



Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C.

Posgrado en Ciencias Biológicas

**FLUJO GENÉTICO E INTROGRESIÓN ENTRE  
POBLACIONES DOMESTICADAS Y SILVESTRES  
DEL FRIJOL LIMA (*PHASEOLUS LUNATUS* L.) EN  
LA PENÍNSULA DE YUCATÁN, MÉXICO**

Tesis que presenta

Mauricio Heredia Pech

En opción al título de

**MAESTRO EN CIENCIAS**

(Ciencias Biológicas: Recursos naturales)

Mérida, Yucatán, México

2020

CENTRO DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA DE YUCATÁN, A. C.  
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS



**RECONOCIMIENTO**

Por medio de la presente, hago constar que el trabajo de tesis de **Mauricio Heredia Pech** titulado “**Flujo genético e introgresión entre poblaciones domesticadas y silvestres del frijol lima (*Phaseolus lunatus* L.) en la península de Yucatán, México**” fue realizado en el laboratorio de Fisiología Ambiental de Plantas de la Unidad de Recursos Naturales, en la línea Servicios Ambientales de la Biodiversidad, del **Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C.** bajo la dirección del(os) **Director(es) de tesis: Dra. Mariana Chávez Pesqueira y Dr. Jaime Martínez Castillo**, perteneciente al Programa de Posgrado en Ciencias Biológicas dentro de la opción de Recursos Naturales de este Centro.

**Atentamente**



---

**Dra. Cecilia Hernández Zepeda**  
**Directora de Docencia**

Mérida, Yucatán, México, a 26 de enero de 2021

Mérida, Yucatán, México, a 27 de febrero de 2020

**MÉRIDA, YUCATÁN, MÉXICO; FEBRERO 2021**

## **DECLARACIÓN DE PROPIEDAD**

Declaro que la información contenida en la sección de Materiales y Métodos Experimentales, los Resultados y Discusión de este documento proviene de las actividades de experimentación realizadas durante el período que se me asignó para desarrollar mi trabajo de tesis, en las Unidades y Laboratorios del Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C., y que a razón de lo anterior y en contraprestación de los servicios educativos o de apoyo que me fueron brindados, dicha información, en términos de la Ley Federal del Derecho de Autor y la Ley de la Propiedad Industrial, le pertenece patrimonialmente a dicho Centro de Investigación. Por otra parte, en virtud de lo ya manifestado, reconozco que de igual manera los productos intelectuales o desarrollos tecnológicos que deriven o pudieran derivar de lo correspondiente a dicha información, le pertenecen patrimonialmente al Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C., y en el mismo tenor, reconozco que si derivaren de este trabajo productos intelectuales o desarrollos tecnológicos, en lo especial, estos se registrarán en todo caso por lo dispuesto por la Ley Federal del Derecho de Autor y la Ley de la Propiedad Industrial, en el tenor de lo expuesto en la presente Declaración.

Firma:



---

Nombre: Mauricio Heredia Pech

## **AGRADECIMIENTOS**

Mis más profundos y especiales agradecimientos a las personas que más han confiado en mí, mi familia. Siempre estaré enormemente agradecido por el gran apoyo y confianza que me han brindado, especialmente durante estos años en la maestría. Por y para ustedes.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca que me fue otorgada como un apoyo económico para la realización del estudio del posgrado.

Al Centro de Investigación Científica de Yucatán (CICY) por abrirme sus puertas, hacerme sentir siempre como en casa y fungir como *alma mater* para mi formación académica y profesional.

A mis directores de tesis, la Dra. Mariana Chávez Pesqueira y el Dr. Jaime Martínez Castillo, por haber confiado en mi e impulsarme en un gradual crecimiento a través de los meses de formación. Gracias por la paciencia, la constante preocupación por mi aprendizaje y por los conocimientos que me fueron compartidos.

A mi comité tutorial conformado por mis asesores, así como por la Dra. María Isabel Chacón Sánchez y el Dr. Rubén Andueza Noh. Se les agradece enormemente por sus comentarios y aportaciones brindadas a lo largo del desarrollo de este trabajo de investigación.

Al Dr. Jaime Mijangos Cortés por haber sido parte de mi comité revisor, por sus comentarios y aportaciones a este trabajo, así como durante los seminarios de la unidad.

A los técnicos del laboratorio de marcadores moleculares de la Unidad de Recursos Naturales, especialmente a la Q.F.B. Matilde (Maty), al Biol. Néstor (Né) y al Biol. Jaime Muñoz, por toda su ayuda técnica y conocimientos de laboratorio. Pero especialmente gracias por su amistad y cálida bienvenida desde el primer día.

A mis compañeros de la Unidad de Recursos Naturales, del laboratorio de marcadores moleculares y a toda la línea de agrobiodiversidad. A mis buenos amigos Pedro y Marisol, por siempre estar dispuestos a ayudarme y apoyarme, así como hacer más amenas las mañanas y tardes en el cubículo.

A mis grandes amigos: Michelle, Javier y Cassiel. Los cuales estuvieron siempre para apoyarme en aquellas noches y amaneceres que pasamos juntos, en las cuales disfrutamos momentos que siempre recordaré con afecto.

