

**Centro de Investigación Científica y de Educación
Superior de Ensenada, Baja California**



**Maestría en Ciencias
en Ciencias de la Vida
con orientación en Biología Ambiental**

**Evaluación del flujo genético de *Yucca valida*
(Asparagaceae) en diferentes escalas espaciales**

Tesis
para cubrir parcialmente los requisitos necesarios para obtener el grado de
Maestra en Ciencias

Presenta:

Cynthia Rocío Alamo Herrera

Ensenada, Baja California, México
2019

Tesis defendida por

Cynthia Rocío Alamo Herrera

y aprobada por el siguiente Comité

Dra. María Clara Arteaga Uribe
Directora de tesis

Dra. Fabiola Lafarga de la Cruz

Dra. Fadia Sara Ceccarelli

Dr. Luis Fernando Rosas Pacheco



Dra. Patricia Juárez Camacho
Coordinadora del Posgrado en Ciencias de la Vida

Dra. Rufina Hernández Martínez
Directora de Estudios de Posgrado

Cynthia Rocío Alamo Herrera © 2019

Queda prohibida la reproducción parcial o total de esta obra sin el permiso formal y explícito del autor y director de la tesis.

Resumen de la tesis que presenta **Cynthia Rocío Alamo Herrera** como requisito parcial para la obtención del grado de Maestra en Ciencias en Ciencias de la Vida con orientación en Biología Ambiental.

Evaluación del flujo genético de *Yucca valida* (Asparagaceae) en diferentes escalas espaciales

Resumen aprobado por:

Dra. María Clara Arteaga Uribe

Directora de tesis

La especie *Yucca valida* es una planta endémica de amplia distribución geográfica de la península de Baja California. Al igual que otras especies de *Yucca* su reproducción depende exclusivamente de la actividad de su polilla polinizadora *Tegeticula baja*. Estudios previos sobre el comportamiento de las polillas del género *Tegeticula* sugieren que la dispersión de polen mediada por ellas es relativamente limitada y como consecuencia, se esperan altos niveles de estructuración genética entre las poblaciones de *Yucca*. Con el fin de evaluar el flujo genético en dos escalas espaciales, se determinaron los niveles de variabilidad y diferenciación genética a lo largo de la distribución de *Yucca valida*. Se obtuvieron estimados del número efectivo de donadores de polen (N_{ep}) y distancia de dispersión (δ), así como índices de autocorrelación genética. A través de la amplificación de siete loci microsatélites en 100 individuos de 10 localidades, se encontraron altos niveles de diversidad genética (119 alelos, $H_e=0.69$) y un coeficiente significativo de endogamia ($F_{is}=0.2$). En una escala espacial amplia ($>100\text{km}$), se obtuvieron bajos niveles de diferenciación genética entre las poblaciones de *Y. valida* ($F_{st}=0.059$) así como un patrón significativo de aislamiento por distancia (Prueba de mantel: $r=0.45$, $p=0.02$). A escala espacial menor ($<500\text{m}$), se observó que los individuos presentan genotipos más relacionados entre sí a distancias menores a 150 metros. Utilizando los genotipos de la progenie de 10 plantas (20 plántulas por planta madre, total $n=200$) se estimó una distancia de dispersión de polen de 40 metros y N_{ep} de 2.8 individuos. Los resultados de este estudio indican que el flujo genético en *Y. valida* ocurre a distancias cortas, ocasionando aislamiento por distancia entre individuos y entre localidades. A su vez, los resultados sugieren que la reproducción se da mayormente entre individuos genéticamente similares lo cual resultaría en niveles relativamente altos de endogamia dentro de la especie.

Palabras clave: *Yucca valida*, flujo genético, diversidad genética, TwoGener, Autocorrelación genética.

Abstract of the thesis presented by **Cynthia Rocío Alamo Herrera** as a partial requirement to obtain the Master of Science degree in Life Sciences with orientation in Environmental Biology.

Genetic flow assessment of *Yucca valida* (Asparagaceae) on different spatial scales

Abstract approved by:

Dra. María Clara Arteaga Uribe
Thesis Director

The species *Yucca valida* is an endemic plant of wide geographic distribution of the peninsula of Baja California. Like other species of *Yucca*, its reproduction depends exclusively on the activity of its pollinator moth *Tegeticula baja*. Previous studies on the behavior of moths of the genus *Tegeticula* suggest that the dispersal of pollen mediated by these moths is relatively limited and as a result, high levels of genetic structuring among *Yucca* populations are expected. In order to evaluate the genetic flow on two spatial scales, the levels of differentiation and genetic variability along the *Y. valida* distribution were determined. Estimates of pollen donors (*Nep*) and dispersal distance (δ) were obtained, as well as indexes of genetic autocorrelation. Through the amplification of seven microsatellite loci in 100 individuals from 10 locations, high levels of genetic diversity (119 alleles, $H_e = 0.69$) and a significant inbreeding coefficient ($F_{is}=0.2$) were found. On a wide spatial scale ($>100\text{km}$), low levels of genetic differentiation were obtained between the populations of *Y. valida* ($F_{st}=0.059$) as well as a significant pattern of isolation by distance (Mantel test: $r = 0.45$, $p = 0.02$). On a smaller spatial scale ($<500\text{m}$), individuals present genotypes more similar to each other at distances less than 150 meters. Using the genotypes of the progeny of 10 plants (20 seedlings per mother plant, total $n = 200$), a distance of pollen dispersal of 40 meters and a *Nep* of 2.8 individuals were estimated. The results of this study indicate that *Y. valida* genetic flow occurs over short distances, causing isolation by distance between individuals and between locations. In turn, the results suggest that reproduction occurs mostly among genetically similar individuals, increasing inbreeding levels within the species.

Keywords: *Yucca valida*, gene flow, genetic diversity, TwoGener, Genetic autocorrelation.

Dedicatoria

A Maria Clara Arteaga

Por el cariño brindado en estos años,
por mostrarme lo que es amor y pasión a la ciencia,
por permitirme crecer personal y académicamente bajo su tutela,
ha sido una gran experiencia de vida. Gracias infinitas.

A mis padres

Por confiar en todo lo que hago,
por siempre haber velado por mi educación,
gracias a su esfuerzo y amor soy todo lo que soy.

A Dios

Por acompañarme,
en la soledad, el cansancio y las dificultades.

Agradecimientos

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por el financiamiento otorgado al proyecto: Diversidad genética y variación fenotípica de las *Yuccas* (Agavaceae) de la península de Baja California (CB-2014-01-238843) y del cual se desprende el presente trabajo de tesis. Así como por el apoyo económico otorgado a mi persona (CVU: 846897), el cual me permitió realizar mis estudios de posgrado.

Al Centro de Investigación Científica y de Estudios Superiores de Ensenada (CICESE) y al posgrado en Ciencias de la Vida por el apoyo económico proporcionado para la asistencia al VII Congreso Mexicano de Ecología, así como por el apoyo económico que me permitió terminar el trabajo escrito de tesis.

Al departamento de Biología de la Conservación, que me permitió un espacio donde desarrollar tanto el trabajo de laboratorio, como el trabajo escrito del proyecto de tesis. A todos los miembros de este departamento por formar parte de mi desarrollo académico y profesional.

Al laboratorio de Genética Ecológica y Evolución (UABC), a cargo del Dr. Rafael Bello Bedoy. Por permitirme usar sus instalaciones (cámara de crecimiento e invernadero) para elaborar parte de mi trabajo de tesis.

A mi directora de tesis la Dra. Maria Clara Arteaga Uribe, por todas las enseñanzas recibidas durante estos años. Por permitirme ser parte de su proyecto de investigación y por brindarme la confianza para realizar este y otros trabajos bajo su dirección. Por mostrarme que el trabajo de investigación es duro y demandante, pero a su vez es muy bello y gratificante. Por ser un gran modelo a seguir y sobre todo por toda la calidez humana que me brindó.

A mis sinodales, Dra. Fabiola Lafarga, Dra. Sara Ceccarelli y Dr. Fernando Rosas. Gracias por todos los comentarios brindados durante nuestras reuniones que permitieron enriquecer este trabajo. Así como por el tiempo dedicado a la revisión del trabajo escrito.

Al Biól. Mario Salazar, Oc. Eulogio López, Dr. Rafael Bello, Dr. Jaime Gasca, Dr. Fernando Rosas y al Biol. Alberto López, por su invaluable ayuda y compañía en el trabajo en campo.

A los miembros del laboratorio de Genética de la Conservación. A Lita Castañeda, porque este proyecto no hubiera podido finalizarse en tiempo sin su invaluable ayuda y dedicación en el trabajo de laboratorio. A Leonardo De la Rosa, Astrid Luna, Alberto López y Nicole Sicaeros, por la ayuda brindada en el trabajo de laboratorio e invernadero. Gracias por la amistad y la compañía.

A mi familia por ser siempre fuente inagotable de inspiración.

A mis amigas, Anaid, Astrid, Conchis, Yoli, Ketzali y Cielo, por ser luz en los días difíciles.

A Carlo, por todo el amor.

Tabla de contenido

	Página
Resumen en español.....	ii
Resumen en inglés.....	iii
Dedicatorias.....	iv
Agradecimientos.....	v
Lista de figuras.....	viii
Lista de tablas.....	ix
Capítulo 1. Introducción	
1.1 Antecedentes.....	3
1.1.1 Especie de estudio: <i>Yucca valida</i>	3
1.1.2 Estimaciones de flujo genético entre poblaciones.....	5
1.1.3 Relación entre el grado de parentesco y la distancia geográfica entre plantas.....	5
1.1.4 Estimaciones del movimiento de polen y donadores de polen.....	6
1.2 Hipótesis.....	7
1.3 Objetivos.....	8
1.3.1 Objetivo general	8
1.3.2 Objetivos específico.....	8
Capítulo 2. Metodología	
2.1 Área de estudio.....	9
2.2 Germinación de semillas.....	12
2.3 Extracción de ADN genómico.....	12
2.4 Amplificación de marcadores moleculares.....	12
2.5 Análisis de datos de individuos adultos.....	13
2.5.1 Análisis de diversidad genética.....	13
2.5.2 Estructura poblacional y aislamiento por distancia.....	14
2.5.3 Autocorrelación genética espacial.....	15
2.6 Análisis de datos de la progenie (plántulas).....	16
2.6.1 Donadores de polen y distancia de dispersión.....	16

Capítulo 3. Resultados	
3.1 Evaluación de la diversidad genética.....	18
3.2 Estructura poblacional y aislamiento por distancia.....	20
3.3 Autocorrelación genética espacial.....	23
3.4 Número de donadores de polen y distancia de dispersión.....	24
Capítulo 4. Discusión.....	25
4.1 Temas a investigar.....	30
Capítulo 5. Conclusiones.....	32
Literatura citada.....	33
Anexos.....	41

Lista de figuras

Figura		Página
1	Paisaje en el Desierto del Vizcaíno (Foto: A. Alemán).....	4
2	Ubicación de las localidades de muestreo. Las estrellas en negro muestran las localidades utilizadas para el análisis TwoGener.....	9
3	Localidades y distribución espacial de plantas maternas utilizadas para el análisis TwoGener. Se indican, los individuos con evidencia reproductiva (R) y los individuos con reproducción reciente (RR).....	11
4	Distribución norte, centro y sur de las localidades de <i>Y. valida</i> evaluadas.....	15
5	Frecuencia de alelos nulos por localidad en <i>Yucca valida</i> . Cada barra representa un locus.....	18
6	Gráficos de los primeros dos componentes del ACP A) ACP utilizando todos los individuos del estudio. Las figuras representan la localidad de procedencia B) ACP excluyendo los individuos de la localidad DV_G.....	20
7	Proporción de asignación individual a cada grupo genético con K=2. Las líneas negras separan las poblaciones. Cada color representa una agrupación genética.....	21
8	Media y desviación estándar de la verosimilitud por número de grupos genéticos evaluados en <i>Y. valida</i> excluyendo la localidad DV_G. Nótese el valor más alto de verosimilitud para K = 1.....	21
9	Relación entre las diferencias genéticas de las localidades y la distancia geográfica....	22
10	Correlogramas del coeficiente de autocorrelación genética r (línea azul) en función de 5 rangos de distancia. A) Análisis global de los individuos de <i>Yucca valida</i> con distribución norte B) Análisis de individuos a un rango de distancia menor a 500 metros. Se muestran el intervalo de confianza del 95% (líneas discontinuas en rojo Upper & Lower) y las barras de error de confianza del 95%.....	23
11	Comparación entre la Φ_{ft} de las dos localidades evaluadas por medio de TwoGener.	45

Lista de tablas

Tabla	Página
1 Sitios de muestreo de <i>Y. valida</i> ordenados de norte a sur; Desierto Central (DC), Desierto del Vizcaíno (DV) y Planicies de Magdalena (PM); Baja California (BC) y Baja California Sur (BCS). Se muestra el número de individuos muestreados por localidad (n).....	10
2 Plantas madre: georreferencia, número de frutos y número de semillas utilizadas para el análisis TwoGener.....	11
3 Características y temperaturas de alineación de los 7 loci microsatélites amplificados en <i>Yucca valida</i>	13
4 Valores de diversidad genética estimados para 7 loci microsatelites en la especie <i>Yucca valida</i>	19
5 Diversidad genética estimada en 10 localidades de <i>Yucca valida</i>	19
6 Análisis de varianza molecular AMOVA entre las localidades norte, centro y sur de <i>Yucca valida</i>	22
7 Análisis de varianza molecular (AMOVA) de los gametos masculinos en el análisis TwoGener.....	24
8 Valores estimados de estructura genética (Φ_{ft}), número efectivo de donadores de polen (N_{ep}) y distancia efectiva de dispersión de polen (δ) dada en metros: densidad de individuos reproductivos (R) y densidad de individuos reproductivos recientes (RR).....	24
9 Lista de alelos encontrados en cada uno de los 7 loci microsatélites usados en los análisis de <i>Yucca valida</i>	41
10 Matriz de <i>Fst</i> pareados entre las 10 localidades evaluadas de <i>Yucca valida</i>	42
11 Análisis de autocorrelación genética espacial de los individuos de la distribución norte de <i>Yucca valida</i> . A) Análisis global de los individuos de <i>Yucca valida</i> con distribución norte B) Análisis de individuos a un rango de distancia menor a 500 metros. Se muestra: número total de comparaciones pareadas por clase de distancia (n), coeficiente de relación (r) y significancia estadística (p).....	43
12 Matriz de Φ_{ft} pareadas entre las 10 plantas madre evaluadas por medio de TwoGener.....	44

Capítulo 1. Introducción

La distribución espacial de la variación genética a lo largo de las poblaciones de una especie, será resultado de los mecanismos evolutivos que incrementan la diferenciación genética y aquellos que la reducen (Loveless y Hamrick, 1984). La magnitud de la diferenciación genética entre las poblaciones será determinada por la capacidad de la especie de dispersar sus genes (Wright, 1946; Slatkin, 1985). Un alto flujo de genes promoverá la homogeneidad genética entre las poblaciones, mientras que un flujo genético limitado permitirá que procesos de deriva genética o adaptación local promuevan la diferenciación y estructura genética (Slatkin, 1985).

En las especies de plantas el flujo genético es dado a través de la dispersión del polen y las semillas. Estos dos mecanismos determinan el grado en que los genes son dispersados ya sea localmente o a amplias escalas geográficas (Loveless y Hamrick, 1984; Ennos, 1994; Loiselle et al, 1995). El movimiento de semillas generalmente se da a una escala local y la progenie suele establecerse cerca de las plantas parentales (Ennos, 1994). Por otro lado, se considera que la dispersión a través del polen es el principal mecanismo de movimiento de genes a larga distancia, sobre todo en las especies que dispersan el polen a través del viento (Loveless y Hamrick, 1984; Bittencourt y Sebbenn, 2008). Sin embargo, esto puede ser contrario en plantas con polinizadores mutualistas donde el movimiento de polen puede llegar a ser particularmente restringido y limitar el flujo genético entre poblaciones (Loveless y Hamrick, 1984; Hirao et al., 2006).

Debido a que las plantas son organismos sésiles, su dispersión muestra restricciones espaciales. Se conoce que la dispersión tanto de polen como de semillas presenta una curva leptocúrtica, esto significa que su frecuencia decrece conforme aumenta la distancia respecto a la planta de origen (Loveless y Hamrick, 1984; Ellstrand, 1992). Esta característica genera que en las plantas la distribución de la variación genética este estrechamente relacionada a la distribución espacial de las poblaciones (Loveless y Hamrick, 1984). Se espera que en distancias geográficas cortas el flujo de genes mantenga la homogeneidad genética, mientras que a distancias geográficas amplias el flujo genético entre poblaciones sea limitado y de paso a los procesos de diferenciación (Slatkin, 1985; Savolainen et al., 2007).

Una de las consecuencias de la relación entre el flujo genético y una amplia distribución geográfica es el aislamiento por distancia (APD). El APD se observa cuando el flujo de genes entre poblaciones decrece con el aumento en la distancia geográfica entre ellas (Wright, 1946; Malécot, 1950). Este modelo se basa en las distancias genéticas entre poblaciones, donde entre poblaciones vecinas la distancia genética es menor y va aumentando conforme aumentan las distancias geográficas entre ellas (Vekemans y Hardy, 2004).

Por otro lado, aunque el APD es común en las especies de amplia distribución, encontrar este patrón en las poblaciones de plantas dependerá de otros factores como la estrategia reproductiva, el tipo de polinización, la densidad de las poblaciones y la conectividad de las mismas (Vekemans y Hardy, 2004; Jha y Dick, 2010; Deacon y Cavender, 2015).

El efecto de la distribución espacial en el flujo genético puede observarse a escalas espaciales menores a través de las relaciones de parentesco entre los individuos (Loiselle et al, 1995; Vekemans y Hardy, 2004). Se espera que la relación de parentesco entre plantas en el vecindario inmediato sea mayor que entre plantas relativamente más distantes (Loveless y Hamrick, 1984; Ennos, 1994; Vekemans y Hardy, 2004). Esta relación puede aumentar la probabilidad de apareamientos entre parientes y por tanto endogamia dentro de las poblaciones (Vekemans y Hardy, 2004). Sin embargo, factores como la asincronía en la floración, diferencias en la fecundidad de los individuos, así como la existencia de sistemas de incompatibilidad, limitan la disponibilidad del polen regulando las relaciones genéticas entre los individuos (Hardy et al., 2004; Nora et al., 2011).

En este sentido, el número de individuos que tienen una reproducción exitosa (donadores efectivos de polen) son quienes influyen en las relaciones genéticas dentro y entre las poblaciones (Nora et al., 2011). Las estimaciones del número efectivo de donadores de polen y la distancia de dispersión efectiva de polen permiten determinar la contribución del polen tanto local como externo a la poza génica de las poblaciones (Smouse et al., 2001; Sork y Smouse, 2006; Nora et al., 2011). Actualmente los estudios sobre la distribución espacial de la variación genética en plantas hacen uso de estas estimaciones ya que permiten conocer los patrones de flujo genético entre poblaciones y detectar estructura genética espacial a escala fina (Vekemans y Hardy, 2004).

Las plantas del género *Yucca* (Asparagaceae) son reconocidas por presentar uno de los sistemas de polinización más especializados que se conocen (Pellmyr, 2003). En este sistema, las *Yuccas* son polinizadas exclusivamente por polillas de los géneros *Tegeticula* y *Parategeticula*, las cuales presentan adaptaciones morfológicas para transportar polen de la *Yucca*, ovopositar dentro del ovario de las flores y polinizar efectivamente (Engelmann, 1872; Pellmyr y Thompson, 1992; Pellmyr, 2003). De esta manera se garantiza el buen desarrollo de los frutos y semillas que serán el refugio y el alimento de las larvas de la polilla (Bogler et al, 1995). Además, se considera que el principal mecanismo de flujo genético entre las poblaciones de *Yucca* es a través de las polillas ya que los dispersores actuales de semillas son roedores, los cuales mueven las semillas a una escala local (Vander Wall et al., 2006; Waitman et al., 2012). La dependencia de las

Yuccas hacia sus polinizadores para la reproducción y la dispersión las ha vuelto el foco de atención para estudios evolutivos de diferente índole (ej. Mutualismo, coevolución, especiación, diferenciación).

El mutualismo obligado entre las *Yuccas* y sus polinizadores hace que la dispersión del polen dependa de la efectividad del polinizador para llevar el polen de flor en flor en la misma planta, de planta a planta y de población en población. Los estudios realizados sobre el comportamiento de las polillas sugieren que la dispersión es restringida y se da mayoritariamente entre plantas vecinas (Marr et al., 2000; Powell, 2013). Pese a ello, se ha observado que las especies de *Yuccas* tienen reproducción mayormente por entrecruzamiento y que cada fruto presenta progenie de más de un donador de polen (Massey y Hamrick, 1999). Esta inconsistencia es resultado del aborto selectivo de frutos producto de auto fertilización y la posibilidad de múltiples eventos de polinización en un mismo ovario (Pellmyr et al., 1997; Massey y Hamrick, 1999).

1.1 Antecedentes

1.1.1 Especie de estudio: *Yucca valida*

La especie *Yucca valida* Brandegees (Asparagaceae), conocida comúnmente como datilillo, es una planta fanerógama nativa de la península de Baja California. La especie es perene y de hábito arbóreo llegando a alcanzar tamaños de hasta 12 metros de altura, siendo una de las especies más conspicuas de los desiertos bajacalifornianos (Shreve y Wiggins, 1951; Turner et al., 1995). Esta característica es de relevancia ecológica ya que provee sombra y refugio a múltiples especies de fauna y flora nativa (e.g. Rivera y Rodríguez, 1998; Bezy et al., 2008; Servín et al., 2010). La polinización de *Y. valida* es llevada a cabo por la polilla *Tegeticula baja*, la cual es endémica de la península de Baja California y poliniza tanto a *Y. valida* como a su especie hermana de la región del Cabo *Y. capensis* (Pellmyr et al., 2008).

La planta *Y. valida* presenta una amplia distribución que va desde la latitud 29.8°N en Baja California hasta la latitud 25.6°N en Baja California Sur, entre las latitudes 25.6°N y 24.5°N no se tienen registros de la especie y posteriormente vuelven a registrarse poblaciones cerca de la región del cabo hasta los 22°N (Turner et al., 1995). A lo largo de su distribución forma parte de las ecorregiones del desierto central, el desierto de Vizcaíno y las Planicies de Magdalena, encontrándola generalmente por debajo de los 400msnm (Turner et al., 1995; González et al., 2010). En las llanuras del desierto de Vizcaíno *Y. valida* es

una especie dominante, dónde sus poblaciones son muy densas llegando a constituir hasta el 80% de la vegetación. En las regiones más al norte y sur de su distribución sus poblaciones siguen siendo prominentes, pero su densidad baja respecto a otras perenes como algunas especies de *Fouquierias* y *Pachycereus* (Shreve y Wiggins, 1951). En su distribución *Y. valida* forma parte de las áreas naturales protegidas, Valle de los Cirios y la Reserva de la Biosfera el Vizcaíno, por lo que sus poblaciones presentan un impacto menor por acción antropogénica (Carabias et al., 2000; CONANP, 2013).

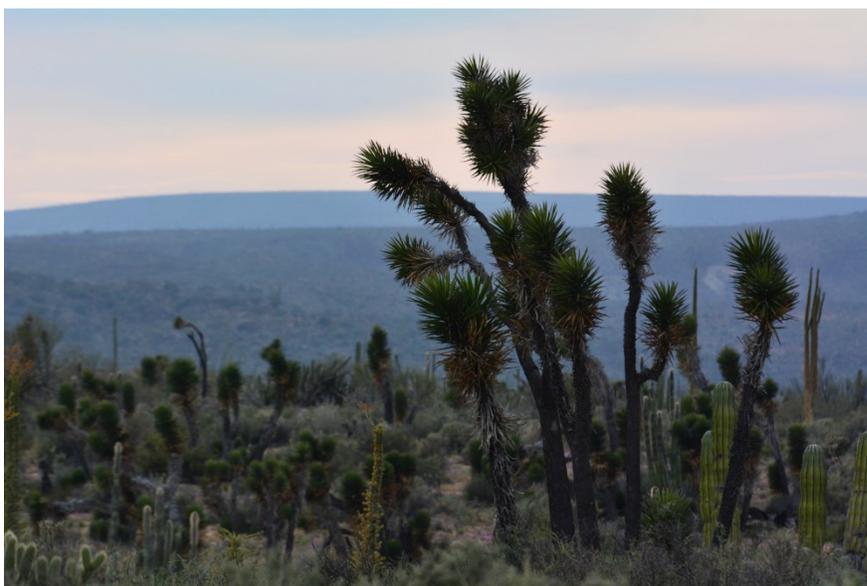


Figura 1. Paisaje en el Desierto del Vizcaíno (Foto: A. Alemán)

La distribución espacial de la especie *Y. valida*, así como su interacción con su polilla polinizadora *T. baja*, la vuelven un buen modelo para responder preguntas de índole poblacional, ecológicas y evolutivas. La distribución espacial de la variación genética de *Y. valida* será producto de la interacción con su polilla polinizadora, su distribución espacial y procesos de adaptación local debido a los diferentes ambientes donde se distribuye. Este estudio así como estudios futuros servirán como punto de comparación para otras especies de *Yucca* que se encuentran afectadas por acción antropogénica como explotación y fragmentación de hábitat, así como para otras especies con sistemas de polinización especializadas.

1.1.2 Estimaciones de flujo genético entre poblaciones

La aproximación clásica para evaluar el flujo genético es a través de medidas de estructura genética poblacional (Sork et al., 1999; Montano et al., 2013). Se han desarrollado diversos índices para describir la estructura poblacional, uno de los más usados es el F_{st} (Wright, 1965) el cual se estima a partir de la varianza en las frecuencias alélicas entre poblaciones. El índice R_{st} (Slatkin, 1995) se calcula a partir de la varianza en el tamaño de los alelos lo cual lo hace apropiado cuando se trabaja con datos de microsatélites. El D_{est} (Jost, 2008) se estima a partir de una fracción de la variación alélica entre poblaciones y ha demostrado ser más eficiente que otros índices estimando diferenciación genética cuándo la heterocigosis promedio es elevada dentro de las poblaciones. Cada uno de estos índices aprovecha diferentes características de los datos y tienen diferente interpretación biológica (Montano et al., 2013).

Cuando se trabaja con especies distribuidas en ambientes heterogéneos o que constituyen una metapoblación es adecuado obtener valores entre pares de poblaciones de estos estimadores (Sork et al., 1999). Los índices pareados son utilizados como medias de diferenciación entre poblaciones que pueden ser correlacionadas con factores ambientales, geográficos y ecológicos. Esta cualidad permite poner a prueba modelos tales como el de aislamiento por distancia (APD) que a escalas geográficas grandes permite hacer inferencias sobre el flujo genético (Sork et al., 1999; Piñero et al., 2008). En este sentido, la prueba de mantel ha sido ampliamente utilizada para evaluar APD mediante la relación entre distancias genéticas (ej. F_{st} pareados) y las distancias geográficas entre las poblaciones (Piñero et al., 2008).

1.1.3 Relación entre el grado de parentesco y la distancia geográfica entre plantas.

Para evaluar el grado de parentesco entre los individuos de una población se han desarrollado varios tipos de coeficientes de relación. Los más usados son el coeficiente de parentesco (F_{ij}) y el coeficiente de relación (R_{ij}), los cuales se basan en la probabilidad de que un gen aleatorio del individuo i sea idéntico a un gen aleatorio del individuo j (Vekemans y Hardy, 2004).

Para determinar la relación entre el grado de parentesco y las distancias geográficas entre los individuos, como es el caso de las poblaciones de plantas, se promedian los valores ya sea de F_{ij} o R_{ij} de los individuos dentro de un intervalo de distancia dado para obtener un coeficiente de autocorrelación genética (r) (Vekemans y Hardy, 2004; Smouse et al., 2008). El coeficiente r puede tomar valores positivos y negativos,

cuando toma un valor que no difiere significativamente de cero indica que los genotipos están distribuidos aleatoriamente en el espacio y; cuando r es significativamente diferente a cero significa que los genotipos presentan un patrón de distribución determinado (Peakall y Smouse, 2006; Smouse et al., 2008). El cálculo del coeficiente r para diferentes intervalos de distancias puede ser graficado para obtener correlogramas de autocorrelación genética espacial (Vekemans y Hardy, 2004; Peakall y Smouse, 2006). En plantas se espera que el valor de r decrezca de forma lineal conforme aumentan la distancia entre individuos (Vekemans y Hardy, 2004).

Los análisis de autocorrelación genética espacial son utilizados para determinar la existencia de estructura genética espacial a escala fina (Loiselle et al, 1995; Vekemans y Hardy, 2004). La cual se refiere a la distribución espacial no aleatoria de los genotipos de los individuos y que es resultado de una dispersión de genes limitada (Vekemans y Hardy, 2004). Determinar la existencia de este tipo de estructura es importante, ya que las distancias en la que los organismos de una población están relacionados genéticamente permiten entender la estructura genética que se encuentra a escalas espaciales más amplias (e.g. Smouse y Peakall, 1999; Turchetto et al., 2015; Deacon y Cavender 2015).

1.1.4 Estimaciones del movimiento de polen y donadores de polen

El enfoque más directo para estimar el flujo de genes en plantas es a través de la estimación del movimiento del polen y el número efectivo de donadores de polen (Sork y Smouse, 2006). Para ello, se hace uso de los análisis de paternidad, los cuales requieren de genotipificar a todos o la mayoría de los adultos reproductores de una población para encontrar con precisión el número de padres para cada uno de los descendientes de un grupo de plantas madre. Sin embargo, estos métodos requieren de tamaños muestrales elevados y se vuelve técnicamente difíciles cuando se tienen poblaciones que abarcan grandes distancias o con densidades de individuos muy altas (Sork y Smouse, 2006).

El modelo TwoGener fue desarrollado por Smouse y colaboradores (2001) para resolver el problema de los grandes tamaños muestrales que requieren los análisis de paternidad. Para este análisis se requiere caracterizar genéticamente a un grupo pequeño de madres dentro de la población y a una proporción de su progenie. De esta manera se puede inferir la contribución genética tanto de la planta madre como del donador de polen para cada semilla (Smouse et al., 2001; Sork y Smouse, 2006). Para ello, este modelo hace uso tanto de los análisis clásicos de estructura genética como los análisis de asignación de paternidad

para estimar la estructura genética de la poza de polen de las plantas madre (Φ_{ft}) (Smouse et al., 2001). El estadístico Φ_{ft} es una medida de la heterogeneidad de los alelos paternos entre la progenie de las madres (Quesada et al., 2013). Con base en los estimadores de Φ_{ft} es posible estimar el número efectivo de donadores de polen (N_{ep}) y la distancia promedio efectiva de dispersión de polen (δ) (Sork y Smouse, 2006; Quesada et al., 2013).

Desde su desarrollo el modelo TwoGener a través de diversos softwares, ha sido utilizado para evaluar de manera indirecta el flujo genético de las poblaciones ya que permite abordar preguntas que con las aproximaciones clásicas no es posible. Por ejemplo, debido a que sus estimaciones se basan en la progenie y no en los individuos adultos, es posible utilizar el Φ_{ft} como indicador del flujo genético contemporáneo (Quesada et al., 2013). Diversos autores han utilizado esta característica para evaluar el impacto de la fragmentación de hábitat en el flujo genético entre parches (e.g. Isagi et al., 2007; Byrne et al., 2007; Quesada et al., 2013). Otros, evalúan la efectividad de los polinizadores para mantener la conectividad en poblaciones tanto fragmentadas como continuas (e.g. Hirao et al., 2006; Wang et al., 2010; Jha y Dick, 2010). Finalmente, también es una buena aproximación para el estudio de la estructura genética espacial a escala fina (e.g. Hardy et al., 2004; Dutech et al., 2005; Browne et al., 2018).

1.2 Hipótesis

Debido a los mecanismos de dispersión que presenta la especie *Yucca valida* así como las distancias geográficas en las que se distribuye se espera que:

1. La distribución de la variación genética de *Y. valida* presentará un patrón de aislamiento por distancia.
2. El grado de parentesco entre individuos de *Y. valida* a escala local decrecerá respecto a las distancias geográficas.
3. Los donadores de polen de *Y. valida* serán individuos distribuidos mayormente a cortas distancias.

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivo general

Evaluar el flujo genético de *Yucca valida* en dos escalas espaciales, una amplia entre localidades esperando encontrar APD y otra más fina donde se evaluará el grado de correlación genética entre individuos y se estimará la distancia de dispersión del polen y el número de donadores de polen.

1.3.2 Objetivos específicos

1. Describir la diversidad genética de la especie *Y. valida*.
2. Evaluar la estructura genética y si existe un patrón de aislamiento por distancia a lo largo de la distribución de *Y. valida*.
3. Evaluar las relaciones genéticas entre individuos de *Y. valida* mediante un análisis de autocorrelación genética espacial.
4. Cuantificar lo donadores de polen y las distancias de dispersión mediante el análisis TwoGener.

Capítulo 2. Metodología

2.1 Área de estudio

En este trabajo se visitaron 10 localidades a lo largo de la distribución geográfica de *Yucca valida*, entre los 29.4° y 25.7° latitud norte (Tabla 1). El ambiente donde se distribuye la especie está representado por 3 localidades en el Desierto Central, 6 en el Desierto del Vizcaíno y una en Planicies de Magdalena (Fig. 2).

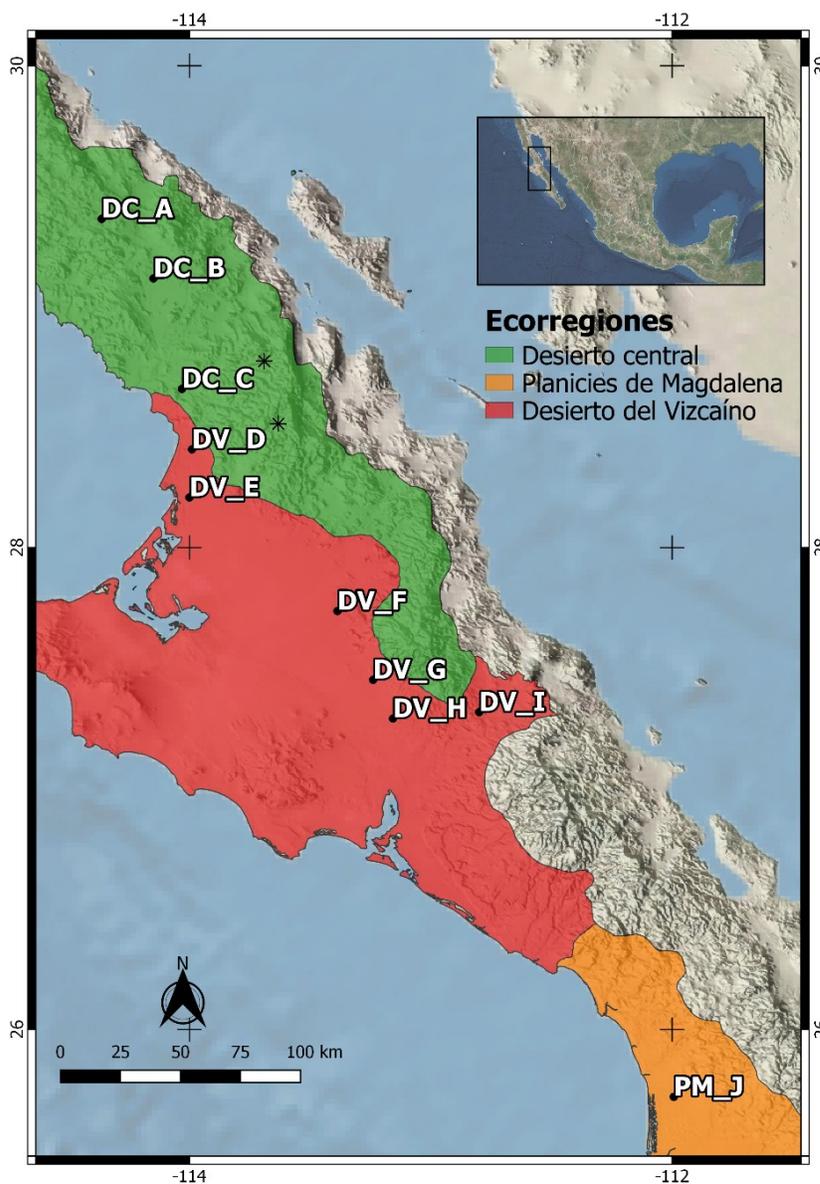


Figura 2. Ubicación de las localidades de muestreo. Las estrellas en negro muestran las localidades utilizadas para el análisis TwoGener.

En cada una de las 10 localidades se muestrearon 10 individuos para obtener una muestra total de 100 plantas adultas. Cada uno de ellos fue georreferenciado y de cada planta se obtuvo un fragmento de hoja joven y visualmente sana. Los tejidos fueron guardados en sobres debidamente etiquetados y almacenados en silica gel para su deshidratación.

Tabla 1. Sitios de muestreo de *Y. valida* ordenados de norte a sur; Desierto Central (DC), Desierto del Vizcaíno (DV) y Planicies de Magdalena (PM); Baja California (BC) y Baja California Sur (BCS). Se muestra el número de individuos muestreados por localidad (n).

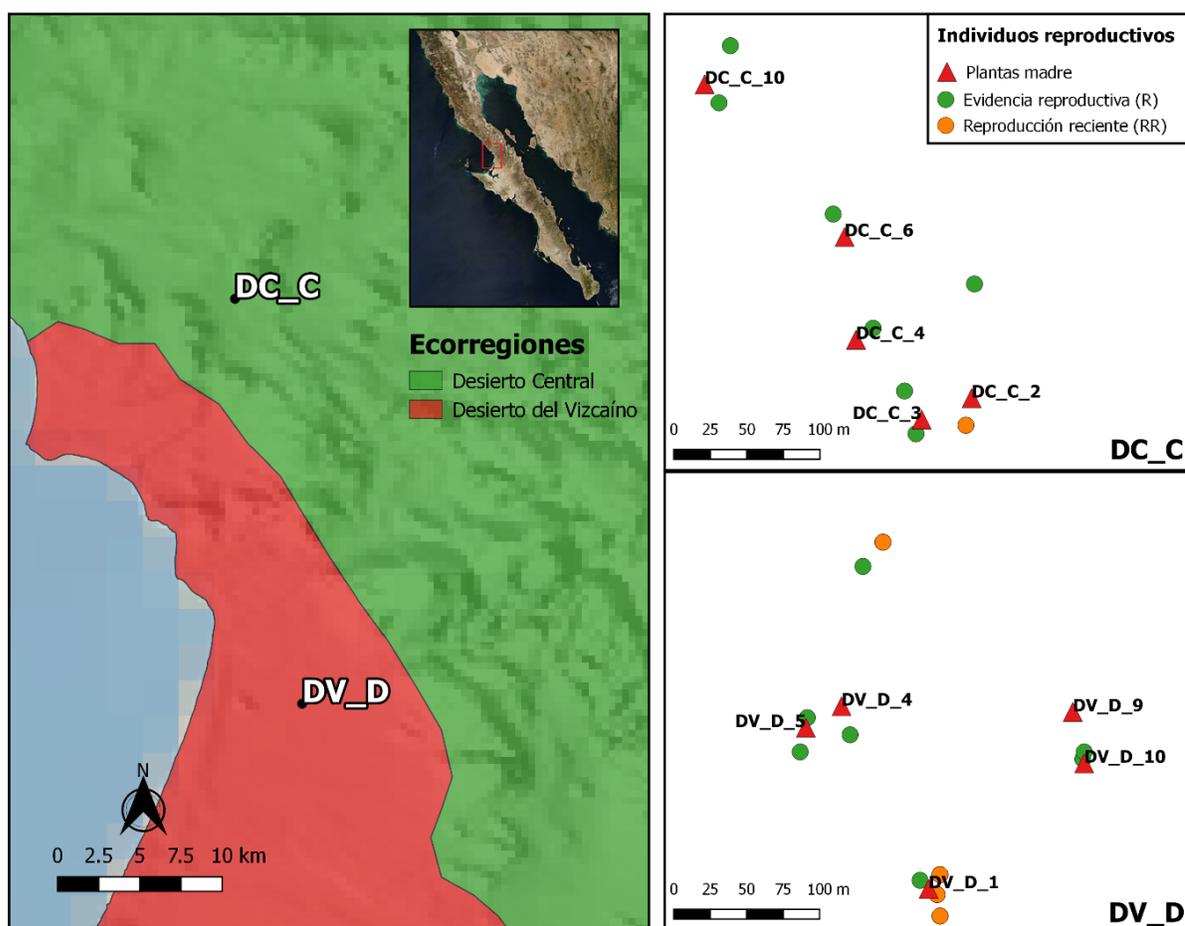
Localidad	Estado	Latitud	Longitud	n
DC_A	BC	29.364670	-114.364120	10
DC_B	BC	29.117583	-114.149694	10
DC_C	BC	28.658670	-114.031670	10
DV_D	BC	28.407710	-113.990030	10
DV_E	BC	28.208194	-114.000667	10
DV_F	BCS	27.736694	-113.387083	10
DV_G	BCS	27.451333	-113.239111	10
DV_H	BCS	27.290527	-113.157167	10
DV_I	BCS	27.316944	-112.799944	10
PM_J	BCS	25.720346	-111.993061	10

Para el análisis TwoGener se visitaron las localidades DC_C y DV_D en tiempo de fructificación, estas localidades son geográficamente cercanas (25 km de distancia) pero pertenecen a diferente ecorregión (Fig.3). En cada una de ellas se escogieron 5 individuos (plantas madre) distribuidos aleatoriamente en el espacio y con presencia de frutos (Tabla 2). De cada planta madre se tomaron 3 frutos al azar que fueron almacenados para su posterior disección.

La estimación de la distancia de dispersión (δ) requiere el cálculo de la densidad de individuos reproductivos. Para ello, en cada localidad se construyeron seis cuadrantes de 30m x 50m donde se georreferenciaron y contaron los individuos con evidencia reproductiva (restos de inflorescencia adheridos a la planta). A su vez, se creó un subgrupo solo con los individuos que presentaron evidencia del último evento reproductivo (inflorescencia reciente), de esta manera se obtuvo para cada cuadrante el número de individuos reproductivos (R) y el número de individuos con reproducción reciente (RR).

Tabla 2. Plantas madre, georreferencia, número de frutos y número de semillas utilizadas para el análisis TwoGener.

Madre	ID	Latitud	Longitud	Frutos	Semillas
1	DC_C_2	28.65926	-114.03200	3	20
2	DC_C_3	28.65911	-114.03235	3	20
3	DC_C_4	28.65967	-114.03281	3	20
4	DC_C_6	28.66039	-114.03289	3	20
5	DC_C_10	28.66146	-114.03387	3	20
6	DV_D_1	28.40795	-113.99020	3	20
7	DV_D_4	28.40923	-113.99081	3	20
8	DV_D_5	28.40908	-113.99106	3	20
9	DV_D_9	28.40919	-113.98919	3	20
10	DV_D_10	28.40883	-113.98911	3	20

**Figura 3.** Localidades y distribución espacial de plantas maternas utilizadas para el análisis TwoGener. Se indican, los individuos con evidencia reproductiva (R) y los individuos con reproducción reciente (RR).

2.2 Germinación de semillas

Para estimar el número efectivo de donadores de polen y la distancia de dispersión del polen a partir del análisis TwoGener, se requiere de obtener el genotipo de plantas madre y el genotipo de una muestra de su descendencia. Para ello, se escogieron tres frutos por planta madre y de 6 a 7 semillas por cada fruto para obtener 20 plántulas por madre y un tamaño de muestra total de 200 plántulas. Las semillas fueron puestas a germinar dentro de un invernadero con un régimen de riego diario hasta que se obtuvieron plántulas de tamaño apropiado para tomar tejido de raíz sin afectar su supervivencia (aproximadamente 1 mes después de la germinación de cada semilla).

2.3 Extracción de ADN genómico

Los tejidos secos de cada individuo adulto fueron cortados finamente y puestos a macerar por medio del homogeneizador FastPrep-24 (MP BIOMEDICALS). Se utilizaron 80 mg del polvo resultante para la extracción de ADN por medio del kit comercial Qiagen DNeasy Plant Mini Kit (QIAGEN, 2006). Para la extracción de ADN de la progenie, se utilizaron 60mg de tejido de raíz, el cual fue congelado a -80°C durante un día. El tejido congelado fue puesto a macerar con 400 μl de Buffer de sales (Aljanabi y Martinez, 1997) en el homogeneizador FastPrep-24. El volumen recuperado pasó a la extracción estándar de sales siguiendo el protocolo de Aljanabi y Martinez (1997). La presencia y calidad del ADN en ambos casos se evaluó por medio de geles de agarosa a 1%.

2.4 Amplificación de marcadores moleculares

Para este estudio se amplificaron 7 microsatélites (Tabla 3) descritos por Flatz et al. (2011) para *Yucca brevifolia*. La mezcla de reacción para el PCR consistió en 3 μl de Buffer (1x), 0.9 μl de MgCL (2.5mM), 0.24 μl de dNTps (0.16mM), 0.6 μl de cada cebador a 10 μM , 0.2 μl de la Taq polimerasa (1u), 2 μl de ADN y 7.46 μl de agua grado molecular, para obtener un volumen de reacción de 15 μl . Las condiciones del termociclador fueron previamente estandarizadas para Yucbre04, Yucbre12, Yucbre22 y Msat-36 con 95°C durante 15 min, seguido de 30 ciclos de 94°C por 30 seg, 61°C por 90 seg, 72°C por 1 min, finalizando con

30 min de extensión final a 60°C. Para Yucbre06 se implementó el Touchdown de 53/49 en la alineación y de igual manera para Yucbre20 y Yucbre21 un Touchdown de 59/53. La presencia de los productos de amplificación fue corroborada por medio de geles de agarosa a 2% y posteriormente enviados a un instituto especializado para el análisis de fragmentos. Los electroferogramas de los individuos se analizaron por medio del programa PeakScanner Software v1.0 (Biosystems, 2006) para elaborar las bases de datos de los tamaños alélicos.

Tabla 3. Características y temperaturas de alineación de los 7 loci microsatélites amplificados en *Yucca valida*.

Locus	Motivo repetitivo	Secuencia del cebador	Temp. de alineación
Yucbre04	(CT) ₆ AT(CT) ₇ (GT) ₁₉	F: GCGCATTTTTGTTATTCTATGC R: TCAGCAGCAACCGACAATAG	61
Yucbre06	(AG) ₂₃	F: CCAAGGTCCTTCGCTTCTATG R: TCCATGCTCAAATCCTTCTG	53/49
Yucbre12	(TACA) ₇	F: AACTCCCGTGTTTTGGTGTG R: AACTCTACTGCCATGTATGTACGC	61
Yucbre20	(CT) ₁₆ ACCT(GT) ₂₂	F: AAAATCACATAAATTGCATGATGG R: TGCAAAAAGTCAATCCCAAGG	59/53
Yucbre21	(TC) ₁₆	F: CACCCAAGTCACTGTGC R: GGCTAATCTAGGGTTTAAAAGAGG	59/53
Yucbre22	(TC) ₂₆	F: AGCATTTGTTGTGTGCATCC R: GAGAGTTGTTGGCTCGTTGC	61
Msat-36	(CT) ₉	F: TACCGTTCCTGCGGATAGT R: GCTGAGTTCATCGTCGCCT	61

2.5 Análisis de datos de individuos adultos

2.5.1 Análisis de diversidad genética

Previo a los análisis de diversidad y estructura genética se evaluó la frecuencia de alelos nulos por locus en cada una de las poblaciones utilizando el software FreeNA (Chapuis y Estoup, 2007). FreeNA estima la frecuencia de alelos nulos a través del algoritmo EM (Dempster et al., 1977) y estima el estadístico *F_{st}* utilizando el método ENA (Chapuis y Estoup, 2007) el cual corrige el sesgo producido por la presencia de alelos nulos.

Cómo estimadores de diversidad genética se calcularon: el número total de alelos (*N_a*), riqueza alélica (*A*), heterocigosis observada (*H_o*), heterocigosis esperada (*H_e*) y el coeficiente de endogamia (*F_{is}*). Los

estimadores se calcularon por locus y por localidad utilizando diversas paqueterías del software de libre acceso R (R Development Core Team, 2008). La desviación del Equilibrio de Hardy-Weinberg fue evaluada para cada población utilizando el software GENEPOP v. 4. 6. (Rousset, 2008).

2.5.2 Estructura poblacional y aislamiento por distancia.

Para explorar la presencia de agrupaciones genéticas se utilizaron todos los individuos adultos muestreados (n=100) para realizar un análisis de componentes principales (PCA) utilizando R (R Development Core Team, 2008).

Se identificó el número de componentes genéticos a lo largo de la distribución de la especie utilizando el programa STRUCTURE (Pritchard et al. 2000). Se evaluó K (número de clústers genéticos) comprendida entre 1 y 12, con 25 iteraciones por cada K. Se utilizaron 50,000 pasos de estabilización (*burn-in*) de las cadenas de Markov Monte Carlo (MCMC) y el número de MCMC después del *burn-in* fue también de 50,000. Se escogió el número de componentes genéticos con base en el mayor valor de Delta K y menor desviación estándar obtenido a través del método Evanno utilizando STRUCTURE HARVESTER (Earl and VonHoldt, 2012).

La magnitud de la estructuración genética en *Y. valida* fue evaluada calculando los índices *Fst* (Wright, 1965) y *Rst* (Slatkin, 1995) mediante GenAlex v6.5 (Peakall y Smouse, 2006) y también el índice *Dest* (Jost, 2008) por medio del software R.

La distribución de la variación genética se evaluó a través de un análisis molecular de varianza (AMOVA) utilizando el programa GenAlex v6.5 (Peakall y Smouse, 2006). Se agruparon las localidades según su posición geográfica (Fig. 4) en norte (DC_A, DC_B, DC_C, DV_D Y DV_E), centro (DV_F, DV_H y DV_I) y sur (PM_J). La localidad DV_G fue excluida de este análisis debido a las diferencias genéticas encontradas en el análisis de componentes principales y en el análisis STRUCTURE.

Finalmente, el efecto de las distancias geográficas sobre el flujo de genes (APD) fue evaluado mediante una prueba de Mantel utilizando el programa GenAlex v6.5 (Peakall y Smouse, 2006). Esta prueba determina la existencia de correlación entre una matriz de distancias genéticas y una matriz de distancias geográficas. Para las distancias genéticas se utilizó una matriz de *Fst* linealizados: $Fst / (1 - Fst)$ entre pares

de localidades y para las distancias geográficas se utilizó una matriz de distancias euclidianas entre pares de localidades. Para esta prueba también fue excluida la localidad DV_G debido a las diferencias genéticas encontradas en los análisis anteriores.

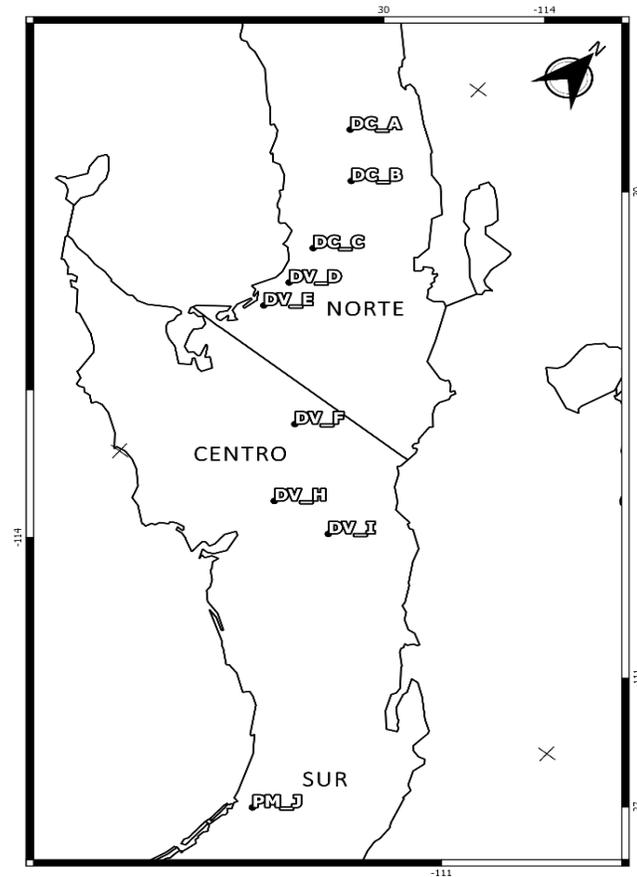


Figura 4. Distribución norte, centro y sur de las localidades de *Y. valida* evaluadas.

2.5.3 Autocorrelación genética espacial

El análisis de autocorrelación genética espacial permite determinar si existe correlación entre la distancia espacial y la relación genética que existe entre individuos (Manel et al., 2003). En este análisis la correlación se describe a través de funciones que permiten cuantificar y dividir el espacio en diferentes rangos de distancia. Dichas funciones se describen por medio de gráficas donde se trazan los valores de autocorrelación, conocidos como correlogramas (Garrido y Vázquez, 2013).

Para este análisis se utilizaron los individuos adultos de las localidades del norte (Fig. 4) debido a que la distribución en transepto y la distancia entre localidades permitió tener rangos de distancia con una n semejante. Con estos individuos ($n=50$) se elaboraron dos correlogramas espaciales; El primero evaluó la relación genética entre los individuos en un rango de distancia entre 1 - 100 kilómetros; el segundo entre los individuos a un rango de distancia menor a 500 metros.

El análisis fue realizado con el programa GenAlex utilizando la matriz de distancias genéticas multiloci propuesta por Smouse y Peakall (1999) y una matriz de distancias geográficas euclidianas entre pares de individuos. Se utilizó la opción Single Pop con 9999 permutaciones y rangos de distancias con tamaños de muestra (n) semejantes. La significancia estadística de este análisis es determinada a través de Bootstrap. En cada rango de distancia el índice de correlación r se considera significativo cuando su valor está fuera del intervalo de confianza de 95% y cuando las barras de error no intersectan con $r = 0$ (Addisalem et al., 2016).

2.6 Análisis de datos de la progenie (plántulas)

2.6.1 Donadores de polen y distancia de dispersión

Para estimar el número efectivo de donadores de polen y la distancia promedio de dispersión de polen a través del análisis TwoGener se utilizaron 20 plántulas por planta madre (6-7 por fruto) para una muestra total de 200 plántulas. Las plántulas fueron genotipificadas con 6 de los 7 microsatélites propuestos (Yucbre04, Yucbre06, Yucbre12, Yucbre21, Yucbre22 y Msat-36).

El análisis TwoGener permite inferir la contribución de los gametos masculinos al genotipo de la progenie a través de la comparación del genotipo de las plantas madre con el genotipo de su progenie. Con esta inferencia se realiza un AMOVA con los gametos masculinos para estimar la estructura de la poza de polen mediante el estimador Φ_{ft} , el cual es un análogo del F_{st} de Wright (1965). Este análisis se realizó utilizando GenAlex a través de la opción Gamete AMOVA. A partir del valor estimado de Φ_{ft} se obtuvo el número efectivo de donadores de polen (N_{ep}) mediante la fórmula $N_{ep} = 1/2\Phi_{ft}$.

Para obtener la distancia promedio efectiva de dispersión de polen δ se utilizó la opción Pollen Distance Only del programa GenAlex. Se asumió una distribución normal de la dispersión de polen (Austerlitz y

Smouse, 2002; Austerlitz et al., 2004) y cómo datos de entrada se utilizaron los valores estimados de Φ_{ft} , la estimación de la distancia media entre plantas madre y las estimaciones de densidad de individuos reproductivos (R y RR). Tener dos estimados de densidad de individuos reproductivos nos permite obtener un intervalo de distancia promedio efectiva de dispersión de polen.

Tanto Φ_{ft} , Nep y δ fueron estimados para cada una de las poblaciones para evaluar la existencia de diferencias entre ellas (cada población, $n=100$), al no encontrarse diferencias significativas se estimaron para las dos localidades en conjunto (Total, $n=200$).

Capítulo 3. Resultados

Para evaluar la diversidad genética y estructura poblacional de *Y. valida*, se genotificaron 100 individuos adultos de 10 localidades utilizando los 7 microsatélites propuestos (Tabla 3). Para el análisis TwoGener se obtuvo el genotipo de 200 plántulas utilizando 6 de los 7 microsatélites propuestos, esto debido a que Yucbre20 presentó dificultades en su amplificación resultando en ~50% de datos faltantes.

3.1 Evaluación de la diversidad genética

Se evaluó la presencia de alelos nulos y se observó que los microsatélites Yucbre04 y Yucbre06 presentan frecuencias bajas de dichos alelos en todas las localidades (<0.1). Los demás microsatélites presentaron frecuencias de alelos nulos mayores a 0.2 en al menos una localidad, pero las frecuencias variaron entre localidades (Fig. 5). Para determinar si la presencia de alelos nulos afecta los estimados de estructura se calculó el F_{st} global con y sin la corrección ENA. Se obtuvieron valores semejantes de 0.084 y 0.085 respectivamente, mostrando poco sesgo causado por la presencia de alelos nulos.

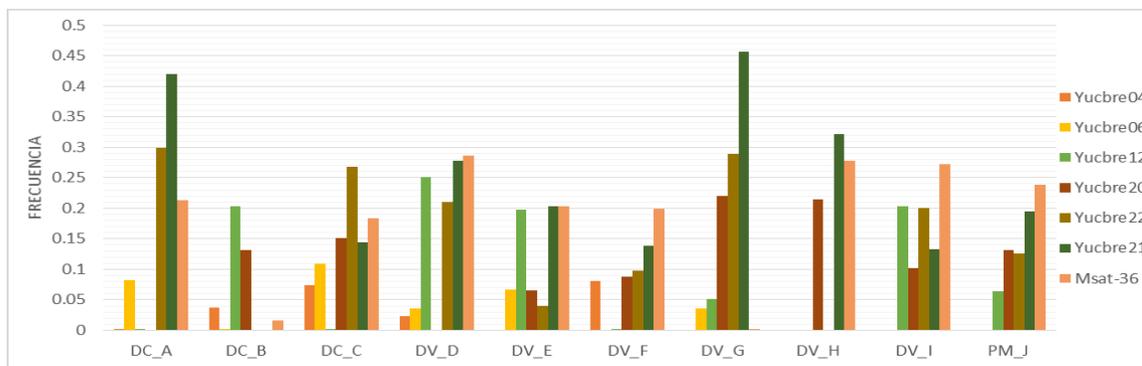


Figura 5. Frecuencia de alelos nulos por localidad en *Yucca valida*. Cada barra representa un locus.

En las 100 plantas adultas, se encontró un total de 119 alelos para los 7 microsatélites evaluados, el rango alélico y el número de alelos por locus se encuentran descritos en la Tabla 4. Los loci con mayor diversidad fueron Yucbre04, Yucbre06 y Yucbre20 los cuales en conjunto aportan el 59% de la diversidad de alelos. El locus Yucbre12 resultó con menor diversidad aportando solo 7 alelos (6%). En general la heterocigosis esperada fue mayor que la heterocigosis observada y se obtuvieron valores altos del coeficiente de endogamia (F_{is}) para todos los loci salvo para Yucbre04.

Tabla 4. Valores de diversidad genética estimados para 7 loci microsatélites en la especie *Yucca valida*.

Locus	Rango alélico	Na	He	Ho	Fis
Yucbre04	122-164	21	0.87	0.88	-0.01
Yucbre06	204-260	25	0.88	0.86	0.03
Yucbre12	116-128	7	0.27	0.17	0.37
Yucbre20	181-247	24	0.88	0.76	0.12
Yucbre22	149-189	12	0.49	0.37	0.25
Yucbre21	105-129	12	0.77	0.34	0.56
Msat-36	153-205	18	0.63	0.46	0.26

Na= Número de alelos; He= Heterocigosis esperada; Ho= Heterocigosis observada; Fis= Coeficiente de endogamia.

Tabla 5. Diversidad genética estimada en 10 localidades de *Yucca valida*.

Localidad	Na	A	PA	He	Ho	Fis	HW
DC_A	38	2.5	3	0.63	0.45	0.31	0.00*
DC_B	37	2.6	2	0.66	0.59	0.10	0.45
DC_C	39	2.4	2	0.56	0.43	0.20	0.01*
DV_D	49	3.0	2	0.79	0.55	0.37	0.00*
DV_E	39	2.7	1	0.69	0.65	0.06	0.01*
DV_F	45	2.7	1	0.69	0.50	0.28	0.00*
DV_G	54	2.9	20	0.78	0.56	0.30	0.00*
DV_H	46	2.8	3	0.71	0.66	0.06	0.01*
DV_I	36	2.6	1	0.67	0.59	0.21	0.01*
PM_J	45	2.7	2	0.68	0.54	0.20	0.02*
General:	119	2.7	37	0.69	0.55	0.20	0.00*

Na= Número total de alelos en la población; A= Número medio de alelos por locus en la población; PA= Número total de alelos privados en la población; He= Heterocigosis esperada; Ho= Heterocigosis observada; Fis= Coeficiente de endogamia; HW= Equilibrio de Hardy-Weinberg, desviación significativa (*).

El número de alelos por localidad varió de 37 a 54 alelos, con una riqueza alélica de 2.7 (Tabla 5). El número de alelos privados varió de 1 a 3 por localidad salvo para la localidad DV_G dónde se encontraron 20 alelos privados. La heterocigosis esperada fue mayor que la observada ($H_e = 0.69$, $H_o = 0.55$) y dicho patrón se observó en todas las localidades muestreadas. Se obtuvo una desviación significativa ($p < 0.001$) del equilibrio de Hardy-Weinberg por déficit de heterocigos y un coeficiente de endogamia global también significativo ($F_{is} = 0.2011$, $p = 0.001$).

3.2 Estructura poblacional y aislamiento por distancia.

Como un primer paso en la evaluación de la estructura poblacional, se realizó un análisis de componentes principales donde se observó que los primeros dos componentes explican el 9.6% de la variación en las frecuencias alélicas. Se encontró que los individuos de la localidad DV_G se separan del resto de los individuos (Fig. 6A) y al excluirlos del análisis se observa un solo agrupamiento (Fig. 6B).

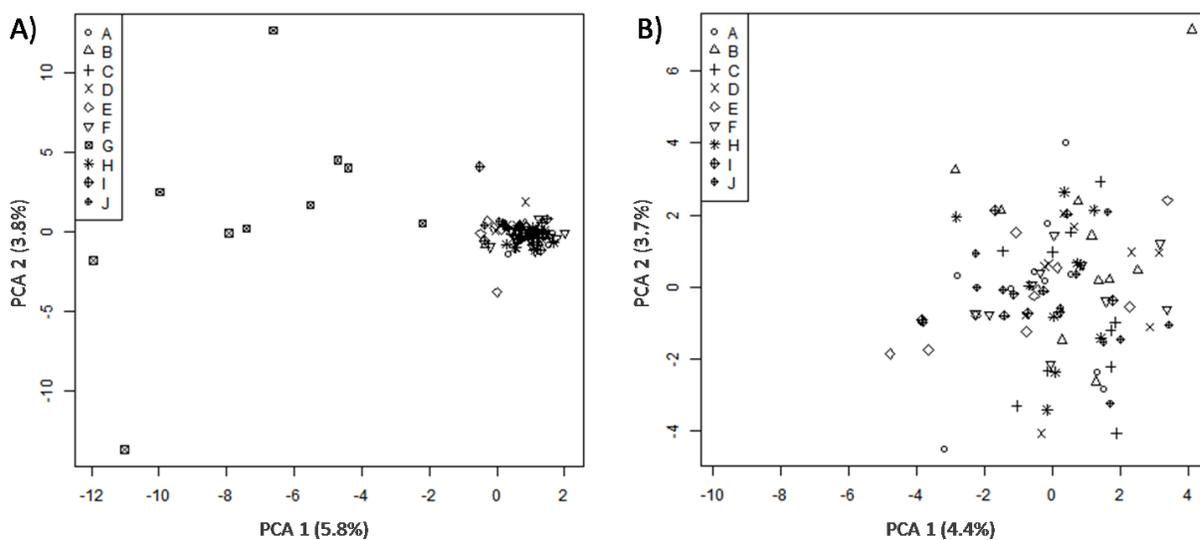


Figura 6. Gráficos de los primeros dos componentes del ACP **A)** ACP utilizando todos los individuos del estudio. Las figuras representan la localidad de procedencia **B)** ACP excluyendo los individuos de la localidad DV_G.

En el análisis STRUCTURE el mayor valor de Delta K y la menor desviación estándar se encontró en K=2. Se observa que las dos agrupaciones genéticas se encuentran presentes en todos los individuos a lo largo de 9 de las 10 localidades. Sin embargo, la localidad DV_G presenta dominancia de una agrupación respecto a la otra (Fig.7). Por ello se realizó el análisis STRUCTURE sin la presencia de esta localidad y K=1 obtuvo el mayor valor de Delta K con la menor desviación estándar (Fig. 8).

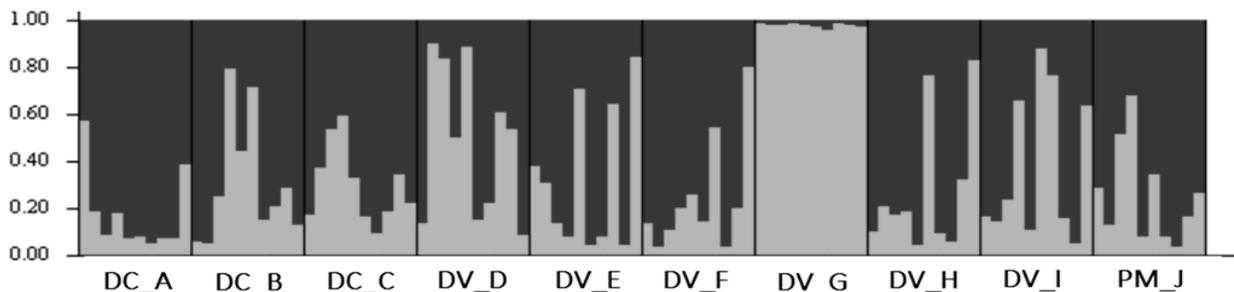


Figura 7. Proporción de asignación individual a cada grupo genético con K=2. Las líneas negras separan las poblaciones. Cada color representa una agrupación genética.

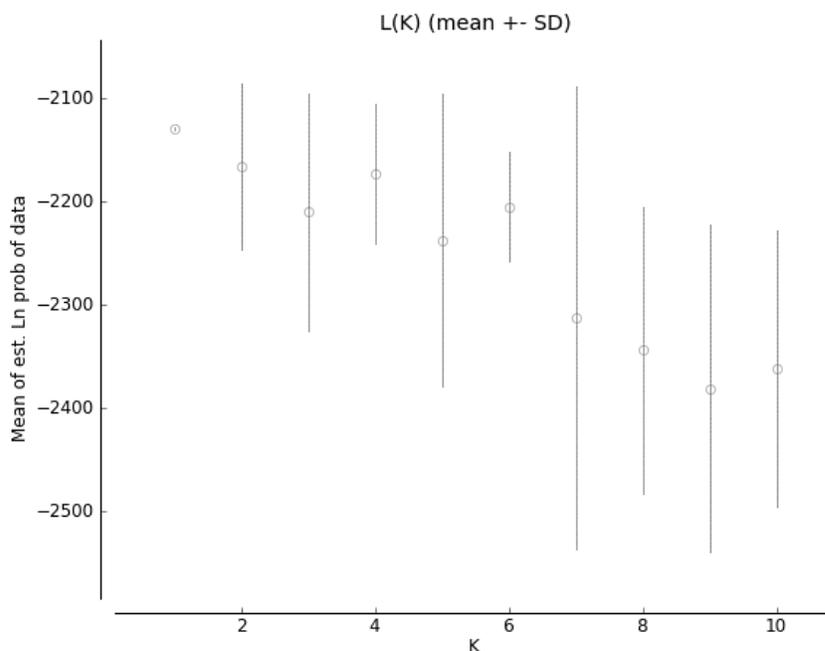


Figura 8. Media y desviación estándar de la verosimilitud por número de grupos genéticos evaluados en *Y. valida* excluyendo la localidad DV_G. Nótese el valor más alto de verosimilitud para K = 1.

Los tres estimadores usados para determinar la estructura genética muestran variación, $F_{st}= 0.085$, $R_{st}= 0.125$ y $Dest= 0.203$. Cuando se recalculan excluyendo la localidad DV_G (debido a las diferencias genéticas

encontradas entre esta localidad y el resto del muestreo), los estimadores indican una menor estructuración, $F_{st}= 0.059$, $R_{st}= 0.117$ y $D_{st}= 0.126$, pero aún son significativos ($p<0.001$). Debido a que la localidad DV_G incrementa los niveles de estructura genética en la especie *Y. valida*, esta localidad fue excluida de los siguientes análisis (AMOVA y prueba de Mantel).

El AMOVA mostró que el 5% de la varianza es explicada entre regiones (norte, centro y sur) de la distribución de *Yucca valida* (Tabla 6) y este porcentaje resultó significativo ($F_{st}=0.050$, $p=0.001$).

Tabla 6. Análisis de varianza molecular AMOVA entre las localidades norte, centro y sur de *Yucca valida*.

Fuente de variación	gl	Suma de cuadrados	Componentes de varianza	Porcentaje
Entre regiones	2	19.830	0.131	5%
Entre individuos dentro de las regiones	8	281.103	0.752	29%
Dentro de los individuos	90	155.500	1.728	66%
Total	179	456.433	2.610	100%

La prueba de Mantel mostró que existe una relación positiva ($r=0.4514$, $p=0.0258$) entre las distancias geográficas y genéticas entre las localidades de estudio. Dónde la distancia genética entre localidades aumenta conforme aumenta la distancia entre ellas (Fig. 9).

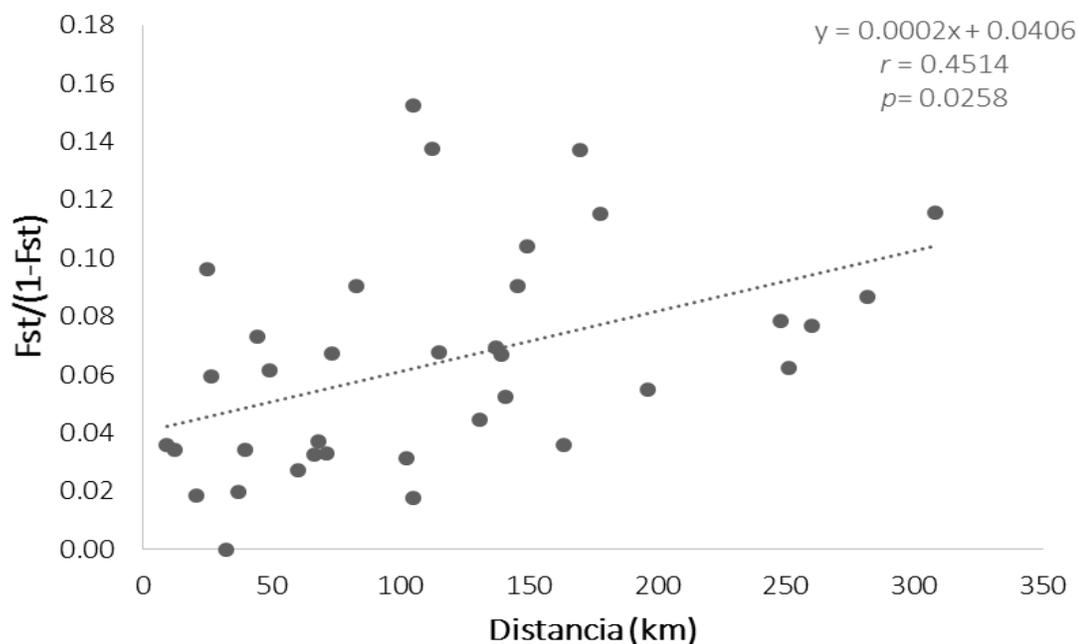


Figura 9. Relación entre las diferencias genéticas de las localidades y la distancia geográfica.

3.3 Autocorrelación genética espacial

El correlograma del análisis de autocorrelación genética espacial para las localidades de la distribución norte de *Yucca valida* ($n=50$; 5 localidades) mostró que los individuos distribuidos a una distancia menor de 500m, presentan genotipos más similares que lo esperado al azar. En este intervalo el coeficiente de autocorrelación genética (r) presenta un valor positivo y significativo ($r = 0.053$). Posteriormente el valor del coeficiente decrece y entre 15 – 66km se mantiene cercano a cero y no significativo, indicando una distribución aleatoria de los genotipos. Entre los 66km y 92km el valor de r decrece tomando valores negativos y a los 92km los genotipos de los individuos son significativamente más diferentes de lo esperado al azar (Fig. 10A).

Al analizar una escala espacial menor, incluyendo a los individuos que se encuentran dentro del intervalo de distancia entre 0-500 metros, se obtuvo que de 0 a 100 metros r toma valores entre 0.07 y 0.1. Estos valores son significativos y mayores a los obtenidos en la escala espacial mayor (Fig. 10A) indicando que la mayor relación genética se encuentra entre los individuos en este intervalo de distancia (0-100m). Posteriormente, el valor del coeficiente r decrece entre los 100 y 150 metros y se mantiene cercano a cero hasta los 200 metros (Fig. 10B).

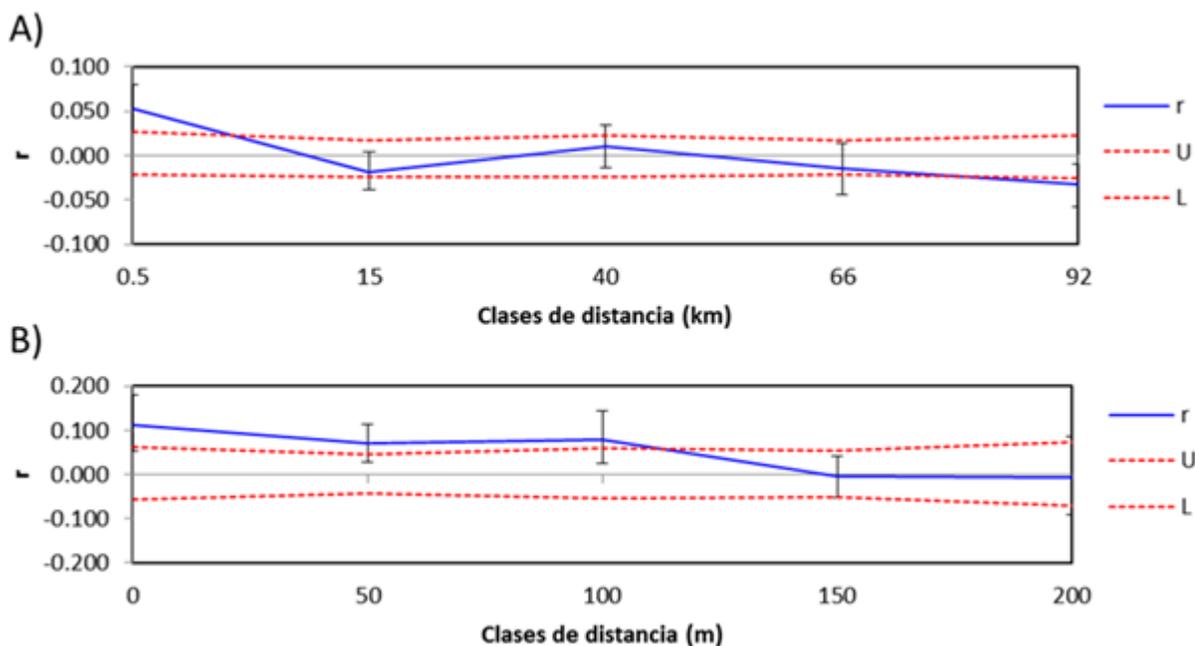


Figura 10. Correlogramas del coeficiente de autocorrelación genética r (línea azul) en función de 5 rangos de distancia. A) Análisis global de los individuos de *Yucca valida* con distribución norte B) Análisis de individuos a un rango de distancia menor a 500 metros. Se muestran el intervalo de confianza del 95% (líneas discontinuas en rojo Upper y Lower) y las barras de error de confianza del 95%.

3.4 Número de donadores de polen y distancias de dispersión

Para el análisis TwoGener se usaron los genotipos de 10 plantas madre (5 por localidad) y los genotipos de 200 plántulas (20 por cada planta madre). Los estimados de Φ_{ft} de las dos localidades no difieren entre ellos (ANOVA, $p=0.94$) por lo que las 10 plantas madre se analizaron en conjunto. Se observó que el 18% de la variación se encuentra entre la progenie de las madres y este porcentaje resultó significativo ($\Phi_{ft}=0.178$, $p=0.0001$). Los valores de los Φ_{ft} pareados entre madres variaron entre 0.05 y 0.32. La estimación del número efectivo de donadores de polen, considerando una progenie de 20 plántulas por madre, fue en promedio de 2.8 donadores por madre (Tabla 8). La estimación de las distancias efectivas de dispersión de polen utilizando los estimados de densidad de individuos reproductivos (R) y de reproductivos recientes (RR) mostró una dispersión de polen de 15 y 40 metros respectivamente (Tabla 8).

Tabla 7. Análisis de varianza molecular (AMOVA) de los gametos masculinos en el análisis TwoGener.

Fuente de variación	gl	Suma de cuadrados	Componentes de varianza	Porcentaje
Entre madres	9	66.762	0.302	18%
Dentro de las madres	190	263.699	1.388	82%
Total	199	330.461	1.689	100%

Tabla 8. Valores estimados de estructura genética (Φ_{ft}), número efectivo de donadores de polen (N_{ep}) y distancia efectiva de dispersión de polen (δ) dada en metros: densidad de individuos reproductivos (R) y densidad de individuos reproductivos recientes (RR).

Localidad	Φ_{ft}	N_{ep}	δ R (m)	δ RR (m)
DC_C	0.183	2.732	15	40
DV_D	0.180	2.778	14	36
Ambos	0.178	2.809	15	40

Capítulo 4. Discusión

La especie *Yucca valida* es una planta endémica de la península de Baja California, su presencia en los desiertos es de importancia ecológica ya que proporciona sombra y refugio a la fauna de la región (e.g. Rivera y Rodriguez, 1998; Bezy et al., 2008; Servín et al., 2010). La variabilidad genética que presenta una especie nos permite conocer su potencial evolutivo (Piñero et al., 2008). A través de marcadores altamente variables como los microsatélites podemos estimar la variabilidad genética de *Y. valida* e inferir procesos como el flujo genético, que pueden hablarnos de la dinámica actual de sus poblaciones (Goldstein et al., 1999; Luikart y England, 1999; Piñero et al., 2008). El presente trabajo describe los primeros estimados de diversidad genética de *Yucca valida* y evaluó el flujo genético en diferentes escalas espaciales, así como la contribución de donadores de polen a las siguientes generaciones.

A lo largo de toda su distribución geográfica, *Yucca valida* presentó altos niveles de diversidad genética (119 alelos, $H_e=0.69$). Valores similares se han reportado para otras especies de la familia Asparagaceae, por ejemplo, *Yucca capensis* (137 alelos, $H_e=0.82$; Luna, 2018), *Yucca schidigera* (224 alelos, $H_e=0.792$; De la Rosa, datos no publicados) *Yucca brevifolia* (258 alelos, $H_e=0.77$; Flats et al., 2011) y *Agave potatorum* (Aguirre y Eguiarte, 2013). La menor diversidad alélica reportada en *Y. valida*, en comparación con otras especies del género *Yucca*, puede ser consecuencia del tamaño de muestra y del número de marcadores genéticos utilizados (Kalinowski, 2004). Por ejemplo, en este trabajo se utilizaron 100 individuos y 7 microsatélites, mientras que para *Y. brevifolia* con un esfuerzo de muestreo similar pero casi el doble de microsatélites se observaron el doble de alelos (113 individuos; 258 alelos; Flats et al., 2011). Con relación a los altos niveles de heterocigosis encontrados en *Y. valida* probablemente son explicados por su sistema de reproducción. Se ha reportado que la reproducción de las plantas del género *Yucca* es mayormente por entrecruzamiento (Pellmyr et al., 1997) y que presenta aborto selectivo de frutos producto de autopolinización (Huth y Pellmyr, 2000), lo cual les estaría permitiendo mantener altos niveles de diversidad genética (Hamrick y Godt, 1996; Massey y Hamrick, 1998).

Se detectó desequilibrio de Hardy-Weinberg por déficit de heterocigos, así como un alto valor del *Fis* ($Fis=0.2011$, $p=0.001$). Estos resultados sugieren la ocurrencia de endogamia en las localidades de *Y. valida*. Trabajos previos con otras especies también registran valores parecidos del *Fis* (e.g. *Y. capensis*, $Fis=0.1153$, Luna 2018; *Y. schidigera*, $Fis=0.236$, De la Rosa, datos no publicados). Este patrón de alta endogamia puede deberse al sistema de reproducción del género *Yucca* el cual es dependiente de sus polillas polinizadoras (Engelmann, 1872; Pellmyr y Thompson, 1992; Pellmyr, 2003). Se ha visto que las polillas del género *Tegeticula* mueven el polen mayormente entre plantas vecinas lo cual aumenta la

probabilidad de apareamiento entre individuos emparentados (Marr et al., 2000; Powell, 2013). Respecto a esto, en el presente trabajo se encontró que la dispersión de polen en *Y. valida* está sucediendo a cortas distancias (40 metros; Tabla 7) en un rango donde los genotipos de los individuos presentan mayor semejanza genética (<150 metros; Fig. 10). Esto sugiere que en *Y. valida* el apareamiento ocurre mayormente entre individuos genéticamente muy relacionados, aumentando la endogamia dentro de las localidades.

Con relación a la estructura genética, nueve de las diez localidades muestreadas presentaron un solo componente (Fig. 6 y 8). Sin embargo, los individuos de la localidad DV_G mostraron ser genéticamente diferentes a los demás y los análisis incluyendo esta localidad presentaron un incremento en los índices de estructura (e.g. $F_{st}=0.085$ vs $F_{st}=0.059$, con y sin DV_G respectivamente). Esta localidad presenta un gran número de alelos privados (20 alelos; Tabla 5). La diferenciación de DV_G puede ser producto de aislamiento geográfico. Con el suficiente tiempo de aislamiento la localidad DV_G pudo haber acumulado un gran número de alelos privados y comenzar a divergir. Diversos estudios en la península sugieren que la historia geológica de la región promovió el aislamiento y la diferenciación en los linajes de diferentes especies (e. g. Hewitt, 1996; Riddle et al., 2000; Garrick et al., 2009). Futuros estudios con más marcadores moleculares ayudarán a dilucidar la historia evolutiva de esta población.

Se encontró una diferenciación genética baja pero significativa entre las nueve localidades ($F_{st}=0.059$). La magnitud de la diferenciación encontrada en *Y. valida* es similar a la reportada para otras especies de amplia distribución geográfica de la familia Asparagaceae como *Y. schidigera* ($F_{st}=0.067$; De la Rosa, datos no publicados) *Y. brevifolia* ($F_{st}=0.061$; Starr et al., 2013) y *A. potatorum* ($F_{st}=0.099$; Aguirre y Eguiarte, 2013). Para este trabajo se evaluaron otros dos índices de estructura los cuales apoyan la ocurrencia de diferenciación genética entre localidades ($R_{st}=0.117$ y $D_{est}=0.126$; $p=0.001$). Debido a sus características, la comparación entre estos índices nos permite entender la importancia relativa de la mutación y deriva frente a las tasas de flujo genético (Hardy et al., 2003; Jost, 2008). Se ha sugerido que R_{st} suele ser superior a F_{st} cuando la mutación influye en la diferenciación de las poblaciones (Hardy et al., 2003). Por otro lado, con el suficiente tiempo de divergencia se pueden acumular muchos alelos privados incrementando el valor de D_{est} (Jost, 2008). Los valores aquí encontrados sugieren que el flujo genético limitado junto a la mutación y deriva está jugando un rol importante en la diferenciación de las localidades.

Con base en el análisis molecular de varianza, se detectó una diferenciación baja pero significativa entre la región norte, centro y sur de la distribución de *Y. valida* ($F_{st}=0.05$, $p=0.001$). Entre la región norte y centro, la actividad antropogénica (e.g., poblados, zonas de cultivo y ganadería) ha generado que las

poblaciones de *Y. valida* sean discontinuas en el paisaje y poco densas (Obs. Personales; SDEMARN, BCS, 2016). Entre la región centro y sur de la distribución no se cuentan con registros de la presencia de la especie (Turner et al., 1995). Por ello, se esperaba la ocurrencia de diferenciación genética entre estas regiones. Sin embargo, no fue así, y el análisis de componentes principales, así como STRUCTURE no muestran evidencia de esta regionalización (Fig. 6 y 7). Probablemente, las distancias geográficas que existen entre estas regiones están limitando, pero no evitando el flujo genético entre ellas. Slatkin (1985, 1987) sugirió que solo es necesaria una pequeña cantidad de flujo genético (1 individuo por generación) para mantener la homogeneidad genética.

Los resultados de la prueba de Mantel sugieren la ocurrencia de aislamiento por distancia (APD) en *Yucca valida*. El APD se observa cuando el flujo genético entre localidades decrece conforme aumenta la distancia geográfica entre ellas (Wright, 1943). En las especies del género *Yucca* este decremento en el flujo genético se espera debido a que los eventos de polinización y la dispersión de semillas ocurren de manera local (e.g., Waitman et al., 2012; Powell, 2013). Wright (1943) propuso que, dada una dispersión limitada, la deriva genética ocasionará que las poblaciones de una especie se diferencien más a distancias mayores. Por ejemplo, *Y. schidigera* se distribuye desde la latitud 36 °N hasta la latitud 29.5 °N y presentó APD ($r = 0.38$, $p = 0.004$; De la Rosa, datos no publicados), al igual que *Y. valida* ($r = 0.45$, $p = 0.02$) que se distribuye desde la latitud 30 °N hasta la latitud 22 °N. En contraste, *Y. capensis* cuya distribución se restringe a la región del cabo, no presentó APD ($r = 0.167$, $p = 0.929$; Luna, 2018). Aunque estas tres especies presentan las mismas restricciones en la dispersión e incluso *Y. valida* y *Y. capensis* comparten al mismo polinizador (*Tegeticua baja*; Pellmyr et al., 2007; Pellmyr et al., 2008), la amplia distribución geográfica de *Y. schidigera* y *Y. valida* evidencia las limitantes en el flujo genético.

Aunado a lo anterior, el efecto del APD también se observó en la relación genética entre los individuos de la distribución norte de *Y. valida*. Se encontró que antes de los 500 metros los individuos están genéticamente más relacionados que aquellos a distancias mayores (Fig. 10A), mostrando que la relación genética entre los individuos dentro de una localidad es mayor que entre los individuos de localidades diferentes. Se ha visto que la endogamia junto a mecanismos de dispersión limitada genera autocorrelación genética positiva (Loveless y Hamrick, 1984; Moran y Clark, 2012), y ambos aspectos fueron encontrados en *Y. valida*.

La mayor relación genética entre los genotipos de los individuos de *Y. valida* se encontró dentro de los primeros 150 metros ($r = 0.070 - 0.113$; Fig. 10B). Valores similares se han reportado en otras especies de plantas, por ejemplo, en la especie *Agave striata* la mayor relación genética entre individuos se encontró

antes de los 10 metros ($r=0.1-0.3$; Rives, 2009) y en *Quercus spp.* dentro de los primeros 40 metros ($r=0.05-0.15$; Moran y Clark, 2012). En las especies de plantas, que los individuos más cercanos presenten mayor similitud genética se relaciona a una dispersión limitada de semillas y/o polen, ya que la progenie puede ser producto de individuos emparentados y/o establecerse cerca de la planta progenitora (e.g., Moran y Clark, 2012; Addisalem et al., 2016).

En las especies del género *Yucca*, el flujo genético se da por dispersión de semillas y el movimiento de polen. La contribución de la dispersión de semillas ha sido poco estudiada. Se ha sugerido que los principales dispersores de semillas fueron la megafauna que existió hace 10 mil años aproximadamente, ya que los frutos de estas especies cuentan con las características de los frutos que estos animales consumían (Lenz, 2001). Por ejemplo, son de gran tamaño, carnosos, indehiscentes y con alto contenido de aceite y azúcares (Janzen, 1986; Lenz, 2001). Sin embargo, actualmente esta función la cumplen animales con un menor rango de movimiento. Por ejemplo, en la especie *Y. brevifolia* se observó que los principales dispersores fueron roedores que mueven las semillas hasta 30 metros de distancia desde la planta madre (Wall et al., 2006; Waitman et al., 2012). Es posible que para *Y. valida*, estos organismos estén cumpliendo un papel similar así como otros posibles vertebrados mayores como venados, berrendos e inclusive vacas (Delgado, 2013). Sin embargo, se requiere un estudio adecuado que evalúe la dispersión por semillas en esta especie.

Por otro lado, la contribución de la dispersión de polen al flujo genético se ha evaluado en otras especies de *Yuccas* (e.g. Massey y Hamrick, 1999; Marr et al., 2000). Para *Y. valida*, este estudio es el primer acercamiento a entender cuál es el papel del mismo en la conectividad genética de las poblaciones. Se encontró una dispersión promedio efectiva de polen de 40 metros (Tabla 8). Este resultado es concordante con lo observado en el movimiento y comportamiento de las polillas del género *Tegeticula*. Para *T. yuccasella* se observó que la transferencia de polen se llevó a cabo entre yuccas dentro de un rango de 0 a 50 metros de distancia (Marr et al., 2000). Para las hembras de la especie *T. maculata* se registraron movimientos entre plantas de hasta 53 metros (Powell, 2013). En ambos trabajos se concluye un movimiento de las polillas mayormente entre plantas vecinas. Sus resultados junto con lo obtenido en este trabajo sugieren un movimiento de polen limitado.

En contraste, la distancia de dispersión estimada con TwoGener para *Y. valida* ($\delta=40m$) resultó menor que la reportada para la especie *Y. filamentosa* obtenida a través de análisis de paternidad (promedio=141m; Max=300m; Massey y Hamrick, 1999). En general, se ha observado que los análisis de paternidad suelen obtener estimados superiores de distancia de dispersión en comparación a los obtenidos por TwoGener

(Smouse y Sork, 2004; Burczyk y Koralewski, 2005; Deacon y Cavender, 2015). En los análisis de paternidad la distancia entre la planta madre y la planta padre se mide de manera directa, mientras que el valor de δ en el análisis TwoGener se estima a partir de la densidad de individuos reproductivos (Austerlitz y Smouse, 2001; Smouse y Sork, 2004; Burczyk y Koralewski, 2005). Smouse y Sork (2004) sugieren que usualmente esta densidad es una sobre-estimación del número real de los “adultos efectivos” ya que algunos individuos producen menos polen que otros e incluso no todos los individuos adultos son capaces de reproducirse entre sí (e.g. asincronía, incompatibilidad genética). En el presente trabajo se intentó reducir ese sesgo con la estimación de la densidad de los individuos con reproducción reciente (solo individuos que tuvieron inflorescencia en el último evento reproductivo). Sin embargo, producir inflorescencia al mismo tiempo no asegura que todos los individuos tengan la misma probabilidad de producir descendencia (e.g. Burczyk et al., 1996; Smouse et al., 1999).

Para *Y. valida* se estimaron 2.8 donadores efectivos de polen por planta madre. Este resultado es similar al obtenido en *Y. filamentosa* donde el número de donadores estimado fue entre 1.56 y 3.13 por fruto (Massey y Hamrick, 1999). Se esperaba encontrar múltiples donadores de polen para *Y. valida* debido a que en diversos estudios se ha encontrado que los frutos que logran alcanzar la maduración son producto de diferentes eventos de ovoposición (Pellmyr y Huth, 1994; Addicott y Tyre, 1995; Massey y Hamrick, 1999). En relación a esto, se ha visto mayor preferencia de las polillas de polinizar/ovopositar en flores previamente visitadas por otras polillas (Addicott y Tyre, 1995). En contra parte, se ha observado que una gran carga de huevos de polilla en un ovario ocasionan el aborto de la flor (Aker y Udovic, 1981; Addicott et al., 1990). Lo anterior podría explicar porque no se obtuvo un valor mayor en el número de donadores de polen para *Y. filamentosa* y *Y. valida*. Probablemente, los valores obtenidos son producto del costo/beneficio entre los eventos de polinización por flor y el aborto selectivo de las mismas.

Por otra parte, también es importante tener en consideración que el número efectivo de donadores de polen (*Nep*) estimado por TwoGener es una subestimación del número real de donadores de polen (Smouse y Sork, 2004, 2006). Dónde a partir de la comparación del genotipo de las plantas madre con el genotipo de su progenie se hace la inferencia de la contribución de los gametos masculinos a la siguiente generación (Smouse et al., 2001). Es decir, para *Y. valida* se necesitan al menos 2.8 donadores de polen para explicar la variación genética encontrada en la progenie de las plantas madre (Smouse y Sork, 2006). Los resultados de este trabajo indicando altos índices de endogamia, fuerte relación genética de individuos y dispersión de polen a corta distancia, sugieren que la reproducción se da en su mayoría entre individuos genéticamente similares. Dado el escenario anterior, es posible que el número real de donadores de polen sea mayor, pero al estar tan relacionados genéticamente, los valores de *Nep* subestiman las fuentes.

En las especies de plantas, el flujo genético está íntimamente relacionado a la distribución espacial de los individuos y de las poblaciones (Loveless y Hamrick, 1984). Por ello, el presente trabajo se enfocó en evaluar el flujo genético de la especie *Y. valida* en un contexto geográfico/espacial. En conclusión, a escala espacial amplia se encontró estructura genética y un patrón de aislamiento por distancia. En una escala espacial menor, se encontró que los individuos más cercanos son genéticamente más similares. A su vez, se evaluó de manera indirecta el papel de la polilla polinizadora *Tegeticula baja* en el flujo genético de *Y. valida*, dónde se encontró que el polen está siendo movido a cortas distancias, pero la progenie de una planta es resultado de al menos 2.8 padres diferentes. Estos resultados indican que el flujo genético está ocurriendo a distancias cortas ocasionando aislamiento por distancia tanto a escala local, como a escala espacial amplia. En contra parte, los resultados de estructura genética sugieren que el flujo genético es suficiente para mantener la homogeneidad genética. A lo largo de las generaciones, el flujo genético bajo un modelo de “escalón” (stepping-stone model; Kimura, 1964) puede mantener la conectividad pese a las amplias distancias geográficas.

4.1 Temas a investigar

El papel que juega el flujo genético en la conectividad de las poblaciones es un área de interés para la genética de poblaciones, la genética del paisaje y la genética de la conservación. Se ha reconocido que las tasas de flujo genético pueden influir en el destino evolutivo de las poblaciones (Ellstrand 1992). Por ello, determinar la distribución de la variación genética, así como el papel que juega el flujo genético en ésta, continúan siendo temas de estudio. El presente trabajo evaluó con herramientas moleculares el flujo genético en la especie *Yucca valida*. Se proponen algunas líneas de investigación que permitan entender mejor los resultados obtenidos, así como temas de investigación que surgen a partir de ellos.

Las conclusiones obtenidas en este trabajo se verían reforzadas con estudios básicos de la biología de la especie. Son altamente sugeridos, estudios sobre la fenología de *Y. valida* a lo largo de toda su distribución. Es necesario tener un estimado más preciso de la densidad de individuos reproductivos, así como de la asincronía de la floración entre los individuos de una localidad y entre localidades. También se sugiere un estudio que evalúe la relación de los aspectos climáticos (e.g. temperatura y precipitación) con la floración y éxito reproductivo de las plantas.

Son necesarios estudios en *Y. valida* acerca de la dispersión por medio de semillas. Es importante conocer quiénes son los dispersores actuales, evaluar las distancias de dispersión de semillas y la frecuencia de los eventos a larga distancia de este tipo de dispersión.

Es recomendable incrementar el número de localidades para el análisis TwoGener. Para los propósitos de este trabajo, las localidades DC_C y DV_G fueron escogidas como réplicas. Sin embargo, *Y. valida* se encuentra distribuida en un amplio rango ambiental que ocasiona que a lo largo de su distribución las localidades presenten variación en las densidades de individuos y por tanto en la disponibilidad del polen. Es importante evaluar el efecto de estos cambios en los estimadores de TwoGener (Φ_{ft} , Nep y δ).

Los factores que explican la distribución de la diversidad genética de *Y. valida* no solo son eventos actuales, sino que son a su vez reflejo de la historia evolutiva de la especie. Por ejemplo, la diferenciación encontrada en la localidad DV_G probablemente es producto de eventos históricos de aislamiento que pueden ser evaluados con más marcadores moleculares. Un estudio filogeográfico puede ayudarnos a entender la historia demográfica de la especie, así como permitirnos evaluar diferentes escenarios de aislamiento geográfico que correspondan a la historia geológica de la península de Baja California.

Bajo el escenario de flujo genético limitado las especies del género *Yucca* son vulnerables a la fragmentación del hábitat. La pérdida de conectividad implica un aumento en el aislamiento genético de las poblaciones (Aguilar et al., 2008), así como la pérdida de individuos reproductivos lo cual limita la disponibilidad de polen (Cascante et al., 2002; Quesada et al., 2013). A través de las generaciones, esta limitante puede causar pérdida de la variabilidad genética debido a altos niveles de endogamia (Aguilar et al., 2008; Quesada et al., 2013). Es recomendable realizar el análisis TwoGener en las otras dos especies de la península, *Y. schidigera* y *Y. capensis*, ya que éstas presentan presión antropogénica (explotación y cambio de uso de suelo, respectivamente).

Capítulo 5. Conclusiones

En el presente trabajo se concluye que:

1. La especie *Yucca valida* presenta alta diversidad genética.
2. La especie *Yucca valida* presenta niveles significativos de endogamia debido a que la reproducción está ocurriendo mayormente entre individuos genéticamente relacionados.
3. A escala geográfica amplia, *Y. valida* presenta aislamiento por distancia y diferenciación baja pero significativa entre localidades. El flujo genético limitado en conjunto a procesos de mutación y deriva dentro de las localidades podrían estar ocasionando esta diferenciación.
4. A escala geográfica local, los individuos más cercanos son genéticamente más similares como consecuencia de una limitada dispersión de polen.
5. Finalmente, se encontró que el movimiento de polen en *Y. valida* es limitado. Este resultado es concordante con los movimientos a corta distancia que se han reportado para las polillas del género *Tegeticula* y sugiere que los donantes de polen son en su mayoría plantas cercanas a las plantas madre.

Literatura citada

- Addicott, J. F., Bronstein, J., y Kjellberg, F. (1990). Evolution of mutualistic life-cycles: yucca moths and fig wasps. *Insect life cycles*, pp. 143-161.
- Addicott, J. F., y Tyre, A. J. (1995). Cheating in an obligate mutualism: how often do yucca moths benefit yuccas?. *Oikos*, pp. 382-394.
- Addisalem, A. B., Duminil, J., Wouters, D., Bongers, F., y Smulders, M. J. (2016). Fine-scale spatial genetic structure in the frankincense tree *Boswellia papyrifera* (Del.) Hochst. and implications for conservation. *Tree genetics & genomes*, **12**(5): 86.
- Aguilar, R., Quesada, M., Ashworth, L., Herrerias-Diego, Y. V. O. N. N. E., y Lobo, J. (2008). Genetic consequences of habitat fragmentation in plant populations: susceptible signals in plant traits and methodological approaches. *Molecular ecology*, **17**(24): 5177-5188.
- Aguirre-Dugua, X., y Eguiarte, L. E. (2013). Genetic diversity, conservation and sustainable use of wild *Agave cupreata* and *Agave potatorum* extracted for mezcal production in Mexico. *Journal of Arid Environments*, **90**: 36-44.
- Aker, C. L., y Udovic, D. (1981). Oviposition and pollination behavior of the yucca moth, *Tegeticula maculata* (Lepidoptera: Prodoxidae), and its relation to the reproductive biology of *Yucca whipplei* (Agavaceae). *Oecologia*, **49**(1): 96-101.
- Aljanabi, S. M., y Martinez, I. (1997). Universal and rapid salt-extraction of high quality genomic DNA for PCR-based techniques. *Nucleic acids research*, **25**(22): 4692-4693.
- Austerlitz, F., Dick, C. W., Dutech, C., Klein, E. K., Oddou-Muratorio, S., Smouse, P. E., y Sork, V. L. (2004). Using genetic markers to estimate the pollen dispersal curve. *Molecular ecology*, **13**(4): 937-954.
- Austerlitz, F., y Smouse, P. E. (2001). Two-generation analysis of pollen flow across a landscape. II. Relation between Φ_{ft} , pollen dispersal and interfemale distance. *Genetics*, **157**(2): 851-857.
- Austerlitz, F., y Smouse, P. E. (2001). Two-generation analysis of pollen flow across a landscape. III. Impact of adult population structure. *Genetics Research*, **78**(3): 271-280.
- Austerlitz, F., y Smouse, P. E. (2002). Two-generation analysis of pollen flow across a landscape. IV. Estimating the dispersal parameter. *Genetics*, **161**(1): 355-363.
- Bezy, R. L., Bezy, K. B., y Bolles, K. (2008). Two new species of night lizards (Xantusia) from Mexico. *Journal of Herpetology*, **42**(4): 680-688.
- Bittencourt, J. V. M., y Sebbenn, A. M. (2008). Pollen movement within a continuous forest of wind-pollinated *Araucaria angustifolia*, inferred from paternity and TwoGener analysis. *Conservation Genetics*, **9**(4): 855-868.

- Bogler, D. J., Neff, J. L., y Simpson, B. B. (1995). Multiple origins of the yucca-yucca moth association. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **92**(15): 6864-6867.
- Browne, L., Ottewell, K., Sork, V. L., y Karubian, J. (2018). The relative contributions of seed and pollen dispersal to gene flow and genetic diversity in seedlings of a tropical palm. *Molecular Ecology*, **27**(15): 3159-3173
- Burczyk, J., Adams, W. T., y Shimizu, J. Y. (1996). Mating patterns and pollen dispersal in a natural knobcone pine (*Pinus attenuate Lemmon.*) stand. *Heredity*, **77**(3): 251.
- Burczyk, J., y Koralewski, T. E. (2005). Parentage versus two-generation analyses for estimating pollen-mediated gene flow in plant populations. *Molecular Ecology*, **14**(8): 2525-2537.
- Byrne, M., Elliott, C. P., Yates, C., y Coates, D. J. (2007). Extensive pollen dispersal in a bird-pollinated shrub, *Calothamnus quadrifidus*, in a fragmented landscape. *Molecular Ecology*, **16**(6): 1303-1314.
- Carabias, L. J., Provencio, E., de la Maza, E. J., Gutiérrez, C. D., Gómez, C. M., y Sánchez, S. V. (2000). Programa de Manejo Reserva de la Biosfera El Vizcaíno, México. *Instituto Nacional de Ecología*.
- Cascante, A., Quesada, M., Lobo, J. J., y Fuchs, E. A. (2002). Effects of dry tropical forest fragmentation on the reproductive success and genetic structure of the tree *Samanea saman*. *Conservation biology*, **16**(1): 137-147.
- Chapuis, M.P., y A. Estoup. (2007). Microsatellite null alleles and estimation of population differentiation. *Mol. Biol. Evol.*, **24**(3): 621-631.
- CONANP. (2013). Ficha técnica: Valle de los Cirios. Área de protección de Flora y Fauna. Recuperado el 24 de julio de 2018, en: simec.conanp.gob.mx/ficha_pdf.php?anp=121yreg=
- Deacon, N. J., y Cavender-Bares, J. (2015). Limited pollen dispersal contributes to population genetic structure but not local adaptation in *Quercus oleoides* forests of Costa Rica. *PLoS one*, **10**(9): e0138783.
- Delgado, M. (2013). Evaluación geográfica y poblacional de *Yucca valida*: Bases Técnicas para su aprovechamiento en Baja California. Tesis de maestría, Universidad Autónoma de Baja California.
- Dempster, A. P., Laird, N. M., y Rubin, D. B. (1977). Maximum likelihood from incomplete data via the EM algorithm. *Journal of the Royal Statistical Society: Series B (Methodological)*, **39**(1): 1-22.
- Dutech, C., Sork, V. L., Irwin, A. J., Smouse, P. E., y Davis, F. W. (2005). Gene flow and fine-scale genetic structure in a wind-pollinated tree species, *Quercus lobata* (Fagaceae). *American Journal of Botany*, **92**(2): 252-261.
- Earl, D. A. (2012). STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. *Conservation genetics resources*, **4**(2): 359-361.

- Ellstrand, N. C. (1992). Gene flow among seed plant populations. *Population genetics of forest trees*, pp. 241-256
- Engelmann, G. (1872). The flower of *Yucca* and its fertilization. *Bulletin of the Torrey Botanical Club*, **3**(7): 33-33.
- Ennos, R. (1994). Estimating the relative rates of pollen and seed migration among plant populations. *Heredity*, **72**(3): 250.
- Flatz, R., Yoder, J. B., Lee-Barnes, E., y Smith, C. I. (2011). Characterization of microsatellite loci in *Yucca brevifolia* (Agavaceae) and cross-amplification in related species. *American journal of botany*, **98**(3): e67-e69.
- Garrick, R. C., Nason, J. D., Meadows, C. A., y Dyer, R. J. (2009). Not just vicariance: phylogeography of a Sonoran Desert euphorb indicates a major role of range expansion along the Baja peninsula. *Molecular Ecology*, **18**(9): 1916-1931.
- Garrido-Garduño, T., y Vázquez-Domínguez, E. (2013). Métodos de análisis genéticos, espaciales y de conectividad en genética del paisaje. *Revista mexicana de biodiversidad*, **84**(3): 1031-1054.
- Goldstein, D. B. (1999). Microsatellites. *Evolution and application*.
- González-Abraham, C. E., Garcillán, P. P., Ezcurra, E., & de Ecorregiones Grupo, G. D. T. (2010). Ecoregions of Baja California peninsula: A synthesis. *Botanical Sciences*, **87**, 69-82.
- Hamrick, J. L., y Godt, M. W. (1996). Effects of life history traits on genetic diversity in plant species. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, **351**(1345): 1291-1298.
- Hardy, O. J., Charbonnel, N., Fréville, H., y Heuertz, M. (2003). Microsatellite allele sizes: a simple test to assess their significance on genetic differentiation. *Genetics*, **163**(4): 1467-1482.
- Hardy, O. J., González-Martínez, S. C., Colas, B., Fréville, H., Mignot, A., y Olivieri, I. (2004). Fine-scale genetic structure and gene dispersal in *Centaurea corymbosa* (Asteraceae). II. Correlated paternity within and among sibships. *Genetics*, **168**(3): 1601-1614.
- Hewitt, G. M. (1996). Some genetic consequences of ice ages, and their role in divergence and speciation. *Biological journal of the Linnean Society*, **58**(3): 247-276.
- Hirao, A. S., Kameyama, Y., Ohara, M., Isagi, Y., y Kudo, G. (2006). Seasonal changes in pollinator activity influence pollen dispersal and seed production of the alpine shrub *Rhododendron aureum* (Ericaceae). *Molecular Ecology*, **15**(4): 1165-1173.
- Huth, C. J., y Pellmyr, O. (2000). Pollen-mediated selective abortion in yuccas and its consequences for the plant-pollinator mutualism. *Ecology*, **81**(4): 1100-1107.

- Isagi, Y., Tateno, R., Matsuki, Y., Hirao, A., Watanabe, S., y Shibata, M. (2007). Genetic and reproductive consequences of forest fragmentation for populations of *Magnolia obovata*. *Sustainability and Diversity of Forest Ecosystems*, pp. 382-389.
- Janzen, D. H. (1986). Chihuahuan desert nopaleras: defaunated big mammal vegetation. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **17**(1): 595-636.
- Jha, S., y Dick, C. W. (2010). Native bees mediate long-distance pollen dispersal in a shade coffee landscape mosaic. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **107**(31): 13760-13764.
- Jost, L. O. U. (2008). GST and its relatives do not measure differentiation. *Molecular ecology*, **17**(18): 4015-4026.
- Kalinowski, S. T. (2004). Counting alleles with rarefaction: private alleles and hierarchical sampling designs. *Conservation genetics*, **5**(4): 539-543.
- Kimura, M., y Weiss, G. H. (1964). The stepping stone model of population structure and the decrease of genetic correlation with distance. *Genetics*, **49**(4): 561.
- Lenz, L. W. (2001). Seed Dispersal in *Yucca Brevifolia* (Agavaceae)-Present and Past, With Consideration of the Future of the Species. *Aliso: A Journal of Systematic and Evolutionary Botany*, **20**(2): 61-74.
- Loiselle, B. A., Sork, V. L., Nason, J., y Graham, C. (1995). Spatial genetic structure of a tropical understory shrub, *Psychotria officinalis* (Rubiaceae). *American journal of botany*, **82**(11): 1420-1425.
- Loveless, M. D., y Hamrick, J. L. (1984). Ecological determinants of genetic structure in plant populations. *Annual review of ecology and systematics*, **15**(1): 65-95.
- Luikart, G., y England, P. R. (1999). Statistical analysis of microsatellite DNA data. *Trends in Ecology & Evolution*, **14**(7): 253-256.
- Luna, P. A. (2018). Diversidad genética de *Yucca capensis* (Asparagaceae): planta endémica de la Sierra de la Laguna. Tesis de maestría, Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada.
- Malécot, G. (1950). Quelques schémas probabilistes sur la variabilité des populations naturelles. *Annales de l'Université de Lyon A*, Vol. 13, pp. 37-60.
- Manel, S., Schwartz, M. K., Luikart, G., y Taberlet, P. (2003). Landscape genetics: combining landscape ecology and population genetics. *Trends in ecology & evolution*, **18**(4): 189-197.
- Marr, D. L., Leebens-Mack, J., Elms, L., y Pellmyr, O. (2000). Pollen dispersal in *Yucca filamentosa* (Agavaceae): the paradox of self-pollination behavior by *Tegeticula yuccasella* (Prodoxidae). *American Journal of Botany*, **87**(5): 670-677.

- Massey, L. K., y Hamrick, J. L. (1998). Genetic diversity and population structure of *Yucca filamentosa* (Agavaceae). *American Journal of Botany*, **85**(3): 340-345.
- Massey, L. K., y Hamrick, J. L. (1999). Breeding structure of a *Yucca filamentosa* (Agavaceae) population. *Evolution*, **53**(4): 1293-1298.
- Montano, V., Eriksson, A., Manica, A., y Moodley, Y. (2013). Current Approaches in Spatial Genetics. *Evolutionary Biology: Exobiology and Evolutionary Mechanisms*, pp. 217-229.
- Moran, E. V., y Clark, J. S. (2012). Between-site differences in the scale of dispersal and gene flow in red oak. *PLoS One*, **7**(5): e36492.
- Nei, M. (1987). Molecular evolutionary genetics. *Columbia University press*.
- Nora, S., Albaladejo, R. G., Martínez, S. G., Robledo-Arnuncio, J. J., y Aparicio, A. (2011). Movimiento de genes (polen y semillas) en poblaciones fragmentadas de plantas. *Revista Ecosistemas*, **20**(2-3).
- Nunney, L. (2016). The effect of neighborhood size on effective population size in theory and in practice. *Heredity*, **117**(4): 224.
- Peakall, R. O. D., y Smouse, P. E. (2006). GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular ecology notes*, **6**(1): 288-295.
- Pellmyr, O., y Thompson, J. N. (1992). Multiple occurrences of mutualism in the yucca moth lineage. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **89**(7): 2927-2929.
- Pellmyr, O., y Huth, C. J. (1994). Evolutionary stability of mutualism between yuccas and yucca moths. *Nature*, **372**(6503): 257.
- Pellmyr, O., Massey, L. K., Hamrick, J. L., y Feist, M. A. (1997). Genetic consequences of specialization: yucca moth behavior and self-pollination in yuccas. *Oecologia*, **109**(2): 273-278.
- Pellmyr, O. (2003). Yuccas, yucca moths, and coevolution: a review. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 35-55.
- Pellmyr, O., Segraves, K. A., Althoff, D. M., Balcázar-Lara, M., y Leebens-Mack, J. (2007). The phylogeny of yuccas. *Molecular phylogenetics and evolution*, **43**(2): 493-501.
- Pellmyr, O., Balcázar-Lara, M., Segraves, K. A., Althoff, D. M., y Littlefield, R. J. (2008). Phylogeny of the pollinating yucca moths, with revision of Mexican species (Tegeticula and Parategeticula; Lepidoptera, Prodoxidae). *Zoological Journal of the Linnean Society*, **152**(2): 297-314.
- Piñero, D., Caballero-Mellado, J., Cabrera-Toledo, D., Canteros, C. E. Casas, A., y Castañeda-Sortibrán, A. (2008). La diversidad genética como instrumento para la conservación y el aprovechamiento de la biodiversidad: estudios en especies mexicanas. *Capital natural de México*, **1**: 437-494.

- Powell, J. A. (2013). Longevity and Individual Activity of the Yucca Moth, *Tegeticula maculata extranea* (Prodoxidae), Based on Mark-Release Monitoring. *The Journal of the Lepidopterists' Society*, **67**(3): 187-195.
- Pritchard, J. K., Stephens, M., y Donnelly, P. (2000). Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, **155**(2): 945-959.
- Quesada, M., Herrerías-Diego, Y., Lobo, J. A., Sánchez-Montoya, G., Rosas, F., y Aguilar, R. (2013). Long-term effects of habitat fragmentation on mating patterns and gene flow of a tropical dry forest tree, *Ceiba aesculifolia* (Malvaceae: Bombacoideae). *American Journal of Botany*, **100**(6): 1095-1101.
- R Development Core Team (2008). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.Rproject.org>.
- Riddle, B. R., Hafner, D. J., Alexander, L. F., y Jaeger, J. R. (2000). Cryptic vicariance in the historical assembly of a Baja California Peninsular Desert biota. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **97**(26): 14438-14443.
- Rivera-Rodríguez, L. B., y Rodríguez-Estrella, R. (1998). Breeding Biology of the Crested Caracara in the Cape Region of Baja California, Mexico (Biología Reproductiva del Caracara en la Región del Cabo de baja California, México). *Journal of Field Ornithology*, 160-168.
- Rives, R. C. (2009). Diversidad clonal y estructura genética espacial en escala fina de *Agave striata* Zucc. Tesis de licenciatura, Universidad Nacional Autónoma de México.
- Rousset, F. (2008). Genepop'007: a complete re-implementation of the genepop software for Windows and Linux. *Molecular ecology resources*, **8**(1): 103–106.
- SDEMARN. (2016). Datos básicos de Baja California Sur. Recuperado el 30 de Agosto de 2019, en: http://sdemarn.bcs.gob.mx/docs/publicaciones/1_Datos_Basicos_BCS_2016.pdf
- Savolainen, O., Pyhäjärvi, T., y Knürr, T. (2007). Gene flow and local adaptation in trees. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.*, **38**: 595-619.
- Servín, R., Tejas, A., Palacios, C., Cota, A., Domínguez, R., y Domínguez, M. (2010). Seasonal and host-plant associated population changes of *Homalodisca liturata* Ball in northwest Mexico. *Southwestern Entomologist*, **35**(3): 251-260.
- Shreve, F., y Wiggins, I. L. (1951). Vegetation of the Sonoran desert. *Carnegie institution of Washington*.
- Slatkin, M. (1985). Gene flow in natural populations. *Annual review of ecology and systematics*, 393-430.
- Slatkin, M. (1987). Gene flow and the geographic structure of natural populations. *Science*, **236**(4803): 787-792.

- Slatkin, M. (1995). A measure of population subdivision based on microsatellite allele frequencies. *Genetics*, **139**(1): 457-462.
- Smouse, P. E., y Peakall, R. (1999). Spatial autocorrelation analysis of individual multiallele and multilocus genetic structure. *Heredity*, **82**(5): 561-573.
- Smouse, P. E., Meagher, T. R., y Kobak, C. J. (1999). Parentage analysis in *Chamaelirium luteum* (L.) Gray (Liliaceae): why do some males have higher reproductive contributions?. *Journal of Evolutionary Biology*, **12**(6): 1069-1077.
- Smouse, P. E., Dyer, R. J., Westfall, R. D., y Sork, V. L. (2001). Two-generation analysis of pollen flow across a landscape. I. Male gamete heterogeneity among females. *Evolution*, **55**(2): 260-271.
- Smouse, P. E., y Sork, V. L. (2004). Measuring pollen flow in forest trees: an exposition of alternative approaches. *Forest Ecology and Management*, **197**(1-3): 21-38.
- Smouse, P. E., Peakall, R. O. D., y Gonzales, E. V. A. (2008). A heterogeneity test for fine-scale genetic structure. *Molecular ecology*, **17**(14): 3389-3400.
- Sork, V. L., Nason, J., Campbell, D. R., y Fernandez, J. F. (1999). Landscape approaches to historical and contemporary gene flow in plants. *Trends in Ecology y Evolution*, **14**(6): 219-224.
- Sork, V. L., y Smouse, P. E. (2006). Genetic analysis of landscape connectivity in tree populations. *Landscape ecology*, **21**(6): 821-836.
- Starr, T. N., Gadek, K. E., Yoder, J. B., Flatz, R., y Smith, C. I. (2013). Asymmetric hybridization and gene flow between Joshua trees (Agavaceae: *Yucca*) reflect differences in pollinator host specificity. *Molecular Ecology*, **22**(2): 437-449.
- Turchetto, C., Lima, J. S., Rodrigues, D. M., Bonatto, S. L., y Freitas, L. B. (2015). Pollen dispersal and breeding structure in a hawkmoth-pollinated Pampa grasslands species *Petunia axillaris* (Solanaceae). *Annals of botany*, **115**(6): 939-948.
- Turner, R. M., Bowers, J. E., y Burgess, T. L. (1995). Sonoran Desert plants: an ecological atlas. *University of Arizona Press*.
- Vander Wall, S. B., Esque, T., Haines, D., Garnett, M., y Waitman, B. A. (2006). Seed-caching rodents disperse joshua tree (*Yucca brevifolia*) seeds. *Ecoscience*, **13**(4): 539-543.
- Vekemans, X., y Hardy, O. J. (2004). New insights from fine-scale spatial genetic structure analyses in plant populations. *Molecular ecology*, **13**(4): 921-935.
- Waitman, B. A., Vander Wall, S. B., y Esque, T. C. (2012). Seed dispersal and seed fate in Joshua tree (*Yucca brevifolia*). *Journal of Arid Environments*, **81**: 1-8.

Wang, J., Kang, M., Gao, P., y Huang, H. (2010). Contemporary pollen flow and mating patterns of a subtropical canopy tree *Eurycorymbus cavaleriei* in a fragmented agricultural landscape. *Forest ecology and management*, **260**(12): 2180-2188.

Wright, S. (1943). Isolation by distance. *Genetics*, **28**(2): 114.

Wright, S. (1946). Isolation by distance under diverse systems of mating. *Genetics*, **31**(1): 39.

Wright, S. (1965). The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to systems of mating. *Evolution*, **19**(3): 395-420.

Anexo 1

Tabla 9. Lista de alelos encontrados en cada uno de los 7 loci microsatélites usados en los análisis de *Yucca valida*.

Yucbre04	Yucbre06	Yucbre12	Yucbre20	Yucbre21	Yucbre22	Msat-36
122	204	116	181	105	149	151
124	206	118	185	107	153	153
126	208	120	187	109	155	155
128	210	122	203	111	157	157
132	212	124	205	113	158	159
134	220	126	211	115	159	161
136	222	128	213	117	161	163
138	224		215	119	163	165
140	226		217	121	167	169
142	228		219	123	169	173
144	230		221	127	187	181
146	232		223	129	189	183
148	234		225			185
150	236		227			187
152	238		229			191
154	240		231			197
156	242		233			203
158	244		235			205
160	246		237			
162	248		239			
164	250		241			
	252		243			
	254		245			
	258		247			
	260					

Anexo 2

Tabla 10. Matriz de *Fst* pareados entre las 10 localidades evaluadas de *Yucca valida*.

DC_A	DC_B	DC_C	DV_D	DV_E	DV_F	DV_G	DV_H	DV_I	PM_J	
0.000										DC_A
0.056	0.000									DC_B
0.058	0.088	0.000								DC_C
0.027	0.019	0.033	0.000							DV_D
0.032	0.068	0.018	0.035	0.000						DV_E
0.043	0.132	0.083	0.063	0.032	0.000					DV_F
0.190	0.210	0.172	0.134	0.150	0.169	0.000				DV_G
0.035	0.065	0.064	0.018	0.030	0.000	0.156	0.000			DV_H
0.052	0.121	0.094	0.050	0.063	0.036	0.185	0.033	0.000		DV_I
0.104	0.080	0.072	0.059	0.073	0.103	0.145	0.083	0.121	0.000	PM_J

Anexo 3

Tabla 11. Análisis de autocorrelación genética espacial de los individuos de la distribución norte de *Yucca valida*. **A)** Análisis global de los individuos de *Yucca valida* con distribución norte **B)** Análisis de individuos a un rango de distancia menor a 500 metros. Se muestra: número total de comparaciones pareadas por clase de distancia (n), coeficiente de relación (r) y significancia estadística (p).

A)

Clase de distancia	0.5	15	40	66	92
n	225	200	200	200	200
r	0.053	-0.018	0.010	-0.014	-0.033
p	0.002	0.948	0.179	0.084	0.008

B)

Clase de distancia	0	50	100	150	200
n	44	63	44	49	25
r	0.113	0.070	0.078	-0.005	-0.008
p	0.002	0.003	0.006	0.570	0.593

Anexo 4

Tabla 12. Matriz de Φft pareadas entre las 10 plantas madre evaluadas por medio de TwoGener.

Madre 1	Madre 2	Madre 3	Madre 4	Madre 5	Madre 6	Madre 7	Madre 8	Madre 9	Madre 10	
0.000										M1
0.289	0.000									M2
0.291	0.038	0.000								M3
0.210	0.069	0.106	0.000							M4
0.234	0.132	0.162	0.162	0.000						M5
0.142	0.155	0.215	0.134	0.170	0.000					M6
0.292	0.223	0.160	0.214	0.201	0.312	0.000				M7
0.241	0.058	0.128	0.049	0.162	0.169	0.149	0.000			M8
0.221	0.142	0.154	0.060	0.210	0.201	0.215	0.083	0.000		M9
0.154	0.170	0.168	0.117	0.174	0.150	0.199	0.118	0.104	0.000	M10

Anexo 5

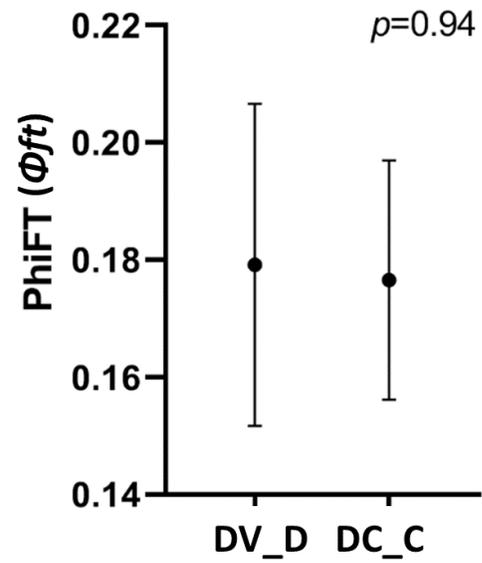


Figura 11. Comparación entre la Φ_{ft} de las dos localidades evaluadas por medio de TwoGener.