorantes

-Aceto orceína 2% (p/v). Se prepara a partir de una solución de stock.

-Solución de Stock. 4.4 gr en ácido acético glacial en reflujo o en un vaso de precipitados con agitación de barra magnética durante una hora.

Solución 2%. Mezclar 9 ml de solución stock + 11 ml de agua destilada + 1 ml de cloruro de hidrógeno (20.3 ml de cloruro de hidrógeno concentrado aforado a 250 ml de agua destilada). Se filtra una vez preparada la mezcla y en toda ocasión que el colorante presente grumos. Guardar en frasco gotero ámbar.

-Aceto-carmín 2% (p/v): 2 gr de carmín en 100 ml de ácido acético glacial al 45%, calentar y hervir en una plancha magnética durante una hora. Dejar enfriar, filtrar y guardar en frasco gotero ámbar.

-Feilgen o reactivo de Schiff: Aun cuando son distintas las fórmulas para su preparación, se describe la que se utiliza en el Laboratorio Fanerogamia del Instituto de Biología de la UNAM.

Fucsina básica	0.2 gr
Metabisulfato de potasio	4 gr
Ácido clorhídrico concentrado	0.2 ml
Carbón activado	0.8 gr
Agua destilada	100 ml

Preparación. En un matraz de 200 o 500 ml con 100 ml de agua destilada hirviendo se disuelve la fucsina básica y se agrega el ácido clorhídrico,

se agita empleando un agitador magnético. Se deja enfriar hasta 60-65° C y se agrega el metabisulfito de potasio e inmediatamente se cubre el matraz con vidrio de reloj o cristalizador. Después de 30 minutos sin suspender la agitación se le agrega el carbón activado y se agita durante otros 30 minutos. Se deja reposar un par de horas para que sedimente el carbón activado y se filtra para almacenar en un frasco ámbar y se conserva en refrigeración.

Cromosomas mitóticos

Las muestras de raíces en crecimiento activo se introdujeron en una solución de 0.002 M de hidroxiquinoleína durante 5 horas en obscuridad y de preferencia a 18° C.

Fijación

Una vez pretratadas, las raíces se lavaron con agua destilada y se fijaron en solución Farmer 3:1 (Alcohol etílico absoluto – ácido acético), mínimo una hora. Las raíces pueden ser conservadas a temperatura ambiente o en refrigeración durante un par de meses antes de iniciar el proceso de tinción.

Hidrólisis

Las raíces se lavaron en agua destilada durante 5 minutos, se eliminó el excedente de agua con papel absorbente y se introdujeron en cloruro de hidrógeno 1 N previamente a 60° C. Este proceso se desarrolló durante 12 minutos en el baño maría.

Tinción

Después de la hidrólisis: *i)* se eliminó el exceso de ácido con papel absorbente, teniendo cuidado de que la parte meristemática (la parte apical de la raíz) no tocara el papel, *ii)* Se introdujeron en un recipiente con Feulgen y se conservaron en obscuridad por espacio de una hora.

Durante ese tiempo la punta de la raíz (meristemo) tomó una coloración púrpura o rosa mexicano, indicando que se realizó la reacción entre el núcleo de la región meristemática y el reactivo de Schiff. Las raíces pueden ser conservadas en refrigeración por un día, aunque

no se recomienda puesto que se empieza a teñir el citoplasma, lo mejor es su procesamiento el mismo día de la tinción.

Elaboración de las preparaciones temporales

En un portaobjetos (previamente lavados con alcohol al 70% para quitar todo tipo de grasa) se corta la parte teñida de la raíz (el resto se desecha), se agrega una gota de acetoorceína para mejorar la tinción, se coloca el cubreobjetos sobre el meristemo y se golpea suavemente con la punta de un lápiz o con la punta protegida de las pinzas de disección. Una vez extendido el tejido se observa al microscopio y se cerciora de que el extendido sea el adecuado, pero, sobre todo para observar células con cromosomas metacéntricos. En caso de observar células con cromosomas bien definidos, se coloca la preparación entre papel filtro y se presiona suavemente con el dedo pulgar para lograr una mejor separación de tejido y de los cromosomas. Si una de las muestras se desea hacer permanente, ésta antes de aplicar la resina debe meterse al congelador.

Elaboración de las preparaciones permanentes

Las preparaciones temporales se sacan del congelador y se sumergen durante unos segundos en nitrógeno líquido y con ayuda de un bisturí se remueve el cubreobjetos del portaobjetos. Posteriormente se introducen rápidamente (en ese instante) en un recipiente con alcohol etílico absoluto. Se dejan secar a temperatura ambiente y posteriormente se agrega una gota de resina Entellan, se coloca el cubreobjetos para que se pegue al portaobjetos. El cubreobjetos se coloca teniendo cuidado de ponerlo con exactitud en el lugar que ocupaba antes de removerlo del portaobjetos; 24 horas después, las preparaciones pueden ser observadas al microscopio con objetivos de inmersión.

Observación de las muestras

Las muestras obtenidas de la técnica se observan bajo un microscopio compuesto para la búsqueda de células con los cromosomas mitóticos bien teñidos y definidos que permitan hacer el conteo y el cariotipo. Cada célula encontrada se observó en el foto microscopio de

marca Zeiss Axioskop en contraste de fases con un objetivo de 100x. En el microscopio de contraste de fases se observan de mejor manera los cromosomas y de esta forma tomar fotos a cada célula analizada. Las fotos tomadas con la cámara del microscopio y con el programa Axios, el cual además de tomar las fotos también permite realizar las mediciones de los cromosomas; de esta manera determinar el cariotipo de cada forma de *B. vazquezii*. Los cariotipos son obtenidos mediante mediciones de los cromosomas, para obtener la Longitud total del cromosoma (**LT**) y la cromátida más larga de este (**LBL**) y por medio de discriminación se obtiene la medida de la más cromátida corta (**LBC**), es decir a la **LT** se le resta la **LBL**, dándonos así la medida del **LBT**.

III. 5. Estudio de aislamiento reproductivo

Dentro de los objetivos se planteó realizar la fertilización cruzada entre ambas formas de *B. vazquezii* con el fin de determinar la existencia de flujo genético entre ambas formas. Para poder realizar las cruzas previamente se realizó un estudio del ciclo floral de ambas formas, con la finalidad de poder realizar las cruzas en el momento preciso donde: *i)* el estigma se encuentre receptivo; *ii)* las anteras hagan dehiscencia; *iii)* el tiempo que dura la flor en crecer y morir y; *iv)* determinar si dentro del ciclo floral existen diferencias entre ellas.

III. 5.1 Ciclo floral

Se describió el desarrollo general de la flor, incluyendo la secuencia de crecimiento de botones y de los diferentes verticilos florales (estambres y estigma), asimismo, se observaron los tiempos de crecimiento y muerte de cada uno de ellos; esto se realizó en ambas formas de *B. vazquezii*. Es importante resaltar que por diversas condiciones ambientales (lluvia y humedad, principalmente) al momento de evaluar la ontogenia general de la flor, no fue posible medir los botones florales *in situ*, por lo cual, se optó por coleccionar botones y flores de diferentes tamaños; los cuales posteriormente se midieron y se organizaron por tamaños (de menor a mayor tamaño) (Figura 11). Los botones fueron disectados para poder observar la distribución y el crecimiento de los verticilos en los

diferentes tamaños de flores. Con ayuda de un microscopio estereoscópico Nikon y una cámara de la misma marca se tomaron fotografías de cada botón, esto para evidenciar la secuencia del crecimiento de los botones de *B. vazquezii*. Asimismo, en campo se realizaron las siguientes actividades: *i)* se determinó si la flor gana o pierde color (o se transforma) al paso de su desarrollo; *ii)* se verificó la existencia de osmóforos (glándulas productoras de aroma para atraer agentes polinizadores) mediante la prueba del olfato, la cual consistió en llenar un frasco con varias flores, taparlo por 10 a 15 minutos; posteriormente destapar el frasco y determinar si se generó algún olor (solo en campo); *iii)* se observó la posición de las alas con respecto a los pétalos de la quilla; *iv)* de igual forma se describió la ornamentación de las alas y su localización en éstas.



Figura 11. Botones organizados de menor a mayor tamaño para las disecciones.

III. 5.2. Fertilización cruzada

Para las pruebas de fertilización cruzada se realizaron cruza manuales en campo entre ambas formas de *B. vazquezii* (Figura 12); bajo el siguiente procedimiento: *i)* seleccionar las flores a cruzar, como mínimo se seleccionaron 30 flores por cada cruz, el número de flores utilizadas varió de acuerdo al material disponible en campo. Sólo se eligieron flores con el tamaño ideal para abrir; con base en los resultados obtenidos en el ciclo floral el tamaño ideal de las flores para realizar las cruza es de 10 a 12 mm; *ii)* ya seleccionadas las flores se realizó el aislamiento por medio de un encapsulamiento con bolsas de tela tul; esto con el

fin de evitar la contaminación con polen de alguna otra flor. Las flores se monitorearon hasta que estuviesen abiertas para poder realizar las cruzas.

Con base en los resultados obtenidos en el ciclo floral se plantearon los horarios para realizar las cruzas: *i)* las flores fueron medidas y seleccionadas de 11 am a 12 pm, al mismo tiempo fueron encapsuladas con bolsas de tul; *ii)* el polen se colectó entre las 11 am y la 1 pm, la forma en la que se colectó fue la siguiente: se abrían las flores dejando expuestas las anteras, éstas fueron raspadas con un alfiler dentro de una caja de Petri (previamente marcada); *iii)* el polen colectado inmediatamente se depositó sobre los estigmas de las flores seleccionadas de acuerdo al tipo de cruce a realizar.

Se realizaron seis tipos de cruces, y a cada una se le asignó un código el cual era marcado en las bolsas de tul, y de esta forma llevar un control de las cruces. Las cruces realizadas fueron las siguientes: *i)* entre cruces de flores moradas x flores moradas (**#1**); *ii)* cruce autógena de flores moradas (**#2**); *iii)* entrecruce de flores blancas x flores blancas (**#3**); *iv)* cruce autógena de flores (**#4**); *v)* entrecruce de flores moradas x flores blancas ocupando como receptoras de polen las flores blancas (**5a**); y *vi)* entrecruce de flores moradas x flores blancas ocupando las flores moradas como receptoras de polen (**5v**). Asimismo, se embolsaron flores de cada forma donde no se hizo cruce, únicamente para tenerlas como testigos y determinar si existe autopolinización: marcador de la forma blanca (**Ma**) y marcador de la forma morada (**Mv**) (Tabla 4). Para la realización de las cruces se efectuaron dos salidas al campo donde en cada una se buscó fertilizar mínimo 30 flores por cada tipo de cruce.



Figura 12. Realización de las cruces en campo.

Tabla 4. Códigos de las cruzas realizadas en campo.

Cruza	Código
Morado x Morado	#1
Morado	#2
Blanco x Blanco	#3
Blanco	#4
Morado x Blanco	5a
Blanco x Morado	5v
Marcador blanco	Ma
Marcador morado	Mv

III. 6. Modelado de nicho ecológico

Para llevar a cabo el análisis de modelado de nicho ecológico de *B. vazquezii* se consultaron las localidades de los ejemplares depositados en el Herbario Nacional de México (**MEXU**), así como colecciones realizadas para éste y otros estudios sobre el tema. En primer lugar, se obtuvieron los datos de geolocalización de los ejemplares; cuando este dato no existiera, se procedió a obtener la a través de la aplicación Google Earth. El número de ejemplares utilizados fueron 25; los cuales se analizaron siguiendo los protocolos de limpieza y curación establecidos por Chapman (2005); una vez limpiados y curados los registros redujeron a un total de 15.

Las variables empleadas en la modelación fueron obtenidas de Worldclim 2 (Fick y Hijmans, 2017) a una resolución de 30 segundo de arco (1 km² aproximadamente). Se aplicó la prueba de correlación de Pearson a las variables para eliminar la correlación entre estas, por lo que se utilizaron las siguientes variables:

- Bio1 Temperatura media anual
- Bio2 Media de rango diario

Bio3	Isotermalidad
Bio6	Temperatura mínima del mes más frío
Bio7	Rango anual de temperatura
Bio8	Temperatura media del trimestre más húmedo)
Bio12	Precipitación anual
Bio14	Precipitación del mes más seco
Bio17	Precipitación del trimestre más seco
Bio19	Precipitación del trimestre más frío
Altitude	Modelo digital de elevación

Para la elaboración de los modelos de nicho ecológico se utilizó el programa Maxent versión 3.4.1k (<http://www.cs.princeton.edu/~schapire/Maxent/>; Phillips *et al.*, 2004), el cual es un algoritmo probabilístico que utiliza un conjunto de variables ambientales y datos de presencia de la especie de interés. Para estimar la probabilidad de presencia de un taxón en una región no muestreada basándose en el principio de la máxima entropía (Phillips *et al.*, 2004), se empleó la configuración por default de Maxent, con una partición de los registros en 75% de ellos como *training* y 25% como *test*. Como área geográfica, M del diagrama **BAM** (Soberón y Peterson, 2005), se eligió la Cuenca del Río Balsas tomando las provincias bióticas (Ferrusquía-Villafranca, 1990).

El formato de salida de los modelos fue el logístico (Phillips y Dudík, 2008), debido a que se considera una aproximación a la verdadera probabilidad de presencia. Se seleccionó el umbral logístico que mejor se adaptara para generar modelos binarios (Liu *et al.*, 2013), en este caso se seleccionó el umbral que tuviera el mayor porcentaje de corte pero que tuviera tasas de omisión del 0%. El rendimiento de los modelos fue medido a través del área bajo la curva (**AUC**, por sus siglas en inglés), este es un estadístico de prueba ampliamente utilizado que mide la capacidad que tiene el modelo de discriminar las presencias del resto del entorno disponible para la especie (Fielding y Bell, 1997); Un **AUC** de 0.5 indica que el rendimiento del modelo es igual a la de una predicción aleatoria (Elith, 2000), por lo tanto, Modelos con **AUC** por encima de 0.75 se consideran potencialmente útiles, 0.80-0.90 buenos y 0.90-1.0 excelentes (Elith, 2000). La importancia de las variables ambientales predictoras fue evaluada a partir del análisis de Jackknife que Maxent elabora.

IV. Resultados

IV. 1. Estudio morfológico

Aunque la descripción de la forma morada ya estaba elaborada, ésta se reelaboró para hacer una comparación equilibrada en el rango de error de las mediciones ya que la descripción original fue elaborada por Dorado (1989) y la de *B. vazquezii* forma blanca por el autor de este estudio. Como se mencionó anteriormente, para la realización de estas descripciones se seleccionaron principalmente caracteres cuantitativos y algunos cualitativos. A continuación, se presentan ambas descripciones.

***Brongniartia vazquezii* forma morada**

Arbusto pequeño de 1.5(-2) m de altura, corteza grisácea, las ramas más jóvenes de color gris verdoso, estrigulosas a glabras en la madurez, tricomas no glandulares de tres celdas de 0.3-0.5 mm. Estípulas (1-)3-8 x 2-4 mm, foliáceas, semicordadas, con lóbulo apical agudo y lóbulo basal redondeado, escasamente estrigulosas a glabras en la madurez, verde pálido, a veces deciduas antes que las hojas. Hojas (1.8-)2.3-6(-7.8) cm; pecíolo 1.5-6.8 mm, terete, estriguloso, glabro en la madurez; foliolos (7-)11-41, base aguda o redondeada, elíptica u oblanceolada, escasamente estrigulosos a glabros en la madurez, verde pálido, ápice redondeado a agudo y mucronado; venación broquidodroma; peciolulo 0.7-1(-1.4) mm. Flores solitarias o apareadas en pedúnculos axilares; pedúnculo (0.7-)1.3-2.3 cm; cáliz 6-9 mm (incl. base), campanulado, lóbulos 3.6-6.6 mm, dos lóbulos superiores unidos aproximadamente 1/6 de su longitud, lanceolados; pétalos rosa a lila (en flores secas); estandarte (incl. la uña) 9.3-12.5 x 10.8-12.7 mm, orbicular, la uña de 1.1-2.1 mm; alas (incl. la uña) 9.2-12.2 x 3.5-4.1 mm, elípticas, redondeadas en el ápice, la uña de 1.1-1.4 mm, con una aurícula subigual en un ángulo de 45°; pétalos de quilla (incl. la uña) 9.4-11.5 x 4.2-4.9 mm, semilunado, unidos ligeramente por debajo de la mitad, la uña 1.4-2.2 mm; androceo 8.3-10.8 mm, fuertemente incurvado dentro de la quilla, filamento libre vexilar 8-9 mm; ovario 3.5-6.8 mm, glabro, estilo de 5.4-6 mm. Frutos de 2.2-2.5 x 9.5-11 mm, oblongo-

obovado a lunado, glabro, ápice redondeado, provisto de un mucrón. Semillas 1-3 por fruto, 5.5-7 x 4-5.7 x 1.6-3.2 mm, elíptica a circular, café castaño, moteada con negro (Figura 13).



Figura 13. Lámina botánica de *B. vazquezii* morada. A) rama principal; b) estipulas; c) folíolo; d) flor; e, f, g) estandarte; h, i) ala; j) quilla; k) androceo; i) gineceo.

***Brongniartia vazquezii* forma Blanca**

Arbusto pequeño 1.6 m de altura, de corteza grisácea, las ramas más jóvenes de color gris verdoso, estrigulosas a glabras en la madurez, tricomas no glandulares de tres celdas de 0.3-0.8 mm. Estípulas (2.6-) 2.8-7(-8) x (1-)1.5-4(-4.2) mm, foliáceas, semicordadas, con lóbulo apical agudo y lóbulo basal redondeado, escasamente estrigulosas a glabras en la madurez, verde pálido, a veces deciduas antes que las hojas. Hojas (1-)2.1-8.55(-9.4) cm; pecíolo 2.6-7.6 mm de largo, terete, estriguloso, glabro en la madurez; foliolos 9-35(-43), base aguda o redondeada, elíptica u oblanceolada, escasamente estrigulosa a glabro en la madurez, verde pálido, ápice redondeado a agudo y mucronado; venación broquidodroma; peciolulo 0.6-0.9 mm. Flores solitarias o apareadas en pedúnculos axilares; pedúnculo 1.0-2.59 cm; cáliz 6.9-8.3 mm (incl. base), campanulado, lóbulos 3.3-5.4 mm, dos lóbulos superiores unidos aproximadamente 1/5 de su longitud, lanceolados; pétalos blancos (en flores secas); estandarte (incl. la uña) 10.2-12.4 x 11.2-13 mm, orbicular, la uña de 1.1-2.3 mm; alas (incl. la uña) 9.3-11.6 x 2.7-3.9 mm, elípticas, redondeadas en el ápice, la uña de 1.2-1.8 mm, con una aurícula subigual en un ángulo de 30°; pétalos de quilla (incl. la uña) 9.4-10.6 x 4.1-4.8 mm, semilunado, unidos ligeramente por debajo de la mitad, la uña 1.6-2.1 mm; androceo 8.3-9.5 mm, fuertemente incurvado dentro de la quilla, filamento libre vexilar 6.6-9 mm; ovario 4.9-5.8 mm, glabro, estilo de 4.4-5.9 mm. Frutos (solo frutos inmaduros vistos) 2.2-2.5 x 9.5-11 mm, oblongo-obovado a lunado, glabro, ápice redondeado, provisto de un mucrón, semillas 1-3 por fruto, 6.2-7 x 4-5.5 x 2.4-2.8 mm elípticas a circular, verde oliva a café castaño liso (Figura 14).

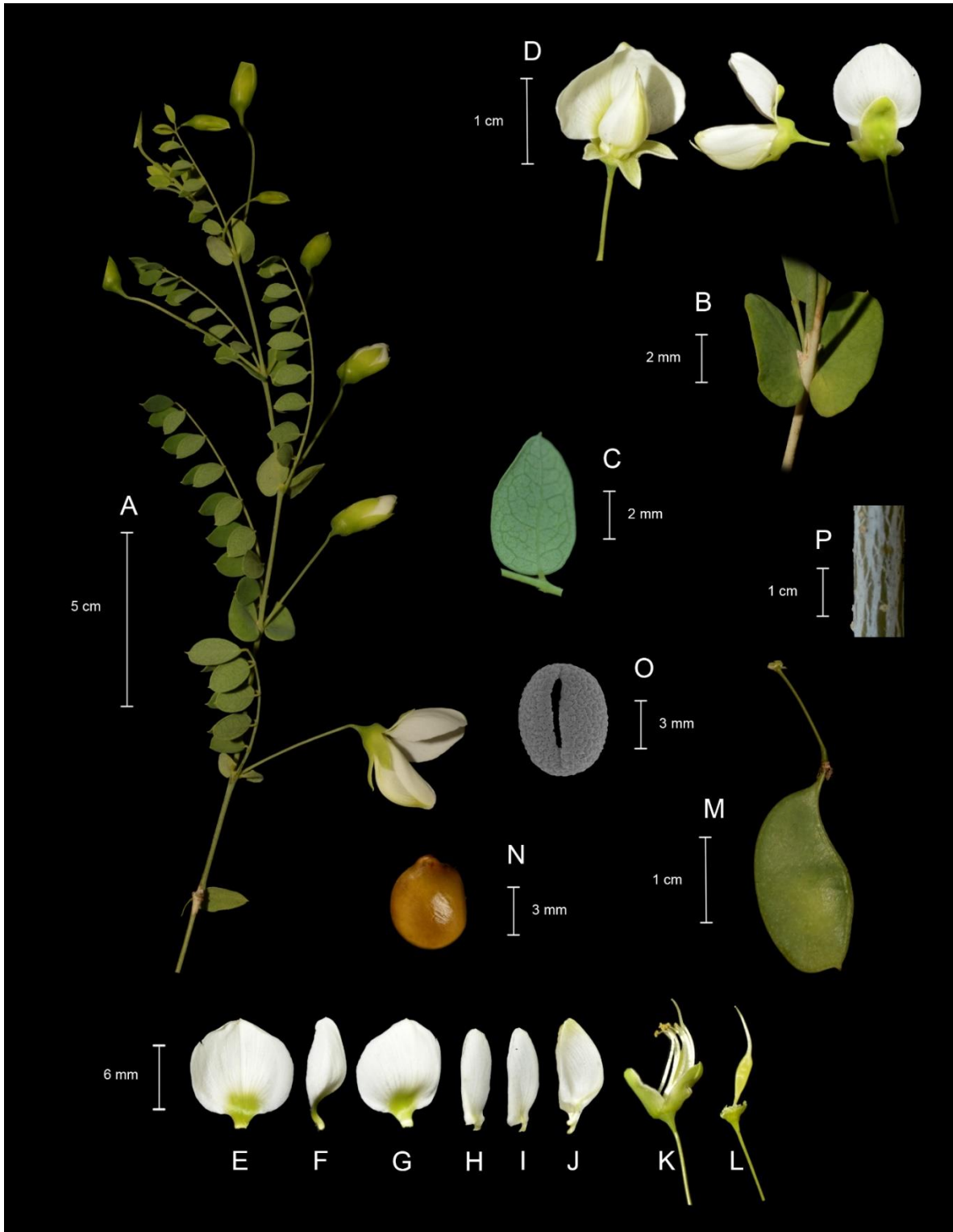


Figura 14. Lámina botánica de *B. vazquezii* blanca. A) rama principal; b) estipulas; c) folíolo; d) flor; e, f, g) estandarte; h, i) ala; j) quilla; k) androceo; l) gineceo.

Después de haber elaborado las descripciones se realizó una comparación entre ambas, para así encontrar marcadores morfológicos adicionales entre las dos formas. La comparación entre ambas arrojó que en 21 diferentes estructuras existe una pequeña variación en tamaños, mostrando que la forma blanca es ligeramente más pequeña y frágil que la forma morada. Sin embargo, en el color de la semilla existe una gran diferencia; la forma morada presenta una semilla de color café moteado y la forma blanca una semilla café claro (Tabla 5).

Tabla 5. Caracteres morfológicos entre ambas formas de *B. vazquezii*. Los caracteres marcados con un * representan las diferencias morfológicas más marcadas entre ambas formas.

Marcador	Bvv (LxA)	Bva (LxA)
Estípulas	(1)3-8(6)x2-4	(2.6)2.8-7(8)x (1)1.5-4(4.2)
Hojas	(1.8)2.3-6(7.8)	(1)2.1-8.5(9.4)
# folíolos	(7)11-41	9-35(43)
Pecíolo	1.5-6.8	2.6-7.6
Peciólulo	0.7-1(1.4)	0.6-0.9
Pedúnculo	(.7)1.3-2.3	1-2.59
Cáliz	6-9	6.9-8.3
Color de pétalos	<u>morados*</u>	<u>blancos*</u>
Lóbulos	3.6-6.6	3.3-5.4
Unión	1/6	1/5
Estandarte	9.-12.5x10.89-12.7	10.2-12.4x11.2-13
Uña Est.	1.2-2.1	1.1-2.3
Alas	9.2-12.2x 3.5-4.1	9.3-11.6x2.7-3.9
Uña Alas	1.1-1.4	1.2-1.8
Quilla	9.4-11.5x4.2-4.9	9.4-10.6x4.1-4.8
Uña Quilla	1.4-2.2	1.6-2.1
Androceo	8.3-10.8	8.3-9.5
Fil. Lib. Vex.	8-9	6.6-9
Ovario	3.5-6.8	4.9-5.8
Estilo	5.4-6	4.4-5.9
semillas	5.5-7 x 4-5.7 x 1.6-3.2	6.2-7x4-5.5x2.4-2.8
Color Sem.	<u>café moteado*</u>	<u>café liso*</u>

IV. 2. Estudio palinológico

En este estudio se realizó una descripción morfológica de los granos de polen para ambas formas de *B. vazquezii*. De manera general, se encontró que para ambas formas, los granos de polen son tricolpados, de tamaño medio, con ápice agudo, membrana granular y con ornamentación microreticulada. En vista polar el contorno en AMB es convexo, con un área polar pequeña. El Apocolpio y mesocolpio son micro reticulados. Es importante mencionar que se detectaron algunos caracteres donde existen diferencias entre ambas formas; por lo tanto a continuación se incluyen éstas:

***Brongniartia vazquezii* morada (Figura 15)**

Polen en forma prolada, con eje polar de 32.11 μm y un eje ecuatorial de 21.66 μm en vista ecuatorial, eje polar de 26.82 μm en vista polar. Ectoabertura de 23.62 μm de longitud polar y 0.87 μm de longitud ecuatorial; margo engrosado con ornamentación perforada de 0.78 μm de grosor. Ornamentación con muros de 0.78 μm y lumen de 0.62 μm . Exina de 1.40 μm de grosor, sexina de 0.70 μm de grosor, nexina de 0.65 μm . Con una distancia entre colpos de 7.76 μm , un índice del área polar de 0.29 μm (Tabla. 6).

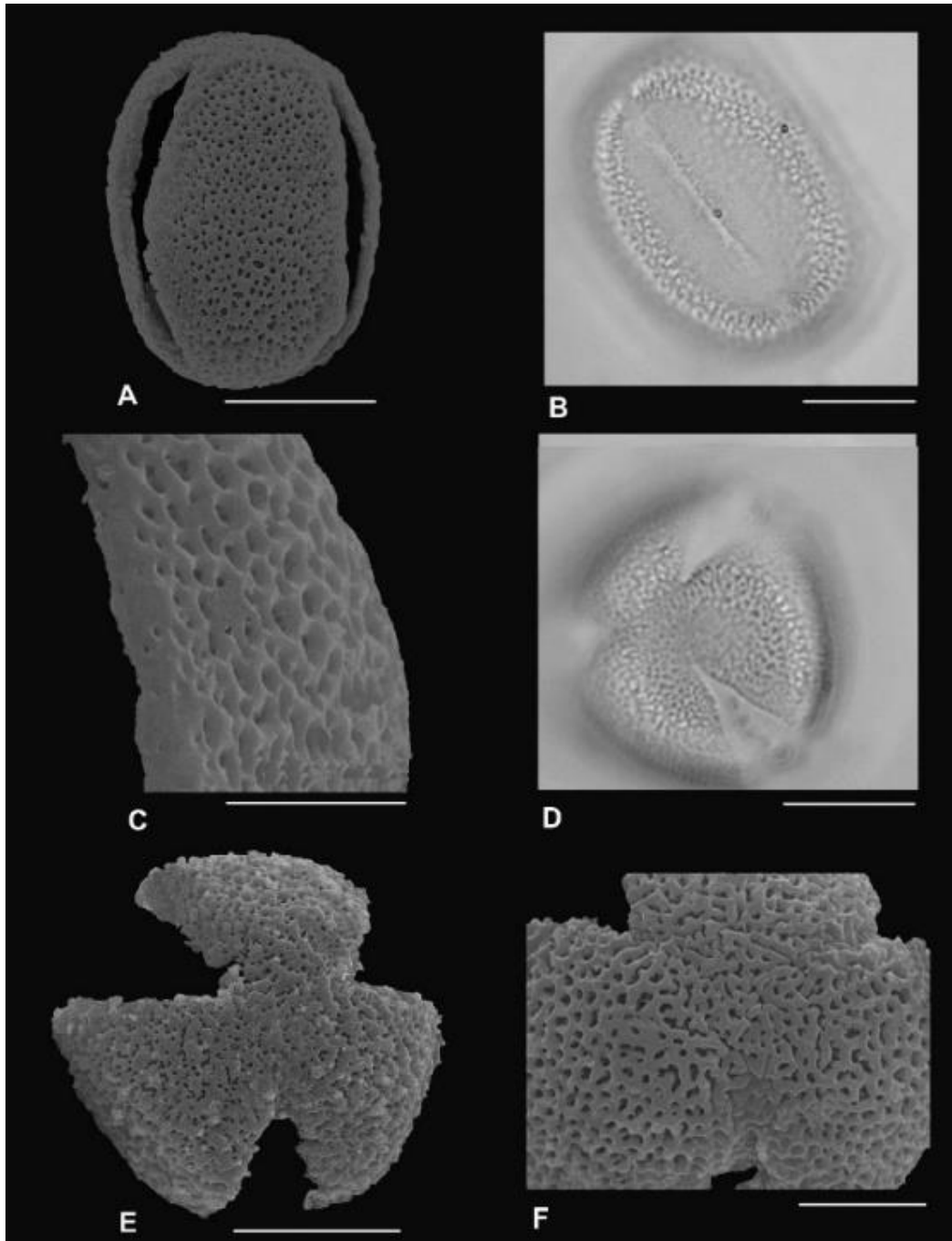


Figura 15. Granos de polen acetolizado de *B. vazquezii* forma MA. A, C, E, F (MEB), B, D (MO). A y B vista ecuatorial, forma prolada, longitud de colpos y ornamentación microreticulada en una escala de 10 μm ; C) margo con ornamentación perforada en una escala de 4 μm ; D, E) área polar y distancia entre colpos, en una escala de 10 μm ; F) apocolpio y mesocolpio microreticulado en una escala de 5 μm .

Brongniartia vazquezii blanca (Figura 16)

Polen en forma subprolada, con un eje polar, con eje polar de 25.48 μm y eje ecuatorial de 22.42 μm en vista ecuatorial, un eje polar de 26.02 μm en vista polar. Ectoabertura de 16.49 μm de longitud polar y 0.96 μm de longitud ecuatorial; sin margo. Ornamentación con muros de 0.37 μm y lumen de 0.69 μm . Exina de 1.53 μm de grueso, sexina de 0.80 μm de grosor y nexina de 0.74 μm . Con una distancia entre colpos de 9.50 μm , un índice del área polar de 33 μm (Tabla. 6).

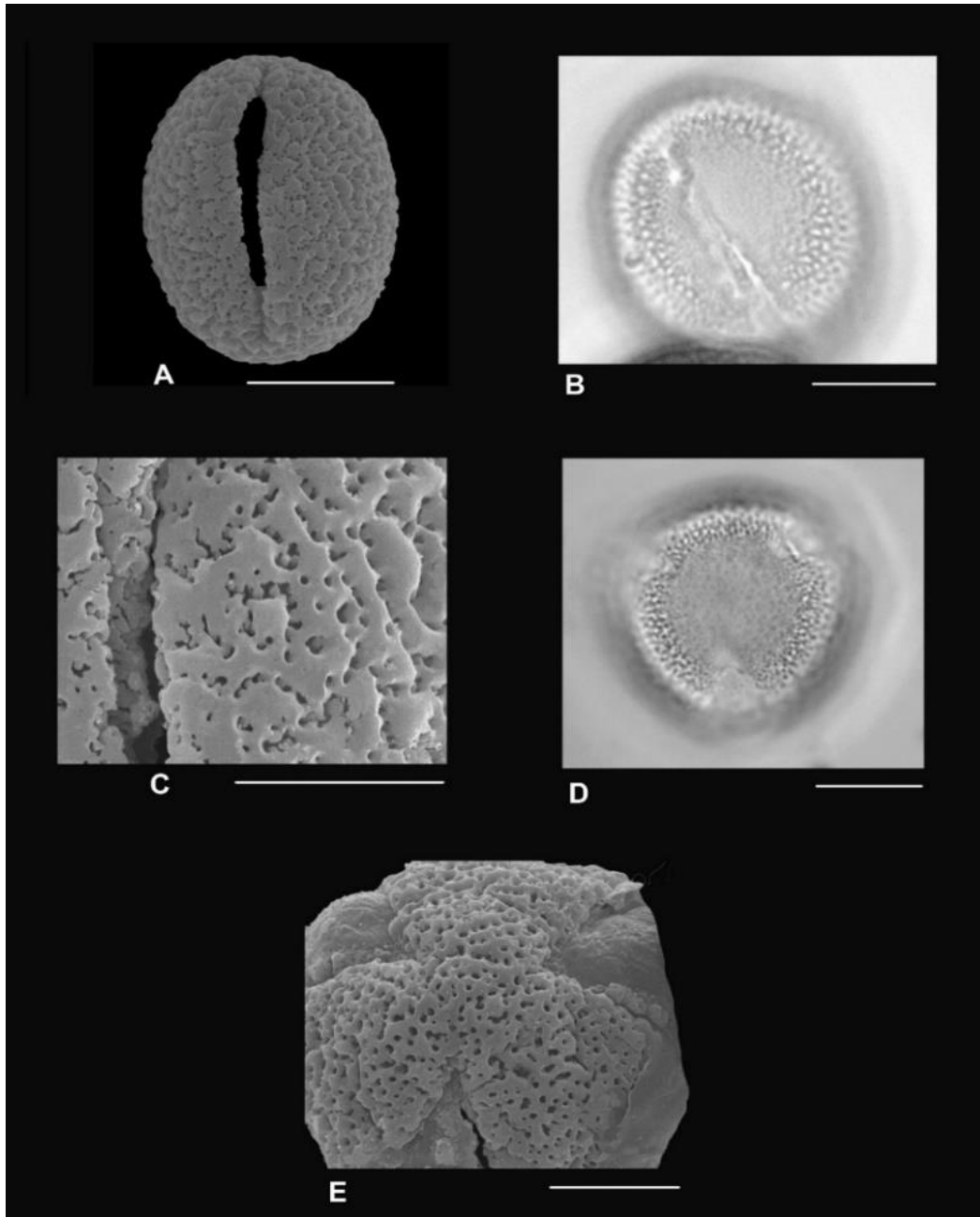


Figura 16. Granos de polen acetolizado de *B. vazquezii* forma BL. A, C, E (MEB), B, D (MO).

A y B forma subprolada; A) ectoabertura en vista ecuatorial en MEB a una escala de 10 μm ; B) Vista ecuatorial en MO, se muestra la ornamentación microreticulada, en una escala de 10 μm ; C) abertura del colpo, Ornamentación microreticulada y membrana granular, en una escala de 5 μm ; D y E área polar, granos tricolpados, D en escala de 10 μm y E en una escala de 5 μm .

Tabla 6. Detalles del polen de ambas formas de *B. vazquezii*. E. P.= eje polar; E. E.= E. Ecuatorial; V. E= Vista ecuatorial; V. P.= Vista polar.

Especie	Forma	E. P. μm	E. E. μm	E. P. μm	Índice del área polar
<i>B. vazquezii</i> morada	Prolado	32.11 μm	21.66 μm	26.82 μm	0.29 μm
<i>B. vazquezii</i> blanca	Subprolado	25.48 μm	22.42 μm	26.02 μm	0.33 μm

Tabla 6. Continuación de la tabla 6.

Especie	Forma en AMB	Aberturas	Ornamentación	Muros/ lumen μm	Margo/ ápice ectoabertura
<i>B. vazquezii</i> morada	Convexo	Tricolpados	Microreticulada	0.78 μm / .62 μm	Engrosado .78 μm / ápice agudo
<i>B. vazquezii</i> blanca	Convexo	Tricolpados	Microreticulada	0.37 μm / 0.69 μm	No presenta/ ápice agudo

Tabla 6. Continuación de la tabla 6.

Especie	Colpo	Membrana del Colpo	Exina μm	Sexina	Nexina
<i>B. vazquezii</i> morada	23.62 μm / .87 μm	Granular	1.40 μm	0.70 μm	0.65 μm
<i>B. vazquezii</i> blanca	16.45 μm / .96 μm	Granular	1.53 μm	0.80 μm	0.74 μm

IV. 3. Estudio citogenético

Para el estudio citogenético se analizaron 15 muestras de raíces en crecimiento activo de *B. vazquezii*, donde cuatro pertenecen a la forma blanca y once a la forma morada. Es importante resaltar que para la forma morada hay más muestras por dos razones: *i)* por la disponibilidad de material, y *ii)* se ocuparon muestras de otra población de *B. vazquezii* la cual se encuentra a 7 km al norte. Estas muestras obtenidas fueron vistas bajo el fotomicroscopio de contraste de fases Zeiss Axioskop de las cuales se obtuvieron los siguientes datos: *i)* el número cromosómico, y *ii)* cariotipo. Para el cariotipo se buscaron células donde los cromosomas se observarían bien definidos, bien teñidos, que no estuvieran elongados y de igual forma que no se encontraran contraídos.

Para la realización del cariotipo se requieren como mínimo cinco células, sin embargo, para este estudio se observaron 9 células de cada forma de *Brongniartia vazquezii*. Todas las células que cumplieron con las características, se les tomó foto con una cámara Axios, y fueron analizadas en el programa Zeiss 2017 donde se midieron los siguientes rasgos: i) longitud total (**LT**), ii) longitud total del brazo largo (**BL**) y iii) longitud total del brazo corto (**BC**) (Figura 17), aunque esta última fue obtenida por la diferencia entre ambos márgenes, es decir; al valor de LT se le restó el valor de BL dándonos así el valor de BC. En la Figura 15 y 16 se muestran las fotos tomadas de las células para el conteo cromosómico y para el cariotipo de ambas formas de *B. vazquezii*.

En este estudio se encontró que ambas formas de *B. vazquezii* poseen el mismo número cromosómico. Esto después de haber analizado todas las células existentes en las muestras con los cromosomas visibles tanto en la forma blanca como en la forma morada, concluyendo en que presentan un número cromosómico de 18 cromosomas en células diploides (**2n**) (Figuras 18 y 19).

Para realizar el cariotipo, en primera instancia se obtuvo la **LT** y la **BL** de cada cromosoma por célula. Los datos fueron colocados en una las tablas 6 y 7. Al mismo tiempo que se realizaron las mediciones se llevaron a cabo las cruces para obtener los pares de cromosomas homólogos; con base en la forma y tamaño de estos. Como resultado se obtuvo nueve pares de cromosomas homólogos. Posteriormente se obtuvieron las medidas

promedio de **LT**, **BL**, **BC** y el promedio total del material genético de las células (Tabla 9); donde los promedios fueron obtenidos por la suma de los valores correspondientes para cada dato, y después dividiéndose por el total de células analizadas; por ejemplo, para el promedio de **LT** se sumó la **LT** del par de cromosomas más grandes de cada célula (9 células), y después se dividió entre el total de datos (9); para el **LBL** se realizó la misma operación, se sumó la **LBL** de cada célula y después se dividió entre el total de datos; en el caso de la **LBC** fue por la diferencia entre el valor de la **LT** y la **LBL**. Esta metodología se siguió para cada par de cromosomas de cada célula, dándonos así un promedio del tamaño de cada par de cromosomas, así mismo se calculó el promedio del contenido del material genético. Los cromosomas se esquematizan en las Figuras 18 y 19. En el caso del promedio del material genético se sumaron los promedios de **LT** de cada célula. Para obtener la forma del cromosoma se utilizó el índice de Levan *et al.*, (1964) donde se calculó la forma (**d**), ocupando la siguiente operación: $d=l-s*100$, **d**= forma del cromosoma entero, **l**= brazo largo y **s**: brazo corto, el resultado obtenido se compara con los ya propuestos por Levan *et al.*, (1964) mostrados en la (Tabla 10). De acuerdo a este índice, todos los pares de cromosomas de ambas formas de *B. vazquezii* (morada y blanca) son de tipo metacéntrico ya que todos están por debajo del valor 0.5, de igual manera el promedio total de la forma de los cromosomas (**Fs**) está en el rango de cromosomas metacéntricos según Levan *et al.*, (1964) ya que en la forma blanca se encontró un promedio en la forma de 44.6736067, y un promedio de 44.4805139 en la forma morada (Tablas 11 y 12), por lo tanto son cromosomas aparentemente simétricos (cromosomas en forma de X)(Figura 17).

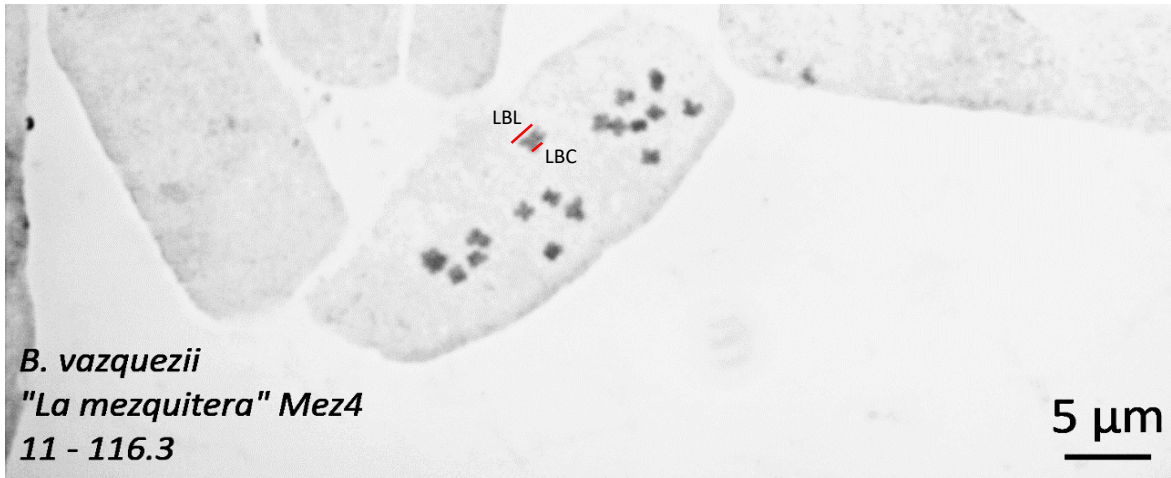


Figura 17. Célula con cromosomas mitóticos de *B. vazquezii* forma morada, se muestra con marcas rojas la **LBL** y la **LBC**.

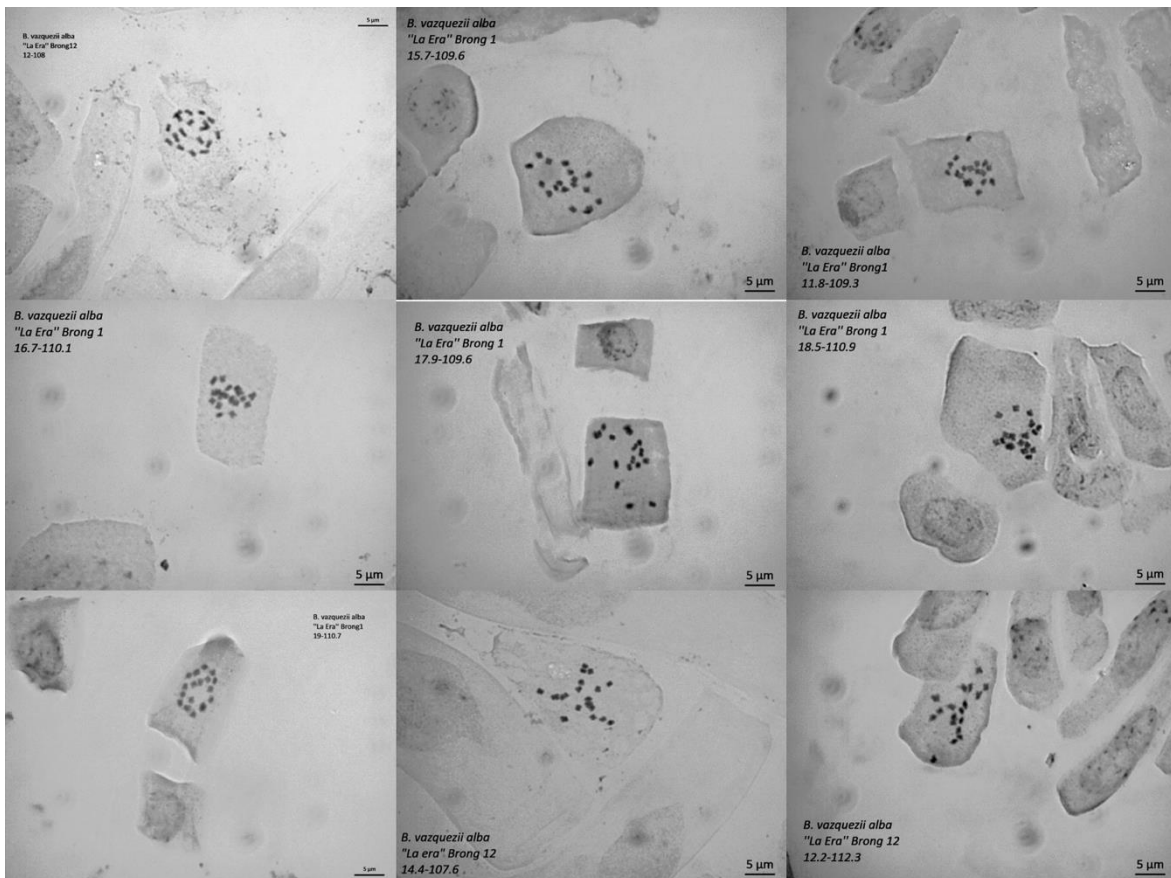


Figura 18. Células analizadas para determinar el cariotipo de la forma blanca de *B. vazquezii*, donde se observan los 18 cromosomas. Las fotos fueron tomadas con un objetivo de 100x.

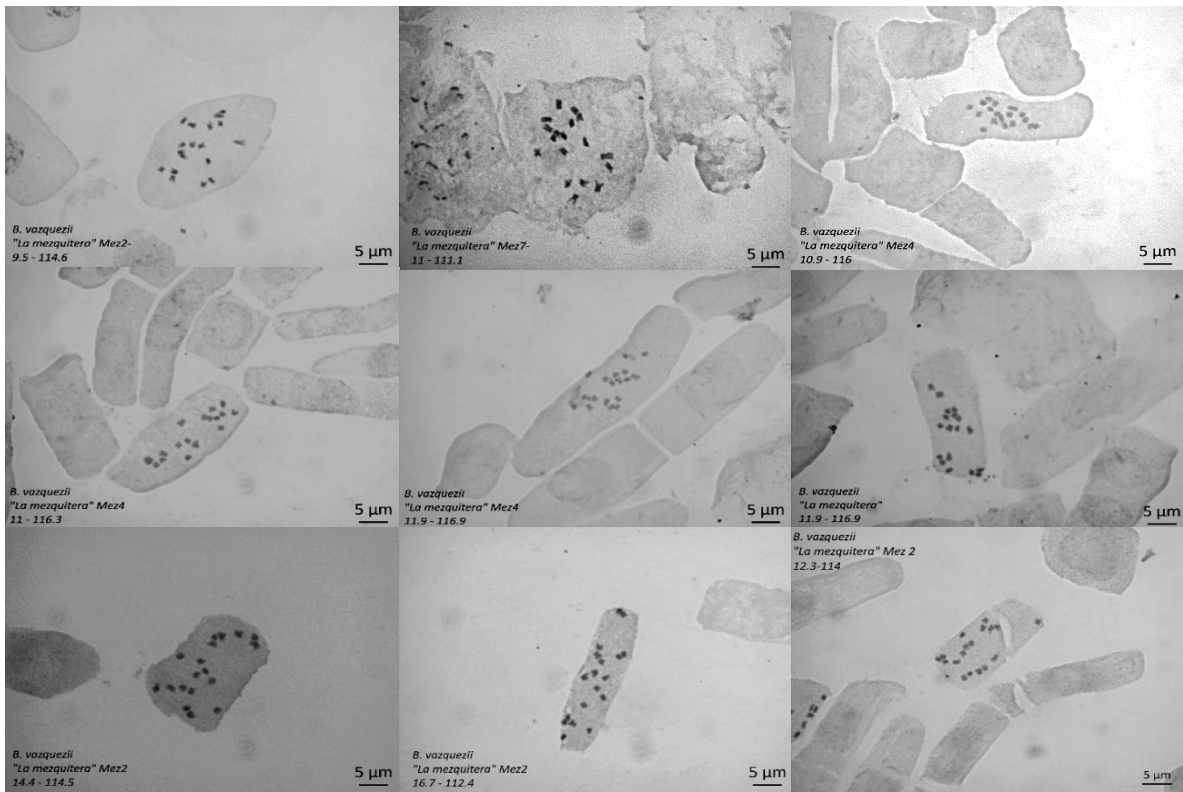


Figura 19. Células analizadas para determinar el cariotipo de la forma morada de *B. vazquezii*, donde se observan los 18 cromosomas. Estas fotos fueron tomadas con un objetivo de 100x.

Tabla 7. Valores promedios tomados de las muestras de cada cromosoma de la forma blanca de *B. vazquezii*. **LT**= longitud total, **LBL**= longitud del brazo largo, **LBC**= longitud total del brazo corto.

No. de cromosoma	Promedio LT	Promedio LBL	Promedio LBC	Forma
1	1.688	0.911	0.776	0.134
2	1.579	0.830	0.748	0.081
3	1.488	0.807	0.681	0.126
4	1.427	0.821	0.606	0.215
5	1.372	0.773	0.599	0.174
6	1.305	0.716	0.589	0.126
7	1.266	0.711	0.555	0.156
8	1.211	0.688	0.522	0.166
9	1.159	0.655	0.503	0.151

Tabla 8. Valores promedios tomados de las muestras de cada cromosoma de la forma morada de *B. vazquezii*; en la cual observamos que los números están por debajo de 0.5, y en base al índice de Levan para la forma de los cromosomas; estos son de tipo metacéntricos.

No. de cromosoma	Promedio LT	Promedio LBL	Promedio LBC	Forma
1	1.729	0.950	0.778	0.172
2	1.623	0.932	0.691	0.240
3	1.557	0.820	0.736	0.084
4	1.469	0.820	0.648	0.171
5	1.409	0.811	0.598	0.213
6	1.378	0.761	0.617	0.144
7	1.345	0.754	0.591	0.163
8	1.285	0.714	0.570	0.143
9	1.208	0.655	0.553	0.102

Tabla 9. Promedios totales del material genético (**PMG**) y los promedios de BL y BC en ambas formas de *B. vazquezii*.

Forma	PMG	Promedio del LBL	Promedio del LBC
Morada	13.006	7.221	5.785
Blanca	12.498	6.915	5.583

Los cromosomas de la forma blanca de *B. vazquezii* presentan una forma de tipo metacéntrica, ya que estos se encuentran por debajo de los 0.5 μm ; siguiendo el índice de Levan (1877). A su vez estos cromosomas son de un tamaño pequeño ya que están por debajo de los 2 μm de longitud total. El promedio del contenido de material genético es de 12.498 μm , el promedio del **LBL** de 6.915 μm y del **LBC** de 5.583 μm . Por otro lado, en la forma morada los cromosomas también presentan una forma de tipo metacéntrica, un tamaño pequeño sin sobre pasar los 2 μm de longitud total, y con un promedio en el contenido del material genético de 13.006, el promedio del **LBL** de 7.221 y de BC de 5.785. A continuación, se muestra una representación esquemática de los cromosomas para cada forma de *B. vazquezii* (Figuras 20 y 21) donde se muestran algunas diferencias en cuestión de tamaño entre ambas formas; la escala es de 4 cm= 1 μm .

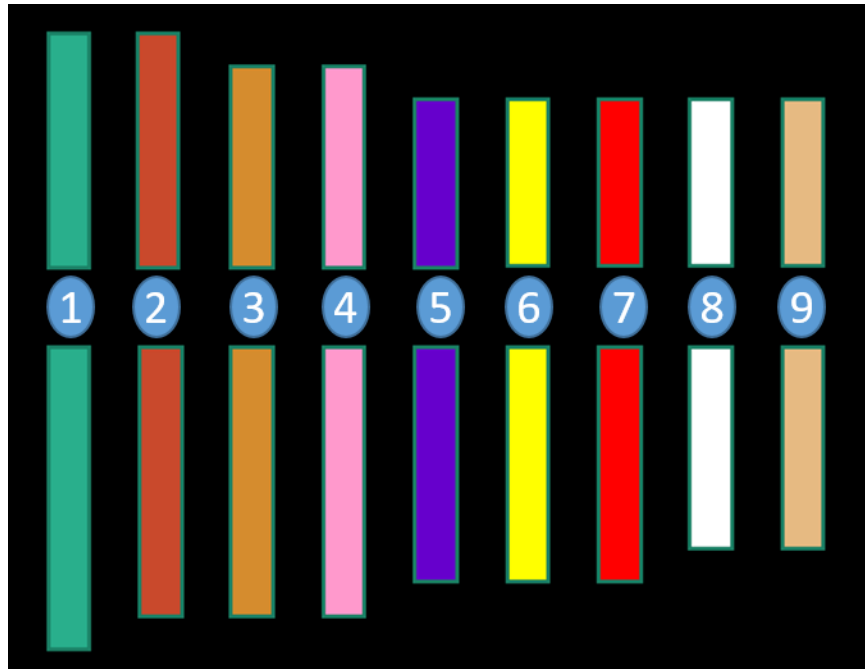


Figura 20. Esquematización de los cromosomas y las formas de los nueve pares de cromosomas para la forma blanca. En una escala de $1\mu \times 4 \text{ cm}$. Se observa una sola forma de tipo metacéntrico.

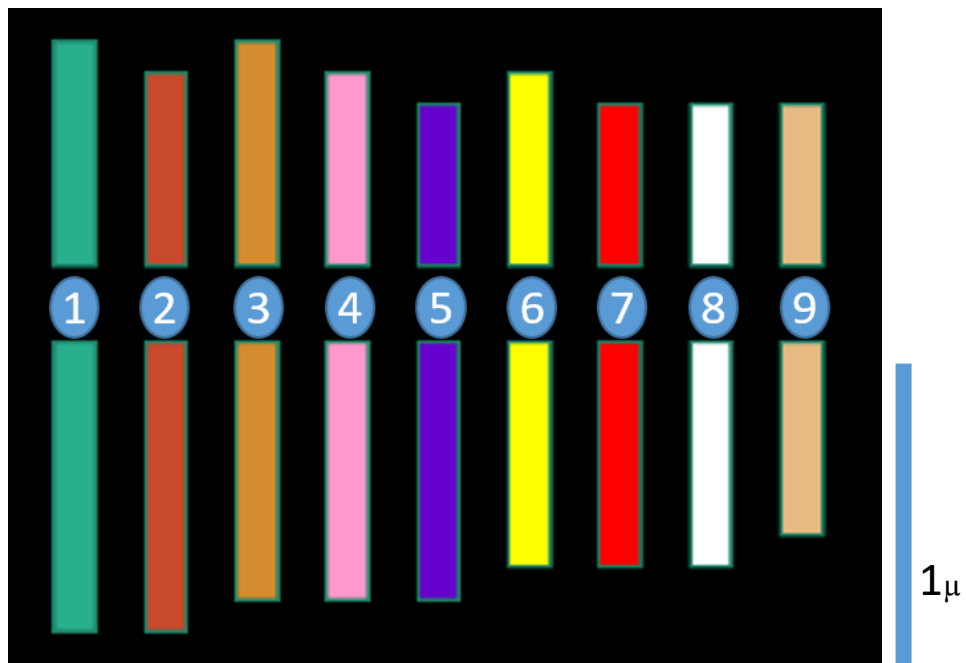


Figura 21. Esquematización de los cromosomas y las formas de los nueve pares de cromosomas para la forma morada. En una escala de $1\mu \times 4 \text{ cm}$. Se observa una sola forma de tipo metacéntrico.

Tabla 10 Índice de Albert Levan, donde d = promedio de BC -promedio de BL. Utilizado para obtener la forma de los cromosomas para ambas formas de *B. vazquezii*.

Nomenclatura	d	r	i
M	0	1	50
m	0.5	1.05	47.5
	1	1.22	45
	1.5	1.35	42.5
	2	1.5	40
sm	2.5	1.67	37.5
	3	1.86	35
	3.5	2.08	32.5
	4	2.33	30
	4.5	2.64	27.5
st	5	3	25
	5.5	3.44	22.3
	6	4	20
	6.5	4.71	17.5
	7	5.67	15
t	7.5	7	12.5
	8	9	10
	8.5	12.33	7.5
	9	19	5
	9.5	39	2.5
T	10	∞	0

$$r = \frac{l}{s} = 10 + \frac{10 + d}{10 - d}; \quad i = \frac{100s}{c} = \frac{100}{r + 1} = 5(10 - d)$$

Tabla 11. Promedios totales de la forma de cada cromosoma (**Fs**) para ambas formas de *B. vazquezii* (blanca y morada). Entre más cercano a 50 sea el valor más simétrico es la forma del cromosoma.

Par de Cromosomas	F(s) forma blanca	F(s) forma morada
1	46.017641	45.022813
2	47.421012	42.582455
3	45.756513	47.295562
4	42.471403	44.16881
5	43.65285	42.425914
6	45.16678	44.767817
7	43.831169	43.928011
8	43.144089	44.403146
9	43.467842	45.773935

Tabla 12. Promedio total de la **F(s)** de los cromosomas de cada forma de *B. vazquezii* (blanca y morada). Entre más cercano a 50 sea el valor más simétrico es la forma del cromosoma.

TF(s) forma blanca	TF(s) forma morada
44.673607	44.480514

IV. 4. Estudio de aislamiento reproductivo

IV. 4.1 Ciclo floral

Como se mencionó anteriormente se realizó la descripción del ciclo de vida floral para ambas formas de *Brongniartia vazquezii*, lo cual ayudó a evaluar diferentes rasgos dentro del desarrollo floral: *i)* la distribución espacial de las anteras y estigma; *ii)* la presencia de hercogamia, la cual es la separación espacial de las anteras y los estigmas en una misma flor o auto fecundación; *iii)* el momento de maduración de las anteras y su dehiscencia; *iv)*

receptividad del estigma, y; **v)** el momento de la apertura floral. Debido a las condiciones ambientales y al ciclo de vida de la planta la descripción de la ontogenia solo se pudo determinar por medio de disecciones de botones y flores con diferentes tamaños, las cuales fueron colectadas en campo como se mencionó anteriormente.

En el ciclo floral se determinó que: **i)** en los botones con tamaño de 4 mm de largo (incluido el cáliz) los verticilos se encuentran a la misma altura sin presentar madurez (Figura 22A); **ii)** los botones de 4 a 5 mm presentan una variación en la posición de los verticilos (hercogamia). El estigma sobresale de las anteras y aún ambas estructuras son inmaduras (Figura 22B), sin embargo; **iii)** se encontraron algunos botones con mayor tamaño que presentan los verticilos al mismo nivel, lo cual indica la existencia de auto fertilización (Figura 22C-H); **iv)** los botones con una longitud mayor a 5 mm hasta los 10 mm presentan una diferencia espacial entre el estigma y las anteras, de igual forma el estigma sobresale de las anteras (Figura 22D-G); **v)** las flores con una longitud mayor a 10 mm presentan madurez tanto en el estigma como en las anteras (Figura 22F y 23 G-I). Con base a lo encontrado en las disecciones se determinó el tamaño óptimo de las flores (el cual se refiere al momento preciso de la anthesis y cuando se vuelve receptivo el estigma) (Figura 23I-L); encontrando que a partir de los 10 mm las flores alcanzan la longitud óptima.

Con el trabajo en campo y lo observado en las disecciones de los botones, se determinó el momento en el que las flores presentan el tamaño ideal, es decir el tamaño en el que la flor alcanza la madurez reproductiva; con esto se plantearon los horarios para realizar las cruza manuales; los cuales fueron: **i)** de 11 am a 12 pm las flores alcanzan el tamaño ideal para abrir; **ii)** de 11 am a 1 pm las anteras hacen dehiscencia, por lo cual en este horario se colecto el polen, y **iii)** las cruza se realizaron de 1 pm a 3 pm.

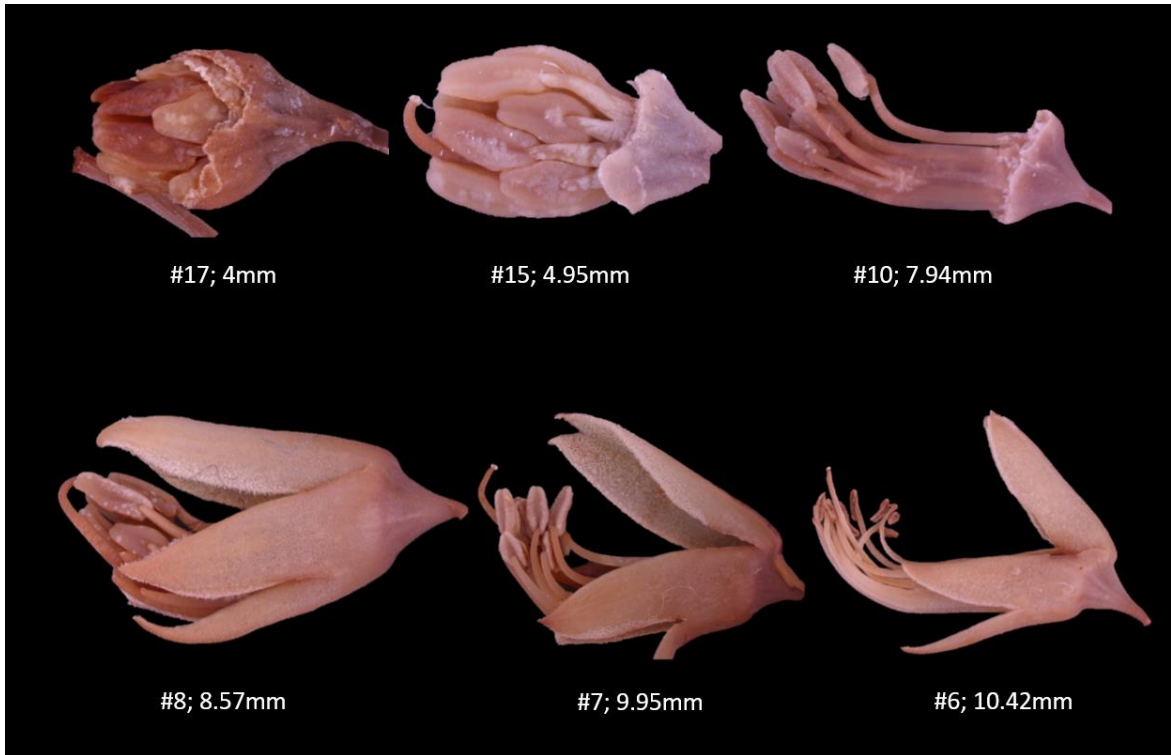


Figura 22. Botones diseccionados para la realización de la ontogenia.

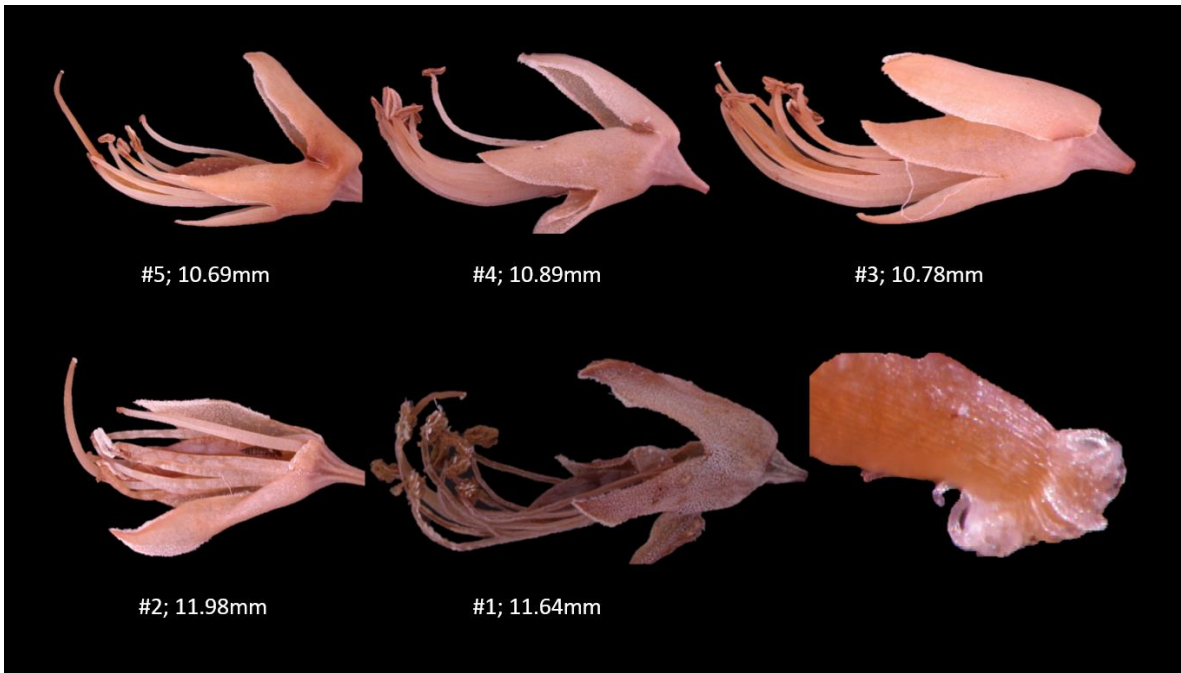


Figura 23. Botones diseccionados para la realización de la ontogenia.

Para la ontogenia se realizaron observaciones en campo y se determinó que: *i)* la flor no gana ni se decolora, el color siempre se mantiene desde botón hasta la pérdida de los pétalos (Figura 24); *ii)* en campo se realizaron pruebas de olfato a las flores, encontrando que no generan olor perceptible para el humano; *iii)* durante el trabajo en campo y al momento de hacer las disecciones se encontró que las alas mantienen un mismo ángulo de apertura (en ambas formas) con respecto a los pétalos de la quilla (Figura 25); y *iv)* la ornamentación de los pétalos de las alas en cada forma se encuentran en la misma zona del pétalo (Figura 26).



Figura 24. Flores y botones vistos en campo con la misma coloración.



Figura 25. El ángulo de apertura entre las alas y la quilla es nulo en ambas. Los pétalos de las alas se encuentran pegados en la quilla.



Figura 26. Localización espacial de la ornamentación de las alas, la cual es similar en ambas formas, ambas se encuentran en la base superior del pétalo: A) forma morada, B) forma blanca.

IV. 4.2 Fertilización cruzada

Como se mencionó anteriormente uno de los objetivos para este proyecto fue determinar si existe o no entrecruza o aislamiento reproductivo entre ambas formas de *B. vazquezii*, por lo cual se realizaron cruza manual entre ambas formas, y como resultado se seleccionaron 498 flores a las cuales se les aplicaron diferentes cruza (Tabla 13). De las 498 flores polinizadas se obtuvieron 116 cruza efectivas, es decir, flores que hayan transformado en fruto después de la fertilización manual, de estos frutos se obtuvieron 132 semillas. Es importante resaltar que a lo largo de este estudio se perdieron flores y frutos, posiblemente por dos principales factores: *i)* aborto natural, y *ii)* por el estrés ocasionado por la manipulación de estos.

Tabla 13. Número de flores fertilizadas en cada cruce; así mismo, se muestra el número de frutos obtenidos en cada cruce y la cantidad de semillas por cada cruce. El * representa la forma de *B. vazquezii* receptiva (mamá) del polen de la otra forma; los números rojos representan los totales.

Cruza	Flores fertilizadas	Frutos	Semillas	Porcentaje de efectividad
Morado x Morado	63	25	27	39.68%
Morado	60	14	12	23.33%
Blanco x Blanco	42	7	8	16.66%
Blanco	54	25	28	46.29%
Morado x Blanco*	67	16	19	23.88%
Blanco x Morado*	53	8	11	15.09%
Control Blanco	52	8	12	15.38%
Control Morado	107	13	15	12.14%
Total	498	116	132	

V. 5. Modelado de nicho ecológico

De los 15 datos utilizados para la elaboración de los Modelos de Nicho Ecológico para *Brongniartia vazquezii*, 12 fueron usados como datos de entrenamiento (training) y los tres restantes como datos de prueba (test); el valor de **AUC** resultante es 0.938, asimismo, el umbral de corte seleccionado fue *Maximum training sensitivity plus specificity*, el cual arroja tasas de omisión para datos de training de 0% y datos de test de 0%, es decir, al cortar el modelo el valor de este umbral el 100% de los datos se mantienen dentro del área predicha. Por otro lado, los valores de configuración utilizada en los modelos fue Linear, Quadratic, Product y Hinge; mientras que se utilizó un valor de regularización de 0.5 (Tabla 14).

Tabla 14. Valores utilizados en la configuración de los Modelos de Nicho Ecológico para *Brongniartia vazquezii*

Número de datos de <i>Training</i>	Número de datos de <i>Test</i>	AUC	Umbral de corte	Tasa de omisión de datos de <i>Training</i>	Tasa de omisión de datos de <i>Test</i>	Valores de regularización
12	3	0.938	Maximum training sensitivity plus specificity	0	0	LQPH (0.5)

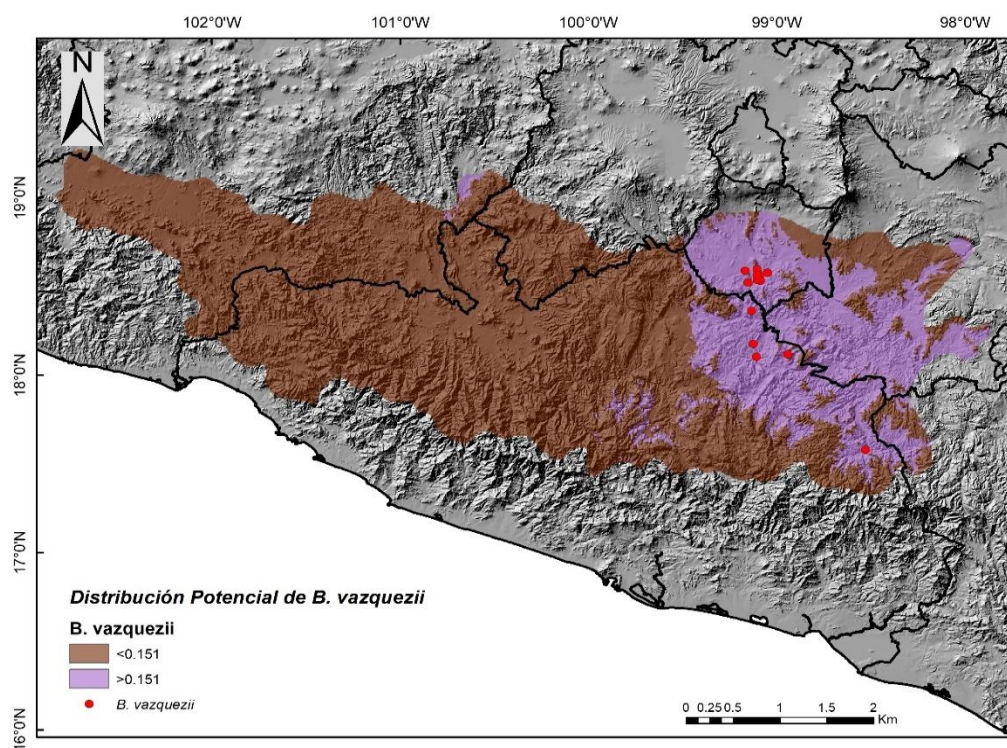


Figura 27. Distribución potencial de *B. vazquezii* en la Cuenca de Balsas. El color morado a la derecha representa el área en las existe una mayor probabilidad (>0.316) de encontrar a *B. vazquezii*, mientras que en color café se ilustran las áreas con menor probabilidades de que *B. vazquezii* exista, los puntos rojos representan las poblaciones utilizadas para este estudio.

En el estado de Morelos se pueden observar dos zonas que se encuentran marcadas por dos colores: la zona de color café que representa la capa utilizada en Maxent perteneciente a la región de la Cuenca del Rio balsas y la zona de color morado representa el área potencial de distribución de *B. vazquezii* en la región de la Cuenca del Balsas. Por lo tanto, la distribución potencial de esta especie recorta al estado de Morelos, Puebla y Guerrero (Figura 27).

En el mapa de la Figura 28 se muestra la distribución potencial de *B. vazquezii* únicamente para el estado de Morelos, donde el color morado en regiones centro y sur de Morelos representa el área en la que existe una mayor probabilidad (>0.316) de encontrar a *B. vazquezii*, mientras que en color café se ilustran las áreas con menor probabilidades de que está exista.

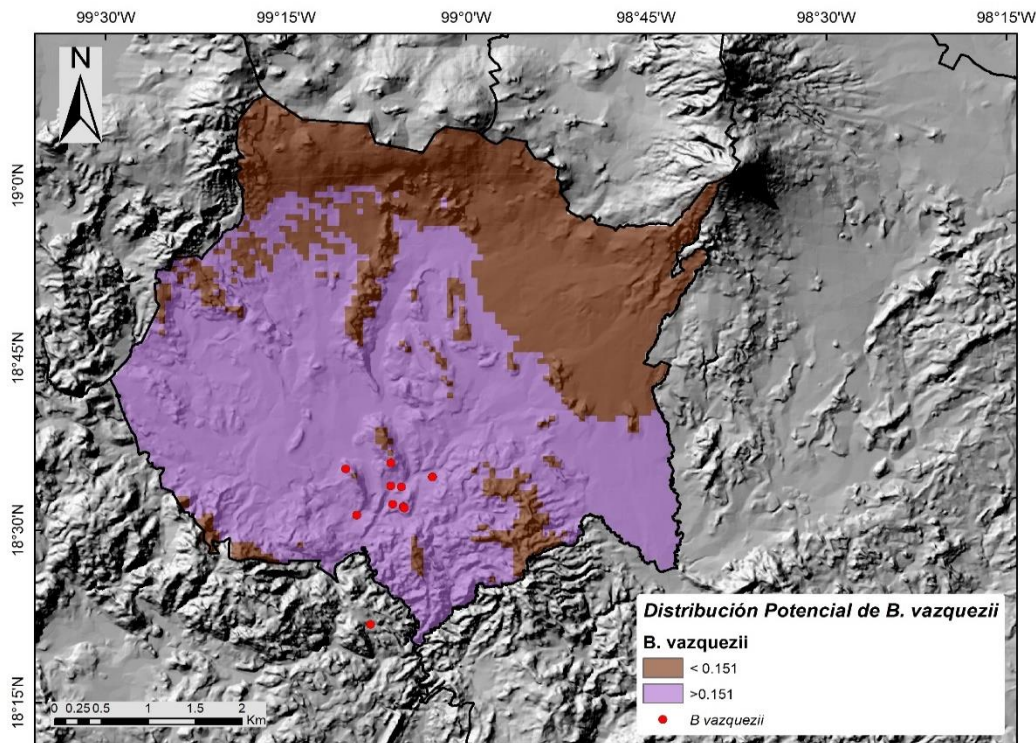


Figura 28. Distribución potencial de *B. vazquezii* en Morelos, los puntos rojos representan las poblaciones utilizadas para este estudio.

VI. Discusión

V. 1. Estudio morfológico

Al obtener las descripciones de ambas formas de *B. vazquezii* y al comparar entre ellas se determinó que en 21 estructuras existen diferencias entre ambas formas (Tabla 5). Con base en estos resultados, se logró evidenciar cierta tendencia morfológica, donde la forma blanca de *B. vazquezii* aparenta ser más pequeña -en algunos rasgos- en comparación con la forma morada. Una diferencia evidente y consistente entre ambas formas se presenta en las semillas, de color café claro en la forma blanca y verde oliva, moteada en la morada. Por lo tanto, este último rasgo, además del color de la flor (blanca vs morada) son las dos diferencias morfológicas consistentes, aunque pudiera considerarse que ambas características (semillas y pétalos), son independientes, por lo tanto pudieron haber evolucionado solamente en la forma blanca.

Es importante resaltar que dicho estudio morfológico se realizó con el objetivo de evidenciar marcadores morfológicos entre ambas formas de *B. vazquezii* como producto de una especiación simpátrica y que ambas se traten de diferentes taxa. A pesar de que los resultados de los rasgos morfológicos no fueron analizados bajo un modelo estadístico, existen trabajos que para definir o diferenciar variedades se basan, inicialmente, en las diferencias morfológicas; en el caso de las ciruelas (*Spondias purpurea*) (Vargas-Simón *et al.*, 2011) determinan variedades de esta especie con base a las diferencias morfológicas encontradas en el margen, número, longitud y ancho de foliolos, pedicelos, y además del color del exocarpo. Así mismo, dentro de la familia Asteraceae se han descrito hasta variedades de plantas bajo la diferenciación morfológica; por ejemplo, Özbek y Onayli (2020) determinaron una variedad de *Tripleurospermum fissurale*, donde se presentan diferencias morfológicas en poblaciones simpátricas. Las discrepancias morfológicas determinadas por Özbek y Onayli fueron, principalmente, flores con y sin lígulas, e incluso diferencias en tamaño y forma del aquenio. Sin duda alguna, estos son solo unos ejemplos de que existen diversos estudios donde la morfología cumple una función muy importante en la determinación de los taxa, incluso llegando a un nivel infraespecífico. Por lo tanto, las

diferencias taxonómicas entre ambas formas de *B. vazquezii* podrían ser suficientes para poder diferenciarlas como diferentes taxa.

V. 2. Estudio palinológico

Como se mencionó anteriormente, el objetivo de este estudio fue comparar los granos de polen de ambas formas de *Brongniartia vazquezii*, con el fin de determinar la presencia de marcadores morfológicos adicionales entre ambas formas. A pesar de que a simple vista los únicos marcadores conspicuos son: la coloración de la flor y el color de la semilla. A nivel de polen se detectaron diferencias entre ambas formas (Tabla 6). Los tipos de polen son tricolpados, de tamaño medio. Ectoaberturas con ápice agudo y membrana granular. Ornamentación microreticulada. La vista en **AMB** es convexa y con un área polar pequeña. Sin embargo, en otras estructuras medidas se localizaron pequeñas diferencias en tamaño y forma, las cuales fueron las siguientes; **i)** se encontraron dos tipos de formas: en *B. vazquezii* morada los granos de polen son prolados y en *B. vazquezii* blanca subprolados; **ii)** vista ecuatorial: el eje polar en *B. vazquezii* morada es de 32.11 μm y el eje ecuatorial de 21.66 μm , mientras que en *B. vazquezii* blanca el eje polar es de 25.48 μm y el ecuatorial de 22.42 μm ; **iii)** vista polar: eje polar en *B. vazquezii* morada es de 26.82 μm y en *B. vazquezii* blanca de 26.08 μm ; **iv)** Ectoabertura en *B. vazquezii* morada de 23.62 μm de longitud polar y 0.87 μm de longitud ecuatorial y en *B. vazquezii* blanca de 16.49 μm de longitud polar y 0.96 μm de longitud ecuatorial; **v)** Margo: en *B. vazquezii* morada se observa un margo bien definido con ornamentación perforada y un engrosamiento de 0.78 μm mientras que en *B. vazquezii* blanca no se observa un margo; **vi)** ornamentación: los muros de *B. vazquezii* morada son de 0.78 μm y lumen de 0.62 μm mientras que en *B. vazquezii* blanca encontramos muros de 0.37 μm y un lumen de 0.69 μm ; **vii)** en *B. vazquezii* morada encontramos una exina de 1.40 μm de grosor, sexina de 0.70 μm de grosor y nexina de 0.65 μm , para *B. vazquezii* blanca la exina es de 1.53 de grosor, sexina de 0.80 μm de grosor y nexina de 0.74 μm ; **viii)** la distancia entre colpos en *B. vazquezii* morada es de 7.74 μm con un índice del área polar de 0.29 μm , en *B. vazquezii* blanca la distancia entre colpos es de 9.50 μm con un índice en el área polar de 0.33 μm .

Con base en estos datos, en primera instancia ambos granos de polen presentan diferente forma. En este contexto, existe una tendencia definida en la mayoría de las estructuras medidas: donde los granos de polen en *B. vazquezii* morada son más grandes en la mayoría de las estructuras, en comparación a los granos de polen de *B. vazquezii* blanca. Esta tendencia se ve reflejada por una diferencia de 1 micra; incluso en algunos por poco menos de 1 μm , aunque no en todos los rasgos se sigue esa tendencia; en algunos otros es lo inverso, como lo son: el lumen, la exina, la sexina, la nexina, la distancia entre colpos y el índice del área polar, los cuales en *B. vazquezii* blanca son ligeramente más grandes que en *B. vazquezii* morada; esto se debe a que los colpos tienen una mayor longitud por lo cual directamente la distancia entre los colpos en el área polar será menor, reduciendo así el área polar.

Todas las anteriores diferencias son suficientemente evidentes; no obstante, la diferencia más notable es la presencia de un margo o engrosamiento en el margen de la ectoabertura en *B. vazquezii* morada mientras que en *B. vazquezii* blanca éste es ausente. De esta forma la presencia de éste margo podría representar el marcador morfológico del polen más determinante para diferenciar ambas formas de *B. vazquezii*. En este contexto los datos indican que sí existen diferencias entre los granos de polen en ambas formas de *B. vazquezii*. Sin embargo, consideramos que con esto (diferencias en el margo y la forma del polen), además del contrastante color de la flor, podrían representar taxa diferentes (especies, subespecies o variedades). Esto último con base a que existen estudios taxonómicos basados en la morfología de los granos de polen y son considerados importantes dentro de la taxonomía y filogenia (García *et al.*, 2015); por ejemplo, el polen de la especie *Nothofagus nervosa* (Nothofagaceae) presenta una forma bien definida cuando el polen es maduro y está permitiendo la identificación de la especie. Los rasgos morfológicos de los granos de polen como son la forma o el tamaño son considerados como caracteres con un gran valor taxonómico (García *et al.*, 2015); incluso en la familia Nothofagaceae se han determinado las relaciones filogenéticas entre las especies de la familia, hasta subdividir el género en cuatro subgéneros (*Brassopora*, *Nothofagus*, *Fuscospora* y *Lophozonia*) (Dettmann *et al.*, 1990, Hill y Jordan 1993, Manos 1997). En este

sentido, las diferencias encontradas en los granos de polen de ambas formas de *B. vazquezii* si pueden representar caracteres determinantes para la identificación como diferentes taxa a nivel de polen.

V. 3. Estudio citogenético

Se determinó el número cromosómico de ambas formas de *B. vazquezii*, así como el cariotipo de cada una de ellas. Como ya se mencionó anteriormente, ambas formas presentan el mismo número cromosómico; siendo éste de $2N= 18$ cromosomas. Con respecto al cariotipo de ambas formas, también se obtuvo un resultado similar entre ambas formas de *B. vazquezii*: cromosomas de tipo metacéntricos, y que a su vez estos cromosomas son muy simétricos en su forma según el índice de Levan (1964); entre más cercano esté el valor a 50, la forma de los cromosomas será más simétrica; es decir, con la típica forma de una equis. Sin embargo, a pesar de que ambas formas de *B. vazquezii* presentan el mismo número cromosómico, y ambos cariotipos son similares en su forma y simetría, se apreciaron ciertas diferencias entre ellos. Los cromosomas de la forma blanca tienden a ser más pequeños en comparación de los cromosomas de la forma morada, por menos de una micra. La cantidad del material genético de la forma morada presenta un promedio de 13.006 μm , mientras que la forma blanca contiene un promedio de 12.498 μm . En este sentido, la blanca contiene menor cantidad de material genético que la forma morada. Otra diferencia que se pudo determinar entre ambos cariotipos es que a pesar de que ambos presentan cromosomas metacéntricos y simétricos, el cariotipo de la forma blanca presenta cromosomas aún más simétricos en comparación con los de la forma morada, ya que la **F(s)** total del cariotipo (**TF(s)**) es de 44.67 mientras que la forma de los cromosomas de la forma morada en **TF(s)** presenta un valor de 44.48. Retomando el índice propuesto por Levan (1964), si el valor se encuentra más cercano a 50, los cromosomas son más simétricos; por lo tanto, los cromosomas de la forma blanca son más simétricos por una mínima diferencia en el valor de **TF(s)** en comparación a los cromosomas de la forma morada. Al observar los esquemas de los cariotipos se puede evidenciar que existen una ligeras diferencias en la longitud de varias cromátidas; por ejemplo: el cromosoma número

1 en ambos cariotipos es muy similar; en el cromosoma número 3 se ve una ligera diferencia en la longitud de una cromátida; de igual forma, en los cromosomas 4, 5, 6 y 7 se observa una pequeña diferencia en una de las cromátidas de los cromosomas de ambos cariotipos, esquematizada en las Figuras 20 y 21. Por lo tanto, los cromosomas de la forma morada se observan más heterogéneos con respecto a los de la forma blanca.

En conclusión, al inicio de este estudio se creyó que la aparición del carácter blanco en la coloración de la flor en algunos individuos de *B. vazquezii* podría deberse a un caso de poliploidía. Sin embargo, los resultados obtenidos en este estudio indican que el número cromosómico de ambas formas de esta especie es el mismo número $2N= 18$ y además es diploide. Con respecto a él cariotipo se encontraron algunas diferencias, pero no suficientes para distinguir taxonómicamente ambas formas de *B. vazquezii* como especies diferentes.

VI. 4. Estudio de aislamiento reproductivo

Con base en los resultados obtenidos de las cruzas entre ambas formas de *B. vazquezii* se pudo determinar lo que se describe a continuación:

1.- Mediante el ciclo floral ambas formas presentaron hercogamia en la mayoría de las flores diseccionadas, sin embargo, en otras flores se observó que en ocasiones presentan autofecundación; esto lo podemos corroborar con los resultados obtenidos en las cruzas manuales, donde vemos que al realizar la autofecundación de forma manual para cada forma estas cruzas producen frutos y semilla. Asimismo, las flores "testigos" de ambas formas de manera natural producen frutos y semillas.

2.- Respecto a las cruzas, se observó la tendencia de que la forma blanca, frecuente presenta autofecundación más que la fertilización con otros individuos. El porcentaje de efectividad fue más alto en las cruzas de autofecundación, por otro lado, la forma morada frecuentemente presenta la fertilización cruzada con otros individuos más que la autofecundación.

3.- Ambas formas de *B. vazquezii* aún siguen teniendo entrecruzamiento entre sí debido a que las cruzas efectuadas entre ambas formas produjeron frutos y semillas, por lo tanto, se infiere que no hay una barrera reproductiva entre ambas.

El eje principal de este estudio era determinar si ambas formas de *B. vazquezii* aun presentan entrecruzamiento entre ellas, e inicialmente se pensaba que el color de la flor podría estar influyendo en su éxito reproductivo, y que ambas formas de *B. vazquezii* estaban aisladas reproductivamente. Sin embargo, con los resultados obtenidos en las cruza manuales nos indican la presencia de entrecruzamiento entre ellas y si tomamos en consideración el concepto biológico reproductivo de especie en base a estos resultados, ambas formas representan la misma especie; por otro lado, es pertinente considerar que aún faltan realizar un estudio completo sobre síndrome de polinización. En estudios anteriores, se ha comprobado que el color de las flores tiene como función atraer a los polinizadores donde los colores que mayor luz ultravioleta reflejan, tienen más posibilidades de ser visitadas, en comparación con las flores que menos reflejan, como lo son las flores blancas (White *et al.*, 1994). En este sentido se espera que de forma artificial, aún existe entrecruzamiento, sin embargo el color de la flor podría representar una barrera reproductiva que impida el entrecruzamiento de forma natural, por medio del agente polinizador.

V. 5. Modelado de Nicho Ecológico

De acuerdo con los mapas obtenidos por los modelos de nicho ecológico (MNE's) en la región oriente de la cuenca del Balsas existen las condiciones para que *Brongniartia vazquezii* pueda desarrollarse, que incluyen las regiones centro y sur del estado de Morelos. Es importante mencionar que el valor de AUC de 0.938 es un buen indicador de que los modelos realizados predicen de manera confiable las áreas de distribución potencial de *B. vazquezii*.

Posteriormente y con base en estos resultados se planearon algunas exploraciones a sitios de este nicho fundamental (distribución potencial) de *B. vazquezii*, en los que se detectaron sitios adicionales. Además, se contó con la información de colegas que desarrollan sus investigaciones en estos sitios (hongos, por ej.). Lo interesante es que se encontraron dos poblaciones de *B. vazquezii*: la primera en la sierra de Monte Negro, aproximadamente a 2 km al Noroeste del poblado de Barranca Honda en el municipio de

Tlaltizapán; y la segunda en un cerro aproximadamente a 1.4 km al Suroeste de Moyotepec en el municipio de Ayala (Figura 29). Estas nuevas poblaciones evidencian el potencial que tiene la reevaluación de los modelos de nicho ecológico, frecuentemente ratifican las sobreestimaciones establecidas acerca de los modelos propuestos para reflejar los rangos de distribución potencial de manera confiable. Además, estas localidades nuevas se utilizaron para reanalizar los modelos debido a que –por lógica- se incrementa la distribución fundamental de la especie bajo estudio.

Asimismo, en estas nuevas poblaciones de *B. vazquezii*, así como en las del estado de Guerrero, se realizaron búsquedas de la forma blanca de esta especie, con el fin de determinar si la forma blanca ocurre en otros sitios o es una circunstancia que sólo se restringe a la población de La Era. En este sentido, resulta conveniente aclarar que no es posible realizar MNE's para la forma blanca debido -precisamente- a que hasta el momento se conoce una población: la de La Era; para realizar este tipo de modelos son necesario que existan por lo menos tres puntos georreferenciados, con un mínimo de 1 km de separación entre ellos (Person *et al.*, 2007) y no en los 250 m² que comprende la población de esta forma.

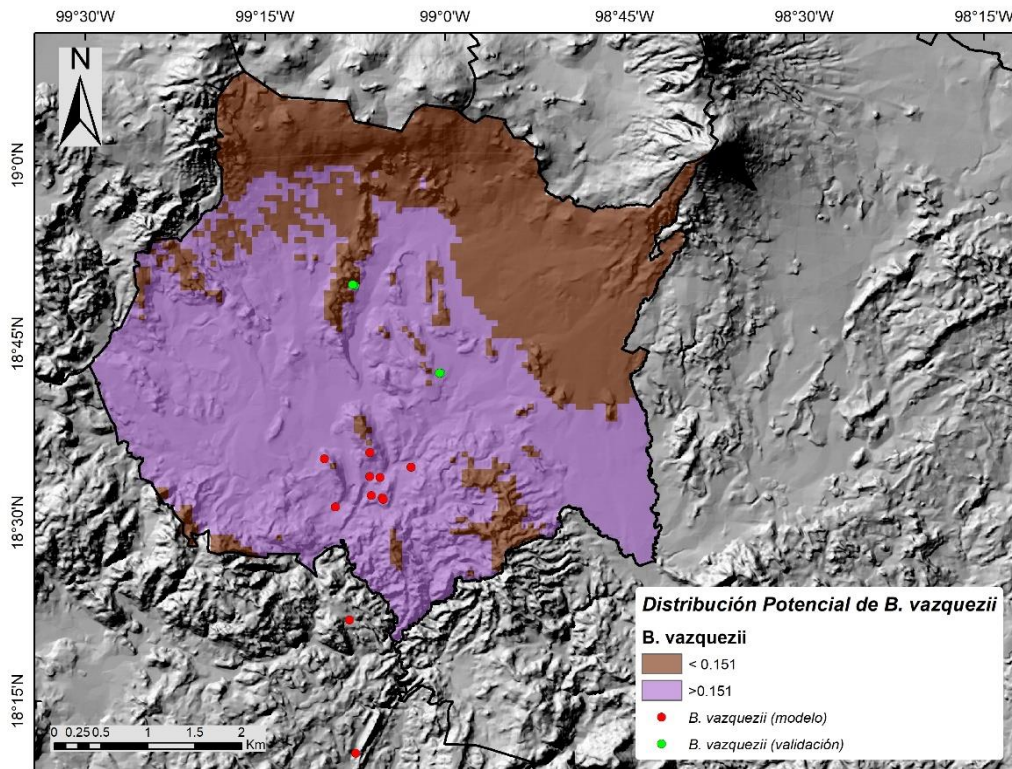


Figura 29. Distribución potencial de *B. vazquezii* en la Cuenca de Balsas, en color verde se observan las poblaciones encontradas posteriormente a la elaboración de los modelos.

Con base en este estudio, los modelos realizados es posible encontrar poblaciones de manera confiable en zonas generales de distribución potencial de *B. vazquezii*. Se considera pertinente que para establecer una predicción con mayor precisión (y muy posiblemente más reducida) es conveniente ampliar el análisis con modelos utilizando -además- variables como tipos de suelo y tipos de vegetación, por ejemplo; esperando con esto que la adición de estas variables acote los rangos de distribución arrojados por los modelos. Esto concuerda con Dorado (*com. pers.*) ya que él considera que es poco probable que existan poblaciones en ciertas regiones de la distribución potencial (nicho fundamental) de *B. vazquezii*. Con base en lo anterior, se considera que el modelo predice distribuciones más

amplias porque para la realización de los modelos se utilizaron solamente variables climáticas.

Por otro lado, las poblaciones encontradas en la sierra de Monte Negro y en Moyotepec, representan evidencia de la confiabilidad (Foley, 2010) de los modelos. Aun así, consideramos necesario realizar más exploraciones en las zonas dentro del rango de distribución potencial a fin de validar los modelos, incluyendo la posibilidad de encontrar nuevas poblaciones de ambas formas. Lo anterior también para constatar que la forma blanca se presente solo en el “epicentro” en donde se ha encontrado hasta el momento.

Es importante mencionar que en un estudio previo realizado por Gonzales y Nuñez (2001) evaluaron el efecto de la fragmentación del hábitat (**FH**) en la composición genética de *B. vazquezii*. En este estudio los autores partieron del hecho de que la **FH** probablemente impactaría de forma negativa a la estructura genética de *B. vazquezii* ya que en su momento se consideraba una especie endémica de la Sierra de Huautla con tan solo cuatro poblaciones conocidas, y estas aisladas por áreas perturbadas; lo que ocasionaría una pérdida de diversidad genética por medio de un cuello de botella. Sin embargo, como resultado en dicho estudio Gonzales y Nuñez determinaron que su hipótesis inicial no se cumplía debido a que sus resultados evidenciaron la existencia de una alta variabilidad genética en las poblaciones de dicha especie, incluso que había una alta heterogocidad en plántulas.

Con base a lo anterior podemos decir que el análisis de **MNE** realizado para este estudio de caso apoya los resultados encontrados por Gonzales y Nuñez (2001) puesto que, en la actualidad se sabe que la distribución de *B. vazquezii* es más amplia. Como ya se comentó, por medio del **MNE** se lograron localizar dos poblaciones adicionales dentro del estado de Morelos (en la Sierra de Montenegro y en Moyotepec), además se revisaron ejemplares de herbario pertenecientes a los estados de Guerrero y Puebla; por lo cual sustenta el hecho del por qué Gonzales y Nuñez encontraron una alta variabilidad en las cuatro poblaciones muestreadas, ya que estas estaban en continuo flujo genético con más poblaciones que en su momento se desconocían.

VI. Conclusión

En biología existe un gran debate en el cómo definir una especie; es decir, en qué punto se puede considerar que las poblaciones difieren unas de otras. Lo anterior es complicado y es por eso (y otras razones) que no existe un concepto universal de especie. Todos los conceptos existentes presentan dificultades, por ejemplo, el concepto biológico de Mayr (1942) involucra a especies que se reproducen de manera sexual, dejando a las bacterias (por ejemplo) fuera de este concepto. Sin embargo, actualmente el concepto de especie será aquel que se ajusta a la investigación que se realiza; es decir, si se realizan filogenias, el concepto de especie a utilizar es el concepto filogenético, por dar un ejemplo. Para este estudio inicialmente se planteó seguir el concepto biológico reproductivo Mayr (1942) el cual dice que “una especie es un grupo (o población) de individuos con características similares, que son interfértiles entre sí y que están aislados reproductivamente de otras poblaciones”. La hipótesis central de este trabajo estuvo bajo el supuesto de que el cambio del color de la flor fue en dirección del color morado a blanco y que este se debía a un proceso de especiación por poliploidía; y por consiguiente, éste provocó una barrera reproductiva a nivel de número cromosómico (por el incremento de juegos completos de cromosomas) entre ambas formas. Sin embargo, ambas presentan el mismo número cromosómico; por tal motivo, se considera que el cambio en el color de la flor se debe a una mutación particular en condiciones de simpatria y no por especiación por poliploidía.

Los procesos de especiación, principalmente la simpátrica, son uno de los temas más debatidos en la evolución (Bolnick y Fitzpatrick, 2007). Por otro lado, los primeros genetistas afirmaron que las especies surgen instantáneamente a través alguna mutación dentro de la población (de Vries, 1901). Existen definiciones de **ES** donde adicionan principios sobre genética de poblaciones, donde estipulan que la población inicial debe ser pandmítica (Bolnick y Fitzpatrick, 2007), recordando que la especiación simpátrica se refiere a el surgimiento de nuevas especies dentro de una única unidad de entrecruzamiento (Mayer, 1942). La **ES** suele ser promovida más fácilmente por medio de varios eventos: i) una gran selección ecológica disruptiva, ii) por una fuerte selección sexual, iii) una baja

recombinación entre los loci de apareamiento e incluso iv) grandes variaciones de rasgos iniciales o altas tasas de mutación (Gavrilets, 2004). Pocos estudios han podido satisfacer estos cuatro criterios (Barluenga, *et al.*, 2006b); sin embargo, en la actualidad muchos que se consideraban escépticos, admiten que la **ES** es teóricamente posible y que la podemos encontrar en la naturaleza (Coney y Orr, 2004). Por otro lado, uno de los problemas es que los casos candidatos a ser **ES** se traten de un contacto secundario y no por **ES**, es decir que en un inicio se volvieron alopátricas y al paso del tiempo un contacto secundario las vuelve simpátricas; sin embargo, es difícil demostrar la ambigüedad que esto representa.

En conclusión, actualmente existen datos que respaldan el hecho de que la especiación simpátrica es rara, debido a que 1 de cada 10 eventos podrían ser candidatos de una posible **ES** (Bolnick y Fitzpatrick, 2007). Esto respalda que el caso de *B. vazquezii* podría representar una posible oportunidad de evidenciar la **ES**, principalmente por las variaciones de diversos rasgos encontradas en este estudio de casa, las cuales van desde lo morfológico, hasta el tamaño en los cromosomas, y que estas en algún futuro, representen unas fuertes barreras de aislamiento, si no es que ya están en ese proceso.

Con base en los resultados obtenidos en ambas formas de *B. vazquezii* se evidenció entrecruza entre ambas formas, por lo cual, de acuerdo al concepto biológico reproductivo de especie, ambas formas podrían ser coespecíficas. A pesar de que los estudios morfológico y palinológico evidencian diferencias contrastantes y consistentes entre ambas formas de *B. vazquezii*, que incluso podrían considerarse como marcadores morfológicos. Por tal motivo, si consideramos el concepto morfológico de especie, el cual dice que “Una especie reconocible por sus diferencias intrínsecas reflejadas en su morfología, lo que hace a dicha especie claramente diferenciada de cualquier otra y de todas las especies” (Mayr, 1992); así mismo, también la definición del concepto taxonómico, el cual considera un reconocimiento de las especies basado en el grado de diferencia la cual incluye considerables dificultades en la práctica, las cuales están relacionadas con: el sexo, edad, estacionalidad y variación genética, por dar algunos ejemplos; es decir, algunas veces miembros de la misma población se diferencian más claramente entre ellos, que con las de otras especies. Por lo anterior y con base en el concepto morfológico de especie se podría

reconsiderar la idea de que ambas formas de *B. vazquezii* se traten de dos taxas diferentes. Además, se considera que se requieren líneas de evidencia adicionales para dilucidar esta circunstancia.

Por otro lado, el estudio del Modelado de Nicho Ecológico resultó de gran importancia para este estudio debido a que: *i)* se obtuvo un modelo de distribución potencial de *B. vazquezii*; *ii)* fue posible validar este modelo, ya que se encontraron nuevas poblaciones de *B. vazquezii* que caen dentro de la predicción de este modelo realizado, sin embargo, el aporte más importante fue que; *iii)* en las poblaciones de *B. vazquezii* encontradas no existe la forma blanca, únicamente se encontraron poblaciones de la forma morada. Por lo que se reitera que la idea de que la población que se encuentra en la comunidad de La Era, Tlaquiltenango, es la única y que ese es el centro de origen de esta forma blanca, y que, además, sigue aumentando, ya que inicialmente se contaban con 12 individuos y para el final de este estudio se localizaron cuatro individuos más en la periferia de la población.

Sí bien es cierto que la forma blanca podría representar una mutación fenotípicamente muy evidente (color de la flor); además del color de las semillas y ciertas características del polen. Este proceso puede tener dos rumbos evolutivos diferentes y contrastantes, tendientes a: por un lado, la eventual especiación a través del incremento de la aptitud de la forma blanca, o a su extinción, estimulada por el reducido número de individuos y a la distribución tan reducida de la forma blanca, originando un cuello de botella.

En conclusión, ¿Qué sucede con la población de *Brongniartia vazquezii* con flores blancas? Este estudio de caso, sin lugar a duda, ayudó a sustentar de manera más parsimoniosa lo que ocurre en la población de *B. vazquezii* con flores blancas. Con los resultados obtenidos, se propone a dicha población que pudiera representar un nuevo taxon en el rango de variedad (*B. vazquezii* var. *alba*) (Anexo 2). La propuesta de variedad es con base a las diferencias constantes que se lograron determinar durante el presente estudio. Por otro lado, el estudio de modelado de nicho ecológico sustenta la hipótesis de

que, hasta el momento, existe una población de esta "variedad *alba*", ya que en ninguna otra localidad se ha encontrado otra población de flores blancas.

Es importante mencionar que la propuesta al rango de variedad taxonómica es más congruente que el rango de subespecie (y forma) ya que la variedad se sustenta bajo los supuestos de: *i*) son poblaciones sobrepuestas (simpátricas) y *ii*) que de alguna manera muestran una diferenciación morfológica del patrón característico de la especie y tiene cierta consistencia en la población. De esta manera, se pudieran dar pistas de que dichos marcadores morfológicos tienen bases genéticas en las poblaciones. Algunos consideran a las variedades como un proceso de especiación incipiente. Además, se ratificó ese punto de vista con algunos colegas botánicos como R. Cerros-Tlatilpa, J. L. Villaseñor y S. Zona para determinar si ese punto de vista es coherente. Por lo tanto, se puede concluir que, a diferencia de las subespecies, las cuales no se sobreponen, presentan un aislamiento geográfico más amplio y que, además, presentan una variabilidad genética fijada. Por otro lado, las formas, se tratan de individuos con rasgos que surgen de manera esporádica dentro de las poblaciones, y en la cual no se denota una diferenciación geográfica.

Apesar de que existe una gran cantidad de subespecies, variedades y formas descritas, hay muy poca información del cómo delimitar o circunscribir dichos rangos intraespecíficos. Sí circunscribir una especie es complicado, definir el rango (intraespecífico) al que deberían pertenecer algún nuevo taxa (*B. vazquezii* var *alba*), lo hace aún más complejo; ya dijimos anteriormente que hay muy poca información al respecto, por lo tanto, no hay una receta como tal para decir donde se pone la línea. Con base a lo anterior, se considera que el proponer a la población de *B. vazquezii* con flores blancas a nivel de variedad es más congruente que los niveles de subespecie y forma.

Consideramos que este estudio representó una oportunidad -sin igual- para el desarrollo de una investigación integral en donde se lograron abordar varios aspectos, desde evolutivos, como su vinculación con el tema de conservación y participación comunitaria. Los pobladores de la región de La Era habían deforestado ese lado del cerro donde se distribuyen los individuos con flores blancas y moradas con el propósito de cultivar maíz. Afortunadamente, los miembros del grupo de trabajo Trópico Seco convencieron a

los propietarios de que buscaran un uso diferente de la tierra, en particular el establecimiento de un programa de ecoturismo. En la actualidad, el área había sido cercada y parece estar a salvo del ganado, al término de este proyecto podemos decir que éste ayudo en gran medida a la conservación de esta especie y sus formas, debido a que los dueños del terreno adquirieron cierta reflexión hacia la especie; por tal motivo, ellos mismos han decidido conservarlas y cuidarlas dentro de su terreno; se está trabajando en el desarrollo de un programa para la conservación de la planta, incluido su polimorfismo en el color de la flor. La meta no sólo es contribuir a la conservación de *B. vazquezii*, sino de la selva baja caducifolia en su conjunto.

IX. Literatura Citada

- Aguilar, B. S. 1990. Dimensiones ecológicas del Estado de Morelos. Centro Regional de investigaciones multidisciplinaria, UNAM. 221 p.
- _____, B. S. 1995. Ecología del estado de Morelos. Editorial Praxis. Instituto Estatal de Documentación de Morelos. 469 p.
- Arellano Marquina, G., Alpuche Garcés, O., Saldaña Fernández, M. C., y García Matías, F. 2013. Factores estratégicos de los proyectos de turismo rural en el municipio de Tlaquiltenango Morelos, México, y su situación actual. *Ambiente y Desarrollo*, 17(32): 97-111.
- Arroyo, M.T.K., 1981. Brongniartieae (Benth.) Hutch. In: Polhill, R.M., Raven, P.H. (Eds.), *Advances in Legume Systematics*, Part 1. Royal Botanic Gardens Kew, Richmond, pp. 387–390.
- Barluenga, M., Stoelting, K. N., Salzburger, W., Muschick, M. y Meyer, A. 2006. Sympatric speciation in Nicaraguan crater lake cichlid fish. *Nature*, 439:719-23.
- Bolnick, D. I., y Fitzpatrick, B. M. 2007. Sympatric speciation: models and empirical evidence. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.*, 38: 459-487.
- Cardoso, D., Queiroz, L.P., Pennington, R.T., Lima, H.C., Fonty, E., Wojciechowski, M.F. y Lavin, M. 2012. Revisiting the phylogeny of papilionoid legumes: new insights from comprehensively sampled early-branching lineages. *Am. J. Bot.* 99, 1991–2013.
- _____, D., Queiroz, L.P., Lima, H.C., Sukanuma, E., van den Berg, C. y Lavin, M. 2013. A molecular phylogeny of the vataireoid legumes underscores floral evolvability that is general to many early-branching papilionoid lineages. *Am. J. Bot.* 100, 403–421.
- _____, D., Harris, D., Wieringa, J., São-Mateus, W., Batalha-Filho, H., Torke, B., Prenner, G., y de Queiroz, L. P. 2017. A molecular-dated phylogeny and biogeography of the monotypic legume genus *Haplormosia*, a missing African branch of the otherwise American-Australian Brongniartieae clade. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 107: 431–442.
- Chapman, A. D. 2005. Principles and Methods of data cleaning. Report of the global biodiversity information facility 2005. 75 pp. Copenhagen: GBIF.
- CONABIO. 2020. *Biodiversidad Mexicana*, Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, CONABIO, Ciudad de México. Disponible en: <https://www.biodiversidad.gob.mx/especies/cuantasesp>.
- Coyne, J. A. y Orr, H. A. 2004. Speciation. Sunderland, MA: Sinauer. 545 pp.
- Contreras-MacBeath, T., Ongay-Delhumeau E. y Sorani V. D. 2006. Programa Estatal de Ordenamiento Territorial Sustentable de Morelos Fases I, II y III. Incluyendo los subsistemas Natural, Social y Económico. SEDESOL. 600 pp.
- _____, T., Boyás, J. C., Martínez-Thomas, J. I., Taboada-Salgado, M., Pohle-Morales, O. M., Herrera-Ascencio, P. 2006. Contreras-MacBeath, T., Boyás J.C. y Jaramillo F. (eds.). *La Diversidad Biológica en Morelos: Estudio del Estado*. México: Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad y Universidad Autónoma del Estado de Morelos, 7-20.
- Coyne, J. A., y Orr, H. A. 2004. Speciation, volume 37 Sunderland. MA: Sinauer Associates.
- Crisp, M. D. y Weston, P. H. 1987. Cladistics and legume systematics, with an analysis of the *Bossiaeeae*, Brongniartieae and Mirbelieae. In: Stirton, C.H. (Ed.), *Advances in Legume Systematics*, Part 3, Royal Botanic Gardens, Kew, Richmond, 65–130.
- Crisp, M. D., Gilmore, S. y van Wyk, B.-E., 2000. Molecular phylogeny of the genistoid tribes of papilionoid legumes. In: Herendeen, P.S., Bruneau, A. (Eds.), *Advances in Legume Systematics*, Part 9, Royal Botanic Garden, Kew, Richmond, 249–276.

- Cuevas, E. 2012. Mecanismos de especiación ecológica en plantas y animales. *Biológicas Revista de la DES Ciencias Biológico Agropecuarias Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo*, UMSNH. 14(2): 7–13.
- Dettmann, M., Pocknall, D., Romero, E., y Zamaloa, M. 1990. Nothofagidites Erdman ex Potonie 1960: a catalogue of species with notes on the paleogeographic distribution of *Nothofagus* BL (Southern Beech). *New Zealand Geological Survey Palaeontological Bulletin*, 60: 1-79.
- de Vries, H. 1901–1903. De Mutationstheorie, Vols. I, II. *Leipzig: Verlag von Veit*.
- Dorado, O. 1988. A Morphological Revision of the Podalyrioides Group of *Brongniartia* (Fabaceae: Faboideae). Tesis de Maestría. 153 pp.
- _____, O. 1989. *Brongniartia vazquezii* (Fabaceae: Faboideae), a new species from the state of Morelos, Mexico. *Syst. Bot.* 14: 20–23.
- _____, O. y Arias, D. M. 1992. *Brongniartia montalvoana*, una especie nueva de la Cuenca del Río Balsas. *Acta Botánica Mexicana*, 17: 13-17.
- _____, O y Arias, D. M. 2015. *Brongniartia yahualica* (Fabaceae, Faboideae), a new and unusual species from Jalisco, Mexico. *Novon*, 24: 236-239.
- _____, O., Arias, D. M. y de Jesús-Almonte, J. M. 2019. *Brongniartia bicornuta* (Leguminosae, Papilionoideae), a New Species from the Seasonally Dry Tropical Forests of the Balsas River Basin, Mexico. *Sistematic Botany*, 44(1): 139-145.
- DRYFLOR. 2016. Plant diversity patterns in neotropical dry forests and their conservation implications. *Science*, 353: 1383-1387.
- Elith, J. 2000. Quantitative methods for modeling species habitat: comparative performance and an application to Australian plants. Ferson S. y Burgman M. (Eds.), *Quantitative methods for conservation* (pp 39-58). New York Springer-Verlang.
- Erdtman, G. 1960. The acetolysis method, a revised description. *Svenk Bot. Tidskr.* 54: 561:564.
- Ferrusquía-Villafranca, I. 1990. Regionalización biogeográfica. Mapa IV.8.10. En Atlas Nacional de México, Vol III, Instituto de Geografía, UNAM, México. CDMX.
- Fick, S. y Hijmans, R. 2017. WorldClim 2: 1-km spatial resolution climate surfaces for global land areas. *International Journal of Climatology*, 37 (12), 4302-4315.
- Fielding A.H. y Bell, J.F. 1997. A review of methods for assessment of prediction errors in conservation presence/absence models. *Environmental conservation*. 24 (1): 38-49.
- Foley, H. D., Klein, A. T., Kim, C. H., Brown, T., Wilkerson, R. y Rueda, M. L. 2010. Validation of ecological niche models for potential malaria vectors in the Republic of Korea. *Journal of the American Mosquito Control Association*. 26 (2): 210-213.
- García, L., Rivero, M., y Droppelmann, F. 2015. Descripción morfológica y viabilidad del polen de *Nothofagus nervosa* (Nothofagaceae). *Bosque (Valdivia)*, 36(3): 487-496.
- González-Astorga, J., y Núñez-Farfán, J. 2001. Effect of habitat fragmentation on the genetic structure of the narrow endemic *Brongniartia vazquezii*. *Evolutionary Ecology Research*, 3(7): 861-872.
- Gavrilets, S. 2004. *Fitness Landscapes and the Origin of Species*. Princeton, NJ: Princeton Univ. Press. 476 pp.
- Harrisson, R. G. 1998. Linking evolutionary pattern and process. En D.J. Howard y S.H. Berlocher (Eds.). 1998. *Endless Forms: Species and speciation*. Oxford University Press. New York. 19-31.
- Hill, R., y Jordan, G. 1993. The evolutionary history of *Nothofagus* (Nothofagaceae). *Australian Systematic Botany*, 6: 111-126.
- Hu, J.-M., Lavin, M., Wojciechowski, M.F. y Sanderson, M.J., 2000. Phylogenetic systematics of the tribe Millettieae (Leguminosae) based on chloroplast trnK/matK sequences and its implications for evolutionary patterns in the Papilionoideae. *Am. J. Bot.* 87: 418–430.

- _____, J.-M., Lavin, M., Wojciechowski, M.F. y Sanderson, M.J. 2002. Phylogenetic analysis of nuclear ribosomal ITS/5.8S sequences in the Tribe Millettieae.
- Kajita, T., Ohashi, H., Tateishi, Y., Bailey, C.D. y Doyle, J. J., 2001. *rbcl* and legume phylogeny, with particular reference to Phaseoleae, Millettieae, and allies. *Syst. Bot.* 26: 515–536.
- Levan, A., Fredga, K. y Sandberg, A. 1964. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. Institute of genetics. *Hereditas* 52: 201-220.
- Levin, D., A. 1978. The origin of isolating mechanisms in flowering plants. En Hecht MK, Steere WC, Wallace B. (eds) *Evolutionary Biology*. Biología evolutiva, 11: 185-317.
- Liu, C., White, M. y Newell, G. 2013. Selecting thresholds for the prediction of species occurrence with presence-only data. *Journal of Biogeography*, 40: 778-789.
- LPWG. 2013. Legume phylogeny and classification in the 21st century: progress, prospects and lessons for other species rich clades. *Taxon*, 62: 217–248.
- LPWG. 2017. A new subfamily classification of the Leguminosae based on a taxonomically comprehensive phylogeny. *Taxon*. 66.
- Mallet, J. 2008. Hybridization, ecological races and the nature of species: empirical evidence for the ease of speciation. *Philosophical transactions of the royal society*, 363: 2971–2986.
- Manos, P. 1997. Systematics of *Nothofagus* (Nothofagaceae) based on rDNA spacer sequences (ITS): taxonomic congruence with morphology and plastid sequences. *American Journal of Botany*, 84(9): 1137-1155.
- Mayr, E. 1942. Systematics and the origin of species. Columbia Univ. Press, New York.
- _____, E 1963. Animal species and evolution. Harvard Univ. Press.
- _____, E 1992. A local flora and the biological species concept. *American Journal of Botany*, 79: 222-238.
- 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.
- Mora, C., Tittensor, D., Adl, S., Simpson, A. G. B. y worm, B. 2011. How many species are there on earth and in the ocean? *PLoS Biol* 9(8).
- Özbek, M., y Onayli, H. 2020. A new variety of the *Tripleurospermum* (Asteraceae) from Turkey. *Biyolojik Çeşitlilik ve Koruma*, 13(2): 136-143.
- Pearson, R. G., Raxworthy, C. J., Nakamura, M. y Peterson, T. 2007. Predicting species distributions from small numbers of occurrence records: a test case using cryptic geckos in Madagascar. – *J. Biogeogr.* 34: 102– 117.
- Perfectti, F. 2002. Capítulo 18: Especiación: modos y mecanismos. Sistemática y filogenética. 307-321.
- Phillips, S. J., Anderson, R. P., y Schapire, R. E. 2006. Maximum entropy modeling of species geographic distributions. *Ecological Modelling*, 190: 231–259.
- _____, S. J. y Dudík, M. 2008. Modeling of species distributions with Maxent: new extensions and a comprehensive evaluation. *Ecography*. 31: 161-175.
- Polhill, R. M. 1981. Evolution and systematics of the Leguminosae. *Advances in Legume Systematics*, 1: 1-26.
- de Queiroz, L.P., Lewis, G.P. y Wojciechowski, M.F., 2010. *Tabaroa*, a new genus of Leguminosae tribe Brongniartieae from Brazil. *Kew Bull*, 65, 189–203.
- _____, L. P., São-Mateus, W., Delgado-Salinas, A., Torke, B. M., Lewis, G. P., Dorado, Ó., Julie K. Ardley, Martin F. Wojciechowski y Cardoso, D. 2017. A molecular phylogeny reveals the Cuban enigmatic genus *Behaimia* as a new piece in the Brongniartieae puzzle of Papilionoid legumes. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 109, 191-202.
- Ross, J.H. y Crisp, M.D. 2005. Brongniartieae. In: Lewis, G., Schrire, B., Mackinder, B., Lock, M. (Eds.), *Legumes of the World*, Royal Botanic Gardens Kew, Richmond, 252–259.

- Rueda, R. 2006. Atlas Municipal del Estado de Morelos. Morelos, México. 393pp.
- Rzedowski, J. 1978. Vegetación de México. Ed. Limusa. 4a. Reimpresión. México, DF México. 504 pp.
- Brongniartia bicornuta Templeton, A.R. 1982. Genetics architectures of speciation. En C. Barigozzi (Ed.): *Mechanisms of speciation*, 105-121.
- Tinaut, A. y F. Ruano. 2002. Capítulo 17: Biodiversidad, clasificación y filogenia. *Sistemática y filogenética*, 293-306.
- Torres, L., Fuentes-Soriano S. y A. Delgado. 2010. Estudio palinológico del género *Macroptilium* (Benth.) URB. (Leguminosae) en México y Centroamérica. *Acta Botánica Mexicana*, 91: 51-69.
- Vargas-Simón, G., Hernández-Cupil, R., y Moguel-Ordoñez, E. 2011. Caracterización morfológica de ciruela (*Spondias purpurea* L.) en tres municipios del estado de Tabasco, México. *Bioagro*, 23: 141-149.
- Weiss, M.R. 1995. Floral Color Change: A Widespread Functional Convergence. *American Journal of Botany*, 82(2), 167-185.
- White, R. H., Stevenson, R. D., Bennet, R. R. y Cutler, D. E. 1994. Wavelength discrimination and the role of ultraviolet vision in the feeding behavior of hawkmoths. *Biotropica*, 26(4):427-435.
- Wiley, E.O. 1981. Phylogenetics. The theory and practice of phylogenetic systematics.

Anexo 1

Lista de las especies incluidas en el Grupo Podalyrioides del género *Brongniartia* (Fabaceae: Faboideae). Dos de las especies se han enviado a publicación y se encuentran en revisión. Quizá habrá en el futuro un par de especies adicionales.

- 1.- *B. abbottiae* I. M. Johnst.
- 2.- *B. alamosana* Rydb.
- 3.- *B. alvarezii* R. Cruz-Durán, R. Bustamante & Dorado (en revisión)
- 4.- *B. argyrophylla* McVaugh
- 5.- *B. bicornuta* Dorado, D.M. Arias & Jesús-Almonte
- 6.- *B. canescens* (S. Watson) Rydb.
- 7.- *B. funiculata* L.B. Sm. & B.G. Schub.
- 8.- *B. herbacea* R. Grether & Rzed.
- 9.- *B. inconstans* S. Watson
- 10.- *B. lunata* Rose
- 11.- *B. minutifolia* S. Watson
- 12.- *B. mollicula* Brandege
- 13.- *B. montalvoana* Dorado & D. M. Arias
- 14.- *B. mortonii* McVaugh
- 15.- *B. norrisii* McVaugh
- 16.- *B. papyracea* Dorado & D.M. Arias
- 17.- *B. podalyrioides* Kunth
 - subsp. *podalyrioides*
 - subsp. *galegoides* (C. Presl) Dorado (ined)
 - subsp. *nudiflora* (S. Watson) Dorado (ined)
- 18.- *B. riesebergii* Dorado
- 19.- *B. tenuifolia* Standl.
- 20.- *B. variabilis* Dorado, R. Cruz-Durán & R. Bustamante (en revisión)
- 21.- *B. vazquezii* Dorado
- 22.- *B. yahualica* Dorado & D. M. Arias
- 23.- *B. zirandarensis* Dorado, J. Bonilla & A. Burgos

Anexo 2

Propuesta inicial del artículo para proponer la variedad *Brongniartia vazquezii alba*.

White flowers in *Brongniartia* (Faboideae: Fabaceae), an evolutionary novelty for the genus represents a new variety in *B. vazquezii*

Alexis Florentino¹
Óscar Dorado¹
José M. de Jesús-Almonte¹
Dulce M. Arias¹
Luc Legal²

¹Centro de Educación Ambiental e Investigación Sierra de Huautla
Universidad Autónoma del Estado de Morelos
Avenida Universidad # 1001, Col. Chamilpa
Cuernavaca, Morelos, México 62210. odorado@uaem.mx

²Laboratoire d'Ecologie Fonctionnelle (EcoLab), UMR 5245,
Université Paul Sabatier, Toulouse, France.

Abstract. The first record of white flowers on the genus *Brongniartia* was found on *B. vazquezii*, a microendemic species found on the biosphere reserve Sierra de Huautla from the state of Morelos, México. Individuals with that evolutionary novelty are described and illustrated as a new variety. The contrasting white color of its flowers clearly separates the two sympatric varieties. In addition, the reduced number of individuals of *B. vazquezii* var. *alba* supports the category as a severe endangered taxon.

Resumen. El primer reporte de flores blancas en el género *Brongniartia* se encontró en *B. vazquezii*, microendémica de la reserva de la biosfera Sierra de Huautla en el estado de Morelos, México. Los individuos con esta novedad evolutiva se describen y se ilustran como una nueva variedad. El color blanco de las flores separa claramente a estas dos variedades simpátricas. Asimismo, el número reducido de individuos de *B. vazquezii* var. *alba* fundamentan la categoría como una taxon en grave peligro de extinción.

Key words: *Brongniartia*, Fabaceae, tropical dry forest, estado de Morelos, México

Introduction

The genus *Brongniartia* Kunth (Fabaceae, Faboideae) is nearly endemic to Mexico and includes typically shrubs or a species with of small trees with showy flowers, with a quite variety of colors (Dorado & Arias, 2015), mostly maroon to brick red, although pink, lavender, blue, purple, lavender and yellow (fig. 1) are also present in some species (Dorado & Arias 2015). It is important to mention that white color had never been found in any of the species of the genus. For the last two decades we have been undertaking a very intense program of explorations on the low deciduous forest of Morelos, especially on the biosphere ecological reserve of Sierra de Huautla (REBIOSH) and with a focus on Fabaceae. Two species of *Brongniartia* were described from the area: *B. montalvoana* (Dorado & D. M. Arias, 1992) distributed on a broader region, the Balsas River Basin (with Tropical Dry Forest (TDF), according with to Rzedowski, 1978, or Seasonally Dry Tropical Forests and woodlands (DRYFLOR, 2016) and *B. vazquezii* (Dorado, 1987), endemic to the state of Morelos. This later species is bluish purple flowers shrub. microendemic to the REBIOSH. Numerous collections

have been made since it was described as a new species, especially after the region was decreed as an state ecological protected area 1993 and later on as a biosphere reserve in 1999. However, we recently found some individuals, mixed with within the typical bluish purple (sometimes lilac) flowered *B. vazquezii*, individuals with a very distinctive white color of flower, never found in any of the ca. 65 species of the genus (Dorado & Arias, 2015). Here they are considered to represent an undescribed variety of *B. vazquezii*.

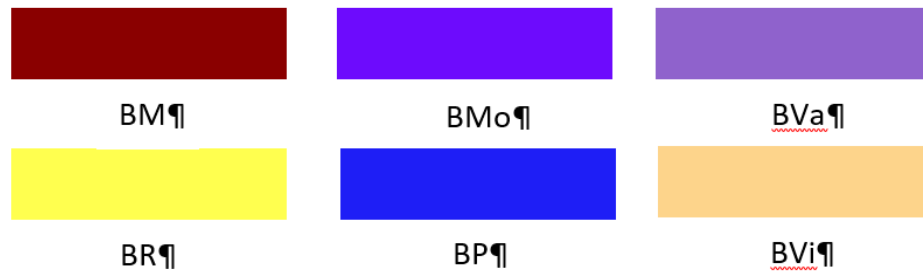


Fig. 1. Main types of color of the petals of flowers of *Brongniartia*. BM= *B. montalvoana* Dorado & D.M. Arias, BMo= *B. mortonii* McVaugh, BVa= *B. vazquezii*, BR= *B. rieserbergii*, BP= *B. papyracea* Dorado, BVi= *B. vicioides* M. Martens & Galeotti

TAXONOMY

Brongniartia vazquezii var. *alba* Dorado, de Jesús-Almonte & Florentino, **var. nov.** (fig. 1).—TYPE: Mexico, Morelos, Mpio. Tlaquiltenango, Morelos, 1.9 Km al sureste del poblado de La Era, camino de terracería La Era-San Miguel los Elotes, 60 m al norte de la carrera, cercano a los cables de electricidad, en la zona de curvas, 18° 41' 39.4"N, 99° 14' 59.3"W, 1037 m, 19 Ago 2014, O. Dorado 9299, J.M. de Jesús Almonte, Gerardo Cuevas & José L. Domínguez (holotype: MEXU: isotype HUMO, MO).—PARATYPES: México, Morelos, Mpio. Tlaquiltenango, Morelos, 1.9 Km al sureste del poblado de La Era, camino de terracería La Era-San Miguel los Elotes, 60 m al norte de la carrera, cercano a los cables de electricidad, en la zona de curvas, 18° 41' 39.4"N, 99° 14' 59.3"W, 1037 m, 9 Sep 2015, O. Dorado 9460, J.M. de Jesús Almonte, L. Legal & G. Cuevas (MEXU, HUMO, MO).

Brongniartia vazquezii var. *alba* is distinguished from *B. vazquezii* typical by its white petals (standard, wings, and keel), slightly smaller flower petals, light brown seeds, and the subproluted pollen grains and the absent margo.

Small shrub to 1.5 m tall, bark grayish, the younger branches greenish gray and strigulose to glabrate at maturity, the three-celled non-glandular trichomes 0.1-0.2 mm long. Stipules (2.5)3-7 mm long, 2-3 mm wide, foliaceous, hemicordate, the apical lobe acute, the basal lobe rounded, sparsely strigulose to glabrate at maturity, pale green, with dark green venation conspicuous abaxially, sometimes deciduous before leaves. Leaves 3.8-5 cm long, with (13)17-31 leaflets; petiole 3-6 mm long, terete, strigulose, glabrate at maturity; petiolule 0.2-0.3 mm long, yellowish green; leaflets (3.0)4.0-6.6 mm long, 1.3-3 mm wide base acute or rounded, elliptic or oblanceolate, sparsely strigulose to glabrate at maturity, pale green, apex

rounded to acute and mucronate; venation brochidodromous, veins commonly darker than surrounding lamina and especially conspicuous on abaxial surface, secondary veins 4-5, with acute angle of divergence, the upper secondary veins more obtuse than the lower, highest vein order tertiary. Flowers solitary or paired on axillary peduncles; peduncle 1.0-1.4 cm long, slender, ascending; bracteole 0.5 mm long, 0.1 mm wide, linear, often deciduous before anthesis; calyx 6-7 mm long (incl. base), campanulate, glabrous externally, pubescent internally, lobes 3.5-4.2 mm long, upper two lobes united approximately Y. of their length, lanceolate, apices acute; petals pink to lilac (in dry flowers); standard (incl. claw) 10-11 mm long, 10-10.5 mm wide, orbicular, the claw 1.5 mm long; wing petals (incl. claw) 9-10 mm long, 3.5-4 mm wide, elliptic, rounded at apex, the claw 1 mm long, with a subequal auricula at a 45° angle; keel petals (incl. claw) 10.5-11 mm long, 4.5-5 mm wide, semilunate, united slightly below the middle, the claw 1.7-1.8 mm long, auricula forming a right angle with the claw; androecium 10-11 mm long, strongly incurved within keel, vexillar free filament 8-9 mm long; ovary 3.6-3.7 mm long, glabrous, style 6.5 mm long. Fruits (only immature fruits seen) 2.2-2.5 cm long, 9.5-11 mm wide, oblong-obovate to lunate, glabrous, apex rounded and with mucro to 3.5 mm long, seeds 2-3. Seeds 6-7 mm long, 5-6.5 mm wide, 3-3.4 mm thick, elliptical to circular, olive green to chestnut brown, mottled with black.

Distribution. Known only from the vicinity of the type locality The Seasonally Dry Tropical Forests and woodlands (SDTFW, sensu DRYFLOR 2016) an elevation of 1037 m. The dominant species of trees and shrubs are: *Alvaradoa amorphoides* Liebm., *Lysiloma divaricatum*, *L. tergeminum*, *Bursera lancifolia*, *Jathropha morelensis*, *Ceiba aescilifolia* (Kunth) Britton & Baker, *Amphipterygium adstringens* (Sch Id I.) Schiede ex Standley and *Neobuxbaumia mexacalaensis*.

In the original description Dorado (1987) considered that *Brongniartia vazquezii* is most similar to *B. abbotiae* I. M. Johnston, another microendemic species (only known from the type locality and one additional collection) to the vicinity of Taxco, Guerrero. Both species have small hemicordate stipules, small leaves, leaflets, and flowers, and fruits with few seeds. Besides form several morphological differences between both species there is a striking difference in habitat: *B. vazquezii* is found in TDF at 900-950 m above sea level, whereas *B. abbotiae* occurs in oak ever-green forest (according to Miranda and Hernández X. 1963) at 1700 m. However, a recently described new species, *Brongniartia bicornuta*, Dorado, D.M. Arias & de Jesús-Almonte, also found in TDF, was considered as to be a closer relative to *B. vazquezii*.

When *B. vazquezii* was published as a new species, the color of the flowers was basically unknown since the tonality of the flowers often changes during the drying process of the herbarium specimens; at that time flowers were described as “petals pink to lilac (in dry flowers)”. Fortunately, several collections have been made since and now we know they are bluish purple sometimes lilac. As mentioned before, the white color of the flowers is not present in any of the species of the genus; and there is no doubt that populations of *B. vazquezii* in the wild are either bluish purple (sometimes lilac) or white; there are no individuals with intermediate tonalities.

It is difficult to determinate the direction change of this trait in this species (Weiss, 1995). Based on the unique event it is possible that the white color is not ancestral; the most parsimonious explanation is that it represents a derived state caused by a mutational event. The evolutionary ecological future of the change depends on whether that trait is advantageous, disadvantageous, or neutral (Hopkins, et al., 2011; Wessinger and Rausher,

2012). On the other hand, observations of visitors to the flowers of both varieties do not have a differential type of species. The most common species is *Pyrisitia dina*, a butterfly with yellow wings that belongs to the family Pieridae (subfamily Coliadinae). We collected the butterfly larvi that feeds on the plant and waiting for the adult to emerge, but we know that it belongs to the family Notodontidae, probably from the genus *Symmerista* o *Gluphisia*.

Conservation status. As mentioned before, we have been undertaking a very intense and detailed floristic inventory of the legumes of the REBIOSH. Apart from the unique color of flower of *B. vazquezii* var. *alba* there is a story related to this conservation of this shrub. First of all, only 11 individuals were found in nature intermixed with individual of the typical *B. vazquezii*. Additionally, that specific spot where this new variety grows covers only about 300 m²; local people had decided to deforest a big portion of that side of the hill to grow corn. Fortunately, the authors of this paper convinced the owners to search for a different use of the land, particularly the establishment of ecotourism. At present, the area has been surrounded by barbed-wire fence and seems to be safe for the moment. We are working on the development of a program for the conservation of the plant, with the intention of protecting the biodiversity of the general zone.

Phenology. *Brongniartia vazquezii* var. *alba* flowers, as well as the typical variety, from July to October and fruits form September to November.

Etymology. The varietal epithet of *Brongniartia vazquezii* var. *alba* is related to the white color of the flowers, unique not only of this taxon but for the genus as a whole.

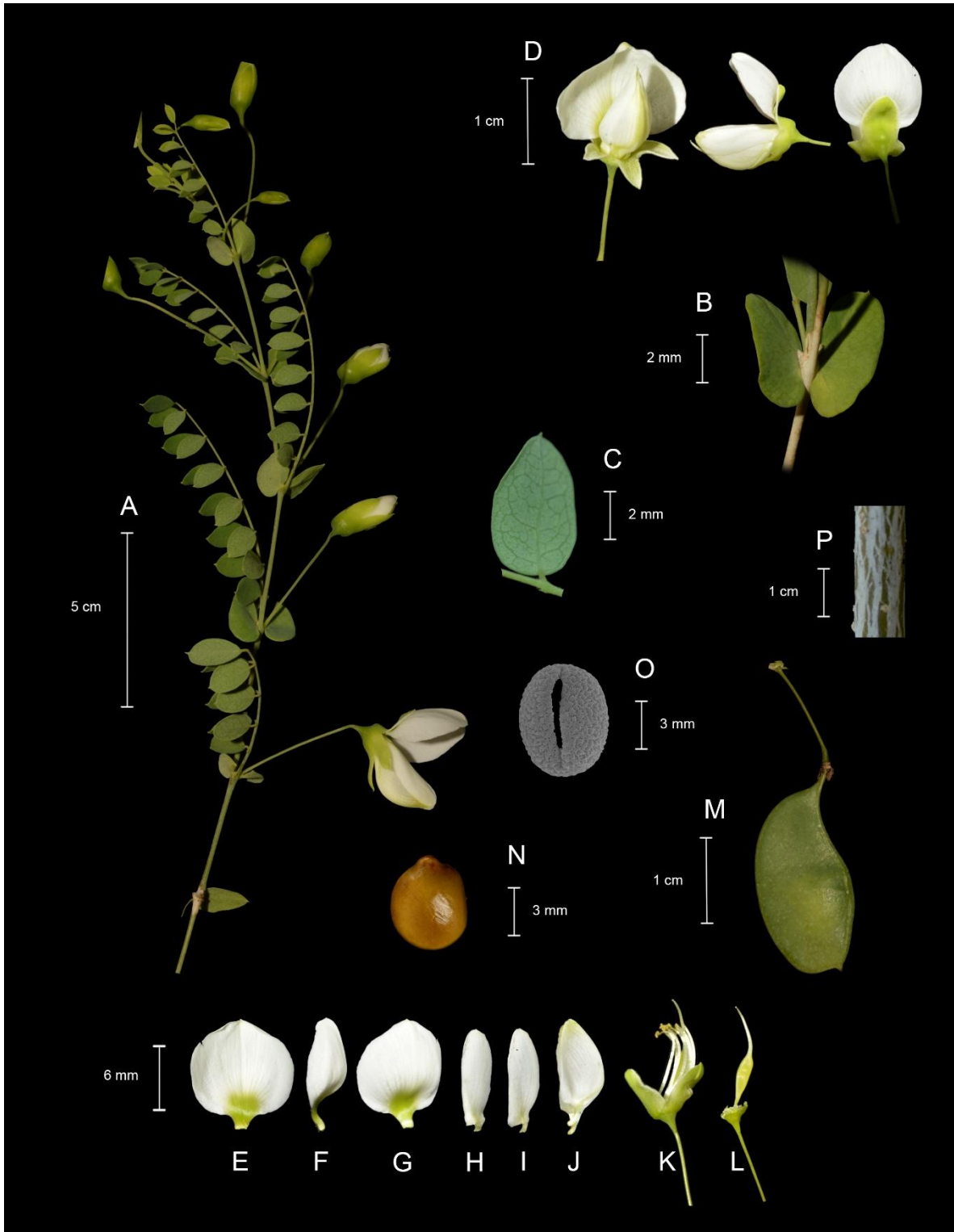


Fig. 2. *Brongniartia vazquezii* var. *alba* Dorado, de Jesús-Almonte & Florentino, (from O. Dorado 9460, J.M. de Jesús Almonte, D.M. Arias, L. Legal & G. Cuevas). a. Habit. b. Leaf, & Kunst view, and detail of tertiary venation (drawn from clearing). c. Flower. d. Flower, corolla removed. e. Banner. f. Wing, g. Keel. Scale = 10 mm in a; 2 mm in b; 5 mm in c-g.

ACKNOWLEDGMENTS. We are grateful to Alfonso Delgado, Scott Zona, and Rafael Torres for reviewing the manuscript. Lourdes Rico also reviewed the manuscript and helped us with integral manuscript. We also thank Gerardo Cuevas for his invaluable support for the elaboration of the lamina for the description for figure and participated on the explorations of the two varieties of *B. vazquezii*. Daniela Gutierrez helped us with the feeding the butterfly and eventual identification. We also thank Don Virginio Suárez and his son Axel Suárez for their continuous efforts to conserve the area were *B. vazquezii* var. *alba* grows.

Literature cited

- Becerra, J. X. and D. L. Venable. 2008. Sources and sinks of diversification and conservation priorities for the Mexican tropical dry forest. *PLoS ONE* 3: 1–5.
- Dorado, O. 1987. *Brongniartia sousae* (Fabaceae: Faboideae), a new species from the Isthmus of Tehuantepec, Oaxaca, Mexico. *Aliso* 11: 631–634.
- _____. 1989a. *Brongniartia vazquezii* (Fabaceae: Faboideae), a new species from the state of Morelos, Mexico. *Syst. Bot.* 14: 20–23.
- _____. 1989b. A morphological revision of the podalyrioides group of *Brongniartia* (Fabaceae: Faboideae). Master of Arts dissertation. Claremont Graduate School. Claremont, USA. 316 pp.
- _____. & D. Arias. 1992. *Brongniartia montalvoana*, una especie nueva de la Cuenca del Río Balsas. *Acta Botánica Mexicana* 17: 13-17.
- _____. & _____. 2006. *Brongniartia papyracea* (Fabaceae: Faboideae): A new species from the tropical deciduous forest of southern Jalisco and southwestern Michoacán, México. *Novon* 58: 357-361.
- _____. & _____. 2015. *Brongniartia yahualica* (Fabaceae, Faboideae), a new and unusual species from Jalisco, Mexico. *Novon* 24: 236-239.
- _____. J. Bonilla & A. Burgos. 1992. A new species of *Brongniartia* (Fabaceae: Faboideae), from the state of Guerrero, México. *Novon* 2: 330-332.
- _____. & L. Torres-Colín. 1996. *Brongniartia guiengolensis* (Fabaceae: Faboideae): A new arboreal species from the state of Oaxaca, Mexico. *Novon* 6: 9-12.
- DRYFLOR. 2016. Plant diversity patterns in neotropical dry forests and their conservation implications. *Science* 353: 1383-1387.
- Hopkins, R., Donald A. Levin, and Mark D. Rausher. 2011. Molecular signatures of evolution on reproductive character displacement of flower color in *Phlox drummondii*. *The Society for the Study of Evolution*. 66-2: 469–485.
- Jiménez, J. & J. L. Contreras. 1987. Una especie nueva de *Brongniartia* del estado de Guerrero. *Anales Inst. Biol. Univ. Nac. Auton. Mexico, Ser. Bot.* 58: 63-68.
- _____. K. Vega & R. Cruz. 2009. *Brongniartia balsensis* (Leguminosae, Papilionoideae), una especie nueva de la depresión del Río Balsas, México. *Novon* 9: 360--363.
- Rzedowski, J. 1978. *Vegetación de México*. Ed. Limusa, México.
- Wessinger, C.A. and Mark D. Rausher. 2012. Lessons from flower color evolution on targets of selection. *Journal of Experimental Botany*. 63(16): 5741-5749.
- Weiss, M.R. 1995. Floral Color Change: A Widespread Functional Convergence. *American Journal of Botany* 82(2): 167-185

Marker	Bvv (LxA)	Bva (LxA)
Stipules	(1)3-8(6)x2-4	(2.6)2.8-7(8)x (1)1.5-4(4.2)
Leaves	(1.8)2.3-6(7.8)	(1)2.1-8.5(9.4)
# Lealets	(7)11-41	9-35(43)
Petiole	1.5-6.8	2.6-7.6
Petiolule	0.7-1(1.4)	0.6-0.9
Peduncule	(.7)1.3-2.3	1-2.59
Calyx	6-9	6.9-8.3
Color of petals	<u>morados*</u>	<u>blancos*</u>
Lobes	3.6-6.6	3.3-5.4
United	1/6	1/5
Standard	9.-12.5 x 10.89-12.7	10.2-12.4 x 11.2-13
Claw Stand.	1.2-2.1	1.1-2.3
Wings	9.2-12.2x 3.5-4.1	9.3-11.6x2.7-3.9
Claw Wings	1.1-1.4	1.2-1.8
Keel	9.4-11.5x4.2-4.9	9.4-10.6x4.1-4.8
Claw keel	1.4-2.2	1.6-2.1
Androecium	8.3-10.8	8.3-9.5
Vex. Free fil.	8-9	6.6-9
Ovary	3.5-6.8	4.9-5.8
Estyle	5.4-6	4.4-5.9
Seeds	5.5-7 x 4-5.7 x 1.6-3.2	6.2-7x4-5.5x2.4-2.8
Color of seeds	<u>café moteado*</u>	<u>café liso*</u>

Cuernavaca, Morelos a 14 de febrero de 2022.

DRA. DULCE MARÍA ARIAS ATAIDE
DIRECTORA GENERAL DE SERVICIOS ESCOLARES
P R E S E N T E.

Por este conducto, los catedráticos suscritos comunicamos a Usted, que hemos revisado el documento que presenta el Pasante de Biólogo: **ALEXIS ENRIQUE FLORENTINO LÓPEZ**, con el título del trabajo: **¿Especiación simpátrica en *Brongniartia vazquezii* (Faboideae: Fabaceae)?**.

En calidad de miembros de la comisión revisora, consideramos que el trabajo reúne los requisitos para contar con el **voto aprobatorio** para que pueda optar por la Modalidad de **Titulación por Tesis** como lo marca el artículo 4° del Reglamento de Titulación Profesional vigente de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos.

A T E N T A M E N T E
Por una humanidad culta

JURADO REVISOR

FIRMA

PRESIDENTE: DRA. DULCE MARÍA ARIAS ATAIDE

SECRETARIO: DRA. ALEJANDRA VÁZQUEZ LOBO YURÉN

VOCAL: DR. ÓSCAR ROBERTO DORADO RAMÍREZ

SUPLENTE: DRA. ROSA CERROS TLATILPA

SUPLENTE: M. EN M. R. N. ESAÚ LEYVA SÁNCHEZ



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

Sello electrónico

ROSA CERROS TLATILPA | Fecha:2022-02-14 12:38:55 | Firmante

qTCxjpiB4u2lazYjX9rJpjkB6EfwMPK/apDi69KnWHTVucJLmkp/GS4c9d0vVKFgEliza1Jsw4dfW6U0b0D33a8bR3KUhIngsKsdSdgcEdPhOz/rjKri9oB1stQdUaibADyyBOTudrbKDV
M/T+iqhC+GSSHMbQ2Q7YOPV510YL6NXTqCM4s7x9THBosclifMyVz6BgXwmhFRU+5cHUPb7NaHudZYYpjsUnh3T5dxcznWgtbdsDiCuff03qO+hTe28aJ8YLIi2/wBDYmM9
HFHHnmaYRn+IqCs0piP7oNp2RzJNoMZT+I/M/ofIT11RTTeJ60GDv74HBFiKBiHvQ==

ESAU LEYVA SANCHEZ | Fecha:2022-02-14 13:03:09 | Firmante

UnaXdKLVDzI0GP31gko0EPIpb2NQNk4Y1RdpT/DG1QZtvj3vEHIFQHsrS8aXPHFied5ttbjGbfY7CIEI2j7EOFF7GeTKetMDj+qo4hqVLTk1WraZPDU/M2LikEkEXMhZjibwUi/ZF/
1ex3TilhUSjBLBEFGsvZSiOHrsLwt1u35Qz1BcUglibQKF86oYtOqQ2f3bzNvXgA7kkP7NI4ioBn7KN9/kPkoO+fiJShsoNuJvTo0eyxzBkP4Uzhk0C8ScIq6JcR7qlr38pG4qxlgPYKs
UwuxllwLeJU/m1RWxzkS5bdl3XoJJ4O+YiP9xM4gcb5jy6LRiSDv1bkMzA==

DULCE MARIA ARIAS ATAIDE | Fecha:2022-02-14 15:25:07 | Firmante

kI9K5lyrj+pMl1v6u77Bx6y/tK4UvVbPfc2yVIU+rF5vZtGeE4jfrKYX56bgokPzITdBD4/vNF4IsT9jdm+TBAKcnlf6CLAGz7ax1jnwpl1cQFpC+PweUeZaolW23QW6Et65bKpitlocvlbx
xv5wROBBhTC2ol2wjfxP+jZIKkzYudNlf/K1TkdXozPPmZfe72nLaXG86EUIODJ1Z8L8hMGMbjd78EAZqiWA5tiEyiVz2ITUORZgi9xccc8I3ezTAdSDF4/RPX1AIE2oNqhufZaqCZX
D7VnW46Aom3+pVK3K9TQBIX0ms2s6Cfoy+KH0y2XIPik5LXNeAnYrItg==

OSCAR ROBERTO DORADO RAMIREZ | Fecha:2022-02-16 13:06:15 | Firmante

LyE5ct0mlev+O3BIMT7govzmN6LB1ITybgvYjliAoOL2Ok8i2CaQt7I5jFuhTnLNoUDPIWcaGBkpQKdyqvQYnCW7TWcnpY7FqQTdfckM0ZDhvZ7IZVgqSjc+mz1TXFXyetaK+pC
QHYSUwTjUY4S7byrdONNF05vz3H+cB45kQj3aDB9nRovNn8PLT0wmfplneYV0mm0lakz2j+R28rPij954Z6WWvlf8U8kiAflBrNvNOg6w+nhsG5U7vcvQ+vFe1gWW9fDoAxCV0sf
VM7Za8dufUAdj3xDipZlqrxVZH+8Lef+W8Y2dX+B1IF1LmSATNOq7BljyByzUYWuE5g==

ALEJANDRA VAZQUEZ LOBO YUREN | Fecha:2022-02-21 07:53:09 | Firmante

ly10Ysk4ZdGPjFB7BzY/S43HolpJzJTKCyah2fUftzLycDSZxviiZvY3e/iQzQNAYSTjrwJH+nQnB2YEw2Wlco0HAMxfyHVOG5qbitQnB8Xzjp0kZGsEih7H7+99YQBKQuCUDrI0zb
og+a1L/QiGVclY+pOIZGGPT7W61oVLTiRwOobA9ahAJ5ibGp+Z4NKobcfEhYHoxRNWbt43z71ERrzZYH6kwTGLXhhMimbxt8d8pY6smFe+3B5WgdGR8VA0+IRjuf/gE0PqaR0I
Qks2Wo5OX3itaXMLvJrzaqLNRgvaElg9boorLJJa7pAlxub45s7Dy86s9khggUu5oPyQ==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o
escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



S7Cd3QkAB

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/ccpmdTJxwA6SzBlv8leFjkSaaKwfhkX>