## ÍNDICE

INDICE DE FIGURAS.....	iii
ÍNDICE DE CUADROS.....	vi
RESUMEN.....	vii
ABSTRACT.....	viii
CAPÍTULO I.....	1
1.1 ANTECEDENTES.....	1
1.2. FLUJO GENÉTICO.....	1
1.2.1 INTROGRESIÓN GENÉTICA.....	3
1.2.3. FLUJO GENÉTICO E INTROGRESIÓN GENÉTICA SILVESTRE-DOMESTICADO.....	4
1.3. FRIJOL LIMA (PHASEOLUS LUNATUS L.): MODELO DE ESTUDIO.....	7
1.3.1. DISTRIBUCIÓN Y ESTRUCTURA DE LOS ACERVOS GENÉTICOS DEL FRIJOL LIMA.....	9
1.3.2. EL ACERVO GENÉTICO MESOAMERICANO DEL FRIJOL LIMA EN MÉXICO.....	11
1.3.3. LA PENÍNSULA DE YUCATÁN: LABORATORIO NATURAL PARA ESTUDIAR EL FLUJO GENÉTICO E INTROGRESIÓN EN EL FRIJOL LIMA.....	12
1.3.4. ANTECEDENTES SOBRE FLUJO GENÉTICO E INTROGRESIÓN SILVESTRE-DOMESTICADO EN EL FRIJOL LIMA DE LA PENÍNSULA DE YUCATÁN.....	14
1.4. ENFOQUES MOLECULARES EN EL ESTUDIO DEL FLUJO GENÉTICO E INTROGRESIÓN SILVESTRE-DOMESTICADO.....	15
1.4.1. MARCADORES DE POLIMORFISMO DE UN SOLO NUCLEÓTIDO (SNPS).....	17
JUSTIFICACIÓN.....	19
PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN.....	20
HIPÓTESIS.....	21
OBJETIVO GENERAL.....	22
OBJETIVOS PARTICULARES.....	22
CAPITULO II.....	23
EL EFECTO DEL FLUJO GENÉTICO E INTROGRESIÓN EN LA ESTRUCTURA Y DIVERSIDAD GENÉTICA DE LAS POBLACIONES DE FRIJOL LIMA EN LA PENÍNSULA DE YUCATÁN, MÉXICO.....	23
2.1 INTRODUCCIÓN.....	23
2.2 METODOLOGÍA.....	25
2.2.1. ÁREA DE ESTUDIO.....	25
2.2.2. MATERIAL VEGETAL.....	25
2.2.3. EXTRACCIÓN Y VERIFICACIÓN DE LA CALIDAD DEL ADN.....	32

2.2.4. DETECCIÓN DE SNPs.....	33
2.2.5. GRADO Y DIRECCIÓN DEL FLUJO GENÉTICO A NIVEL REGIONAL. ....	33
2.2.6. DIVERSIDAD Y ESTRUCTURA DEL FRIJOL LIMA EN LA PENÍNSULA DE YUCATÁN. ....	34
2.2.7. INTROGRESIÓN GENÉTICA EN DOS COMPLEJOS INTER-REPRODUCTIVOS SILVESTRE-ARVENSE-DOMESTICADO DEL FRIJOL LIMA. ....	35
<b>2.3. RESULTADOS .....</b>	<b>37</b>
2.3.1. GRADO Y DIRECCIÓN DEL FLUJO GENÉTICO DE FRIJOL LIMA EN LA PENÍNSULA DE YUCATÁN. ....	37
2.3.2. INTROGRESIÓN GENÉTICA EN DOS COMPLEJOS SILVESTRE-ARVENSE-DOMESTICADO. ....	44
<b>2.4. DISCUSIÓN.....</b>	<b>61</b>
2.4.1. EFECTO DEL FLUJO GENÉTICO ENTRE POBLACIONES SILVESTRES Y DOMESTICADAS DEL FRIJOL LIMA DE LA PENÍNSULA DE YUCATÁN EN SU ESTRUCTURA Y DIVERSIDAD GENÉTICA .....	61
2.4.1.1 GRADO Y DIRECCIONALIDAD DEL FLUJO GENETICO SILVESTRE-DOMESTICADO .....	61
2.4.1.2 ESTRUCTURA GENETICA.....	63
2.4.1.3 DIVERSIDAD GENETICA. ....	65
2.4.2 INTROGRESIÓN GENÉTICA EN DOS COMPLEJOS SILVESTRE-ARVENSE-DOMESTICADO DE LA PENÍNSULA DE YUCATÁN. ....	66
<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>73</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>74</b>
<b>Anexos.....</b>	<b>92</b>
<b>Anexo 1 .....</b>	<b>92</b>
<b>Anexo 2.....</b>	<b>93</b>
<b>Anexo 3.....</b>	<b>94</b>
<b>Anexo 4.....</b>	<b>95</b>

## INDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.1.</b> Representación esquemática del complejo silvestre-arvense-domesticado en un entorno natural modificado donde se producen cruzas en todas las direcciones..	5
<b>Figura 1.2.</b> Semillas de frijol Lima. Cultigrupos del frijol Lima cultivado ( <i>P. lunatus</i> var. <i>lunatus</i> ): A) Gran Lima; B) Papa; C) Sieva. Modificado de Ruiz-Gil, 2018.	8
<b>Figura 1.3.</b> Semillas de frijol Lima silvestre del acervo genético Mesoamericano ( <i>P. lunatus</i> var. <i>silvester</i> ).	9
<b>Figura 1.4.</b> Distribución geográfica de los acervos Mesoamericanos MI, MII y el acervo Andino AI. Modificado de Chacón-Sánchez & Martínez-Castillo, 2017	10
<b>Figura 1.5.</b> Distribución geográfica de los grupos MI y MII del acervo Mesoamericano del frijol Lima silvestre en México. Triángulos rojos, grupo MI; círculos verdes, grupo MII. Modificado de Chacón-Sánchez & Martínez-Castillo, 2017.	12
<b>Figura 1.6.</b> Pasos para la construcción de librerías mediante GBS: 1) Colocación y secado del ADN, adaptadores y códigos de barras; 2-3) digestión de las muestras con la enzima de restricción ApeKI y ligación de los adaptadores a los fragmentos de ADN; 4) inactivación de la ligasa T4 mediante calentamiento; 5) uso de primers con sitios de unión a los adaptadores y realización de la PCR para aumentar el número de fragmentos; 6-7) limpieza de los productos de la PCR y verificación de los fragmentos. Las librerías sin dímeros de adaptadores son conservadas para la secuenciación de los fragmentos de ADN (Modificado de Elshire <i>et al.</i> , 2011).	16
<b>Figura 2.1.</b> Mapa con la ubicación geográfica de los datos de colecta proporcionados por Chacón-Sánchez & Martínez-Castillo (2017), Martínez-Castillo (2018) y las accesiones silvestres “puras” MII colectadas en los estados de Tabasco y Campeche.	27
<b>Figura 2.2.</b> Mapa con la ubicación geográfica de los dos sitios de contacto genético silvestre-arvense-domesticado: 1) Complejo Dzitnup, triángulo azul; y 2) Complejo Itzinté, triángulo rojo.	28
<b>Figura 2.3.</b> Esquema de la colecta realizada en los tres sitios del complejo Dzitnup.	29
<b>Figura 2.4.</b> Morfotipos pertenecientes al Complejo Dzitnup. A) Semillas cultivadas puras; B) Semillas colectadas en la milpa y con rasgos intermedios; C) Semillas silvestres puras.	30
<b>Figura 2.5.</b> Esquema de la colecta realizada en los tres sitios del complejo Itzinté.	31
<b>Figura 2.6.</b> Morfotipos pertenecientes al Complejo Itzinté. A) Semillas cultivadas puras; B) Semillas colectadas en la milpa, creciendo silvestres y con rasgos intermedios; C) Semillas silvestres puras.	32
<b>Figura 2.7.</b> Topología Neighbor-Joining que muestra las relaciones genéticas entre las accesiones colectadas en la PY y las accesiones del grupo control: accesiones domesticadas del acervo MI de la PY (grupo rojo), accesiones domesticadas del acervo	



MI de otros estados de México (grupo naranja); accesión domesticada de la PY (color rosa); accesiones silvestres de acervo MII (grupo verde), con la numeración de los subgrupos; accesiones silvestres del acervo genético MI colectadas fuera de la PY (grupo azul) y accesiones del acervo genético Andino (grupo amarillo). ..... 38

**Figura 2.8.** Análisis de Coordenadas Principales de las accesiones silvestres y domesticadas del frijol Lima de la Península de Yucatán y las accesiones del grupo control: accesiones domesticadas MI de la PY (color negro); accesiones domesticadas MI colectadas fuera de la PY (color naranja); accesiones silvestres MI colectadas fuera de la PY (color azul); accesiones silvestres MII de la PY (color verde); accesión domesticada MII de la PY (color rosa); accesiones Andinas (color amarillo)..... 40

**Figura 2.10.** Prueba de asignación de individuos de las accesiones de frijol Lima de la Península de Yucatán identificados por acervo genético y estado biológico (silvestre o domesticado) y utilizando valores de  $K=2-4$ , utilizando 15,171 SNPs. .... 42

**Figura 2.9.** Gráfica del valor delta K que determina el número ideal de grupos presentes en los acervos genéticos del frijol Lima en la Península de Yucatán..... 42

**Figura 2.11.** Gráfica del valor delta K que determina el número ideal de grupos presentes en el complejo Itzinté. .... 45

**Figura 2.12.** Coeficientes de ancestría estimados para el complejo Itzinté. Cada individuo está representado por una columna. La asignación de la parte inferior de la figura corresponde a las características morfológicas al momento de colecta y su ubicación: la asignación de la parte superior de la figura representa la agrupación de acuerdo a los análisis de asignación con el programa STRCUTURE: S, individuos silvestres; D, individuos domesticados; las flechas señalan a los 4 individuos reconocidos como “admixed” ..... 45

**Figura 2.13.** Topología Neighbor-Joining que muestra la relación genética entre los grupos del complejo Itzinté. Los individuos pertenecientes al grupo silvestre se muestran en color verde, con la numeración de sus respectivos subgrupos; los individuos pertenecientes al grupo Individuos con mezcla genética se muestran en color azul, con la numeración de sus respectivos subgrupos; los individuos pertenecientes al grupo domesticado se muestran en color rojo, con la numeración de sus respectivos subgrupos. .... 47

**Figura 2.14.** Análisis de coordenadas principales del Complejo Itzinté. Los individuos pertenecientes al grupo silvestre se muestran en color verde, con una flecha indicando la sub-agrupación de los individuos colectados en las ruinas de Xcalumkín. Los individuos pertenecientes al grupo domesticado se muestran en color rojo, con una flecha indicando la sub-agrupación de los individuos colectados en el huerto familiar en el poblado de Dzitnup. Los individuos pertenecientes al grupo de individuos con mezcla genética se muestran en color azul, con una flecha señalando la sub-agrupación de los individuos que son considerados como “arvenses” según los resultados de las pruebas realizadas con STRUCTURE y PCoA..... 48

**Figura 2.15.** Representación de las introgresiones intergénicas entre individuos del acervo genético silvestre y domesticado del frijol Lima, basada en los análisis realizados

con NGSEP. El grupo genético silvestre en color azul y el domesticado en color rojo, están representados a través de los 11 cromosomas. Cada individuo está representado por una columna. La asignación del lado izquierdo (PL, Phaseolus lunatus) indica el número de cromosoma; la asignación del lado derecho representa el tamaño en Mb de cada cromosoma. ....	51
<b>Figura 2.16.</b> Gráfica del valor delta K que determina el número ideal de grupos presentes en el complejo Dzitnup.....	52
<b>Figura 2.17.</b> Coeficientes de ancestría estimada, para el complejo Dzitnup. Cada individuo está representado por una sola columna. La asignación de la parte de abajo de la figura fue la que se realizó inicialmente al momento de realizar la colecta a partir de las características morfológicas y su ubicación, la asignación de la parte de arriba de la figura representa la agrupación real posterior a los análisis con el programa STRUCTURE: S, individuos silvestres; D, individuos domesticados; las flechas señalan a los 5 individuos arvenses reconocidos. ....	53
<b>Figura 2.18.</b> Topología Neighbor-Joining que muestra la relación genética entre los grupos del complejo Dzitnup. Los individuos pertenecientes al grupo silvestre en color verde, con la numeración de sus respectivos subgrupos; individuos pertenecientes al grupo Individuos con mezcla genética en color azul, con la numeración de sus respectivos subgrupos, y en el cual únicamente el subgrupo 1 es considerado como “arvense” según la prueba de asignación de individuos de STRUCTURE; individuos pertenecientes al grupo domesticado en color rojo, con la numeración de sus respectivos subgrupos.....	54
<b>Figura 2.19.</b> Análisis de coordenadas principales del Complejo Dzitnup, en Campeche, México. Los individuos pertenecientes al grupo silvestre se muestran en color verde, con una flecha indicando la sub-agrupación de los individuos colectados en las ruinas de Xcalumkín. Los individuos pertenecientes al grupo domesticado se muestran en color rojo, con una flecha indicando la sub-agrupación de los individuos colectados en el huerto familiar en el poblado de Dzitnup. Los individuos pertenecientes al grupo de individuos con mezcla genética se muestran en color azul, con una flecha señalando la sub-agrupación de los individuos que son considerado como “arvenses” según los resultados de las pruebas realizadas con STRUCTURE y el PCoA. ....	56
<b>Figura 2.20.</b> Representación de las introgresiones intergénicas entre individuos del acervo genético silvestre y domesticado del frijol Lima, basada en los análisis realizados con NGSEP. El grupo genético silvestre en color azul y el domesticado en color rojo, están representados a través de los 11 cromosomas. Cada individuo está representado por una columna. La asignación del lado izquierdo (PL, Phaseolus lunatus) indica el número de cromosoma; la asignación del lado derecho representa el tamaño en Mb de cada cromosoma. ....	60

## ÍNDICE DE CUADROS

<b>Cuadro 2.1.</b> Tasas de migración entre accesiones domesticadas y silvestres de frijol Lima en la Península de Yucatán, utilizando 15,171 marcadores SNPs. ....	37
<b>Cuadro 2.2.</b> Estimadores de diversidad genética de las accesiones silvestres y domesticadas de frijol Lima colectadas en la Península de Yucatán, usando 15,171 marcadores SNPs.....	43
<b>Cuadro 2.3.</b> Estimadores de diversidad genética dentro del complejo Itzinté, en Campeche, México. ....	49
<b>Cuadro 2.4.</b> Lista de eventos de introgresión interpoblacionales dentro del complejo Itzinté. Inicio y final: indican en que parte del cromosoma se encuentra el segmento introgresado; Longitud: indica la cobertura total del (os) segmento (s) introgresado (s); Grupo genético: indica el acervo al cual pertenece el individuo; Haplotipo introgresado: indica el grupo genético al cual pertenece el segmento introgresado. ....	50
<b>Cuadro 2.5.</b> Estimadores de diversidad genética dentro del complejo Dzitnup, en Campeche, México. ....	57
<b>Cuadro 2.6.</b> Lista de eventos de introgresión interpoblacionales dentro del complejo Dzitnup. Inicio y final: indican en que parte del cromosoma se encuentra el segmento introgresado; Longitud: indica la cobertura total del (os) segmento (s) introgresado (s); Grupo genético: indica el acervo al cual pertenece el individuo; Haplotipo introgresado: indica el grupo genético al cual pertenece el segmento introgresado. ....	59

## RESUMEN

El frijol Lima (*Phaseolus lunatus*) es una especie de gran importancia en la Península de Yucatán (PY), México, región en donde es un cultivo de subsistencia utilizado para autoconsumo por las comunidades mayas de esta región. En esta región se ha reportado la existencia de flujo genético e introgresión entre poblaciones domesticadas y silvestres de frijol Lima; sin embargo, los estudios realizados al día de hoy han tenido poca cobertura genómica (8-12 loci de marcadores microsatélites). El objetivo central de este estudio fue evaluar el papel del flujo genético e introgresión en la diversidad y estructura genética del frijol Lima en la PY, utilizando marcadores genómicos. Para cumplir con este objetivo, primero se realizó un análisis regional usando 121 accesiones silvestres y domesticadas de frijol Lima; después, el análisis se realizó al interior de dos complejos inter-reproductivos con diferentes años de antigüedad usando 72 individuos. En ambos casos, se utilizaron 15,171 marcadores SNPs y los datos fueron analizados utilizando un enfoque de genómica de poblaciones. A nivel regional, los resultados obtenidos mostraron: a) un flujo genético histórico bajo y asimétrico (programa MIGRATE-n), que fue predominante de accesiones domesticadas hacia las silvestres (Tasas de migración:  $D \rightarrow S = 161.06$ ,  $S \rightarrow D = 105.08$ ); b) una estructura genética marcada entre las accesiones silvestres y domesticadas (análisis con N-J, PCoA y Structure) y; c) una diversidad genética mayor en el acervo silvestre en comparación con el acervo domesticado ( $H_e = 0.27$  y  $H_e = 0.17$ , respectivamente). A nivel de complejos inter-reproductivos se encontró: a) un mayor número de introgresiones en Dzitnup (complejo con menor antigüedad); b) a pesar de la diferencia en antigüedad, no se observó una diferencia clara en la estructura genética de ambos complejos; c) una diversidad genética mayor en los individuos arvenses de ambos complejos (Itzinté:  $H_e = 0.43$  y Dzitnup:  $H_e = 0.42$ ), seguido de los individuos domesticados ( $H_e = 0.33$  y  $H_e = 0.36$ , respectivamente) y los silvestres ( $H_e = 0.43$  y  $H_e = 0.42$ , respectivamente). Los resultados encontrados en este estudio sugieren que el flujo genético y la introgresión juegan un papel importante en la estructura y diversidad genética del frijol Lima en la PY, dependiendo del nivel de análisis abordado. Características intrínsecas de la especie (predominancia a la autogamia, ciclo de vida corto y dispersión limitada) y el rol de los agricultores (selección artificial y en contra de individuos arvenses), son dos clases de factores determinantes en el grado y direccionalidad de ambos procesos. Los resultados obtenidos son importantes para entender la dinámica evolutiva del frijol Lima en la PY y para su conservación; así como pueden ser de utilidad en programas de mejoramiento genético de esta especie.

## ABSTRACT

The Lima bean (*Phaseolus lunatus*) is a species of great importance in the Yucatan Peninsula (YP), México, a region where it is a subsistence crop used for self-consumption by the Mayan communities of the region. In the YP the existence of gene flow and introgression between domesticated and wild populations of Lima bean has been reported; however, the studies conducted so far used a low genomic coverage (8-12 microsatellite marker loci). The main objective of this study was to evaluate the role of gene flow and introgression in the diversity and genetic structure of Lima beans in the YP, using genomic markers (SNPs). To achieve this objective, first a regional analysis was carried out using 121 wild and domesticated Lima bean accessions; moreover, the analysis was carried out within two inter-reproductive complexes with different years of antiquity using 72 individuals. In both cases, 15,171 SNP markers were used and the data were analyzed using a population genomics approach. At the regional level, the results obtained showed: a) a low and asymmetric historical gene flow (using MIGRATE-n software), which was predominant from domesticated accessions to wild ones (Migration rates:  $D \rightarrow S=161.06$ ,  $S \rightarrow D=105.08$ ); b) a marked genetic structure between wild and domesticated accessions (analysis with N-J, PCoA and Structure software) and; c) a higher genetic diversity in the wild gene pool compared to the domesticated gene pool ( $H_e=0.27$  and  $H_e=0.17$ , respectively). At the inter-reproductive complexes level the results showed: a) a greater number of introgressions in Dzitnup (complex with less antiquity); b) no clear difference is indicated in the genetic structure of both complexes, despite the difference in antiquity; c) a greater genetic diversity in the weedy individuals of both complexes (Itzinté:  $H_e=0.43$  and Dzitnup:  $H_e=0.42$ ), followed by domesticated individuals ( $H_e=0.33$  and  $H_e=0.36$ , respectively) and wild ones ( $H_e=0.43$  and  $H_e=0.42$ , respectively). The results found in this study suggest that gene flow and introgression play an important role in the structure and genetic diversity of Lima beans in the YP. Intrinsic characteristics of the species (predominance of autogamy, short life cycle and limited dispersal) and the role of farmers (artificial selection and against weedy individuals) are determining factors in the degree and directionality of both processes. The results obtained are important to understand the evolutionary dynamics of Lima beans in the YP and for their conservation, and can be useful in genetic improvement programs for this species.

# **CAPÍTULO I**

## **1.1 ANTECEDENTES.**

La evolución, en términos biológicos, se puede definir como el cambio en las frecuencias alélicas en una población a lo largo del tiempo (Wilson & Bossert, 1971). Considerando la síntesis evolutiva moderna, existen cuatro principales fuerzas evolutivas responsables de generar variación en las especies y que marcarán el rumbo microevolutivo de éstas: mutación, deriva génica, selección natural y flujo genético (Eguiarte *et al.*, 2013). La importancia de estas fuerzas evolutivas ha sido discutida por diversos autores (Stebbins, 1950; Wright, 1932; Fisher, 1930; Haldane, 1926), los cuales sentaron las bases del área de estudio conocida como Genética de Poblaciones, la cual se enfoca en el estudio de las fuerzas microevolutivas y de cómo éstas representan fuentes de variación en las especies (Millstein & Skipper, 2007). La importancia y el papel de cada una de estas fuerzas microevolutivas en la estructura y diversidad genética dentro y entre las poblaciones ha sido un tema de discusión en el área de la biología evolutiva desde mediados del Siglo XX; en particular, la importancia del flujo genético ha sido ampliamente discutida con diferentes puntos de vista, muchas veces encontrados, en cuanto a su verdadero papel en los procesos evolutivos (Ellstrand, 2014).

## **1.2. FLUJO GENÉTICO.**

El flujo genético, definido por Petit & Excoffier (2009) como el movimiento de genes entre poblaciones por procesos de dispersión, es una fuerza evolutiva que representa una de las mayores fuentes de variación genética en las poblaciones. El flujo genético tiene un efecto principalmente unificador, debido a que la existencia de éste favorece la homogenización de las frecuencias alélicas entre poblaciones que se encuentran geográficamente separadas (Futuyma, 1998). El flujo genético fue reconocido como una fuerza evolutiva potencialmente significativa en la teoría matemática de la Genética de Poblaciones, inicialmente desarrollada por autores como Haldane y Wright (Slatkin, 1985; 1987). Sin embargo, también se llegó a desestimar la importancia de esta fuerza en la evolución de las especies, argumentando que el flujo genético, principalmente entre poblaciones, era demasiado bajo como para prevenir la divergencia y que el aislamiento por distancia era un factor determinante para el impedimento de un flujo genético efectivo (Levin, 1979; Levin & Kerster, 1947; Ehrlich & Raven, 1969); sin embargo, estas aseveraciones fueron basadas,

principalmente, en estudios sobre movimiento de animales, y dispersión de semillas y polen, por lo que ofrecían escasa información acerca de tasas de flujo genético y movimiento de alelos, enfocándose más en migración (Ellstrand, 2014). Lo que es una realidad, en el caso particular de las plantas, es que el flujo genético varía en gran medida a través de las especies, poblaciones, entre individuos de una población e incluso en el tiempo, lo que hace imposible realizar aseveraciones generales acerca del impacto evolutivo del flujo genético, ya que cada especie o población atraviesa procesos diferentes y deben de estudiarse caso por caso (Ellstrand, 2014).

Un punto de inflexión en la historia que ayudó a posicionar al flujo genético como una fuerza evolutiva significativa en la evolución de las especies fue el desarrollo de los marcadores moleculares (inicialmente marcadores basados en enzimas y posteriormente en marcadores de ADN microsatélite) y nuevos estudios para determinar la paternidad, en los cuales la simple exclusión por observación fue remplazada por una serie de métodos basados en la máxima similitud y enfoques Bayesianos, lo que permitió aprovechar mejor los conjuntos de datos basados en ADN (Hatfield *et al.*, 2006). A su vez, se desarrollaron diversos métodos estadísticos para utilizar los patrones de variación de las frecuencias alélicas entre poblaciones para estimar indirectamente el porcentaje del número de migrantes por generación ( $Nm$ , donde  $N$  es el tamaño poblacional y  $m$  la tasa de migración) (Neigel, 1997; Slatkin, 1987; 1985).

En la actualidad, el flujo genético es reconocido como una fuerza evolutiva muy importante que puede mantener el tamaño efectivo de la población (Lynch, 2010) y permite la conectividad genética entre las poblaciones de una especie actuando como “pegamento” y evitando la divergencia de sus poblaciones (Mayr, 1942). Además, se reconoce que niveles bajos de flujo genético ( $Nm \geq 1$ ) son lo suficientemente efectivos como para equilibrar los efectos de detrimento de la deriva génica, mutación y selección moderada (Slatkin, 1987, 1985; Wright, 1969). Así, hoy día se reconoce que el flujo genético tiene un papel fundamental en la configuración de la estructura y diversidad genética entre y dentro de las poblaciones naturales, incluso en especies con tasas de dispersión o entrecruzamiento bajas (Yan *et al.*, 2010; Papa, 2005; Philipp, Madsen & Siegismund, 1992; Soltis, & Soltis, 1987).

### **1.2.1. INTROGRESIÓN GENÉTICA.**

Uno de los resultados posibles de la existencia de flujo genético es la hibridación. Ésta se define como el cruce de individuos provenientes de poblaciones genéticamente diferenciadas y al organismo resultante del entrecruzamiento se le denomina “híbrido” (Rhymer y Simberloff, 1996). La formación de descendencia híbrida genera la posibilidad de, en caso de tener la capacidad de reproducirse, un flujo genético potencial con las poblaciones parentales (Goulet, Roda & Hopkins, 2016), lo cual podría llevar a la existencia de un proceso conocido como introgresión genética, también llamada “hibridación introgresiva”. Este es un término que fue descrito por primera vez por Anderson & Hubricht (1938) y se define como la incorporación permanente de genes de una población a otra, seguida por la recurrente retrocruza de los híbridos con alguno de sus parentales y viceversa (Rhymer y Simberloff, 1996; Anderson, 1953).

A diferencia del flujo genético, la introgresión fue reconocida desde el principio del desarrollo de la Genética de Poblaciones como un proceso importante en la evolución biológica; por ejemplo, Anderson & Stebbins (1954) creían que la introgresión de alelos de una especie a otra tenía un gran potencial como estímulo evolutivo. Hoy en día, la introgresión genética sigue siendo reconocida como un proceso importante en la evolución de las especies (Hufford *et al.*, 2013). Los individuos introgresados suelen demostrar diferencias en cuanto a su adaptabilidad cuando están expuestos a diferentes hábitats, incluso mayor a la de sus parentales (Fritz *et al.*, 2003; Arnold *et al.*, 1999; Arnold & Hodges, 1995). Además, durante los eventos de introgresión también puede ocurrir la transferencia de genes adaptativos entre especies, subespecies o poblaciones, los cuales inclusive pueden llegar a generar la variación suficiente para una posterior diversificación, si llegara a surgir algún tipo de barrera reproductiva entre los grupos (Stebbins, 1959). La introgresión por sí sola puede representar una fuerza evolutivamente “innovadora” al introducir nueva variación genética, posiblemente adaptativa, en una población (Goulet, Roda & Hopkins, 2016). Actualmente, los estudios genómicos sobre introgresión entre especies relacionadas están comenzando a ofrecer nuevas ideas acerca de las consecuencias evolutivas de la hibridación y la arquitectura genética de la especiación (Martin & Jiggins, 2017).



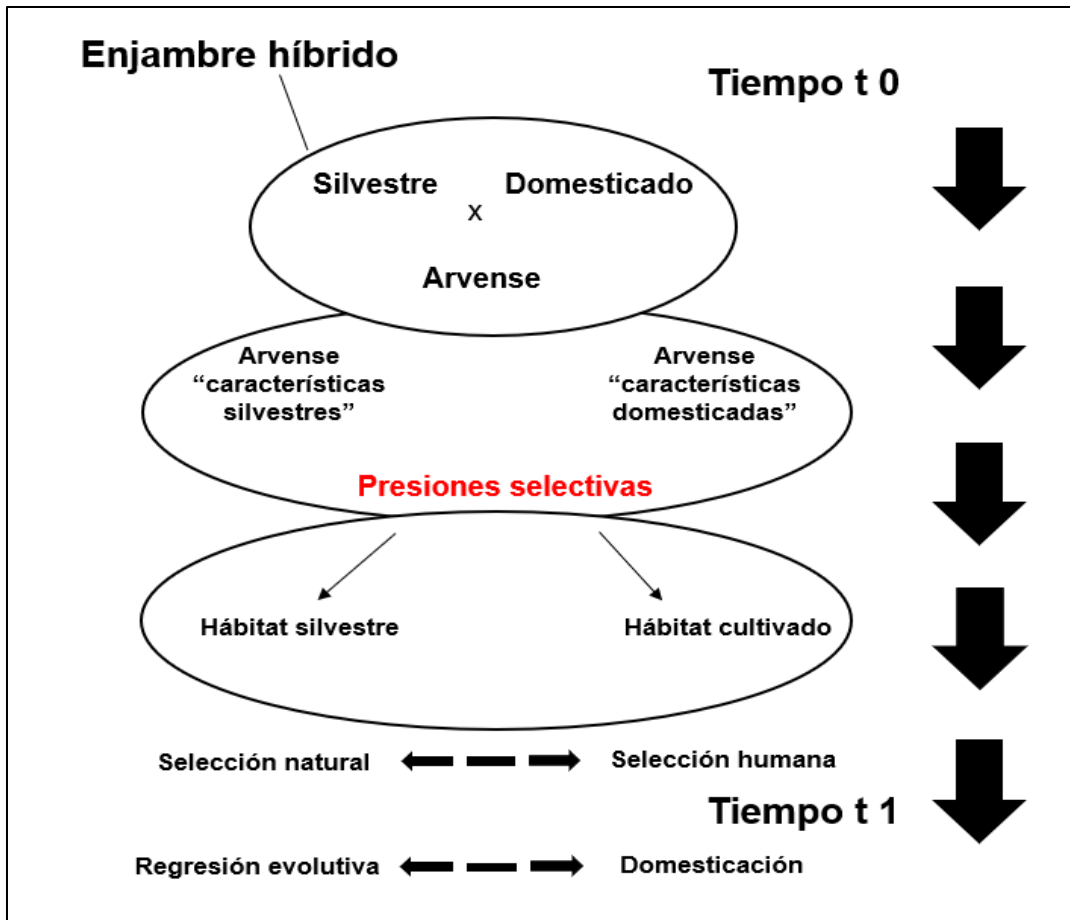
### **1.2.3. FLUJO GENÉTICO E INTROGRESIÓN GENÉTICA SILVESTRE-DOMESTICADO.**

Las plantas son un buen modelo de estudio para medir el flujo genético y la introgresión, en particular, las plantas con semillas. Éstas se convirtieron en los organismos ideales para estimar tasas de flujo genético desde mediados del Siglo XX y continúan teniendo un rol principal hoy en día (Ashley, 2010), tanto para estudios descriptivos como experimentales, ya que generalmente los individuos son estacionarios, mientras las semillas y el polen son móviles (Ellstrand, 2014).

En el caso particular de las plantas domesticadas y sus parientes silvestres, muchas veces pertenecer a la misma especie, o a especies genéticamente cercanas, la ocurrencia de flujo genético posibilita su entrecruzamiento natural y la generación de descendencia fértil (Harlan & de Wet, 1971). La existencia de flujo genético y posterior hibridación-introgresión puede incrementar si las poblaciones domesticadas y silvestres de plantas: a) son sexualmente compatibles, b) crecen en extrema proximidad y dentro del rango de vuelo del polinizador (en caso de ser polinizadas por insectos) o dentro del rango de polinización a través del viento, c) sus tiempos de floración coinciden parcial o totalmente, o comparten fenología similar (Papa, 2005; Papa & Gepts, 2003).

En algunos casos, la hibridación y posterior introgresión entre poblaciones domesticadas y sus parientes silvestres pueden ocasionar la formación de individuos conocidos como “arvenses”, los cuales suelen presentar características intermedias entre las formas silvestres y domesticadas (Papa, 2005). Los individuos arvenses, al desarrollarse dentro de las áreas de cultivo en uso o abandonadas, pueden actuar como un “puente genético” que favorecen aún más el flujo genético y la introgresión silvestre-domesticado (Reagon & Snow, 2006; Papa, 2005). La coexistencia de individuos silvestres, arvenses y cultivados forma así un continuo genético conocido como “enjambre híbrido”, el cual puede llegar a establecerse a través del tiempo y las generaciones (Beebe *et al.*, 1997) (Figura 1.1). Estas zonas de contacto son también nombradas como “complejos inter-reproductivos silvestre-arvense-cultivado” en los cuales son frecuentes los eventos de introgresión genética que suelen dar como resultado el surgimiento de una gran variedad de individuos con herencia intermedia (Ellstrand *et al.*, 2013).

El efecto que el flujo y la introgresión génica pueden tener sobre las poblaciones depende del grado y la dirección en la que se mueven los genes, ya que la estructura genética de las poblaciones silvestres y domesticadas puede ser diferente (Papa 2005; Ellstrand, Prentice & Hancock, 1999). Particularmente en las especies domesticadas, las cuales se ven afectadas por un fuerte efecto de cuello de botella durante el proceso de domesticación (Doebley *et al.*, 2006), el flujo y la introgresión genética con sus parientes silvestres pueden jugar un papel fundamental en la evolución post-domesticación de las especies.



**Figura 1.1.** Representación esquemática del complejo silvestre-arvense-domesticado en un entorno natural modificado donde se producen cruzas en todas las direcciones. El círculo inferior se refiere al enjambre híbrido de poblaciones segregadas a lo largo del tiempo. Las presiones de selección direccional pueden orientar los sucesivos enjambres híbridos hacia un estado salvaje (lado izquierdo) o uno domesticado (lado derecho). Modificado de Beebe *et al.*, 1996.

Los posibles efectos del flujo de genes entre las especies domesticadas y sus parientes silvestres han sido ampliamente discutidos por Ellstrand (2013; 2010; 2003; 1999), donde ha sugerido que:

- Cuando existe un flujo de genes predominantemente de los parientes silvestres hacia las poblaciones domesticadas, este puede tener un efecto significativo en el aumento de la diversidad genética de los cultivos (Martínez-Castillo *et al.*, 2007), representar una importante fuente de variación genética (Jarvis & Hodking, 1999) o restaurar parcialmente la baja diversidad genética de las poblaciones domesticadas (Bard *et al.*, 2000). El aumento en la variabilidad genética que pueden obtener las especies cultivadas proveniente de sus parientes silvestres mediante el flujo genético puede ser tan importante que inclusive representa una herramienta utilizada en planes de mejoramiento genético (Dempewolf *et al.*, 2017), principalmente dirigidos a mejorar especies con importancia económica (Rosyara *et al.*, 2019; Baute *et al.*, 2015; Nemeth *et al.*, 2015; Caruso, Broglia & Pocovi, 2015). Sin embargo, la introducción de variación genética de parientes silvestres a poblaciones domesticadas no siempre es benéfico, al menos no para los agricultores, ya que híbridos pueden perder rasgos importantes que suelen ser característicos de las plantas domesticadas, como por ejemplo la dormancia de las semillas (Hernández *et al.*, 2017).
- Cuando el flujo genético ocurre predominantemente de las poblaciones domesticadas hacia las poblaciones silvestres, este puede impactar negativamente en la diversidad genética de los parientes silvestres al ocasionar la reducción de la misma. Esta reducción en la diversidad genética puede incrementar las tasas de extinción en poblaciones nativas y reducir el potencial evolutivo, es decir, la capacidad de una población para adaptarse a cambios ambientales (Epps *et al.*, 2005); así como el surgimiento de variedades híbridas o “arvenses” más agresivas (Papa & Gepts, 2003).

Otra de las implicaciones importantes que puede surgir del flujo de genes entre los parientes silvestres y sus contrapartes domesticadas, particularmente en el caso de organismos transgénicos, es el escape o “fuga” de transgenes a los ecosistemas naturales

mediante hibridación espontánea o involuntaria. Especialmente en los centros de origen, esto representa una gran preocupación ya que representa uno de los principales riesgos ambientales potenciales de los cultivos transgénicos (Hails, 2000). El ingreso de transgenes dentro de poblaciones silvestres que crecen simpátrica o peripátricamente con poblaciones cultivadas incrementa el riesgo potencial de la transferencia de nuevos genes que pueden ser indeseables desde un punto de vista agronómico en poblaciones silvestres (ej. tolerancia a herbicidas) que pueden favorecer el desarrollo de variedades arvenses más resistentes (Jenczewski, Ronfort & Chevre, 2003). Existe evidencia del escape de transgenes en algunos de los principales cultivos a nivel mundial como el maíz (Chaparro-Giraldo *et al.*, 2015), trigo (Dong, 2016), arroz (Serrat, 2013) y algodón (Wegier *et al.*, 2011).

### **1.3. FRIJOL LIMA (PHASEOLUS LUNATUS L.): MODELO DE ESTUDIO.**

*Phaseolus* es un género con al menos 50 especies que crecen naturalmente en regiones cálidas tropicales y subtropicales de América, desde Sinaloa, México, hasta Salta, Argentina (Delgado-Salinas *et al.*, 2006; Freytag & Debouck, 2002; Delgado-Salinas *et al.*, 1999). Es el género más diverso y con la distribución más amplia entre los integrantes de la subtribu Phaseolinae (tribu Phaseoleae, familia Leguminosae) del continente americano (Delgado-Salinas *et al.*, 2006). En México, el mayor número de especies se distribuye en la parte occidente de México, principalmente en los estados de Durango, Jalisco y Oaxaca (entre 21 y 27 especies); mientras que las áreas con el menor número de especies son los estados de Tlaxcala, Tabasco y la Península de Yucatán (entre 1 y 2 especies) (Delgado-Salinas *et al.*, 2019; Delgado-Salinas & Gama-López, 2015). En nuestro país podemos encontrar poblaciones silvestres y cultivadas de las cinco especies del género *Phaseolus* que han sido domesticadas: *P. vulgaris* L. (frijol común), *P. coccineus* L. (frijol escarlata), *P. dumosus* Macfad (frijol acelete), *P. acutifolius* A. Gray (frijol tepari) y *P. lunatus* L. (frijol Lima) (Delgado & Gama-López, 2015; Delgado-Salinas *et al.*, 1999).

El frijol Lima (*Phaseolus lunatus* L.) es, después del frijol común (*P. vulgaris* L.), la segunda especie de frijol de mayor importancia económica en el mundo (Fofana *et al.*, 1999). Diversos estudios han señalado al centro-occidente de México como uno de sus dos centros de domesticación reconocidos actualmente (Chacón-Sánchez & Martínez-Castillo, 2017; Andueza-Noh, Martínez-Castillo & Chacón-Sánchez, 2015; Andueza-Noh *et al.*, 2013; Serrano-Serrano *et al.*, 2012; Motta-Aldana *et al.*, 2010). El frijol Lima es una especie anual, auto-compatible con un sistema de apareamiento mixto, esto es, predominantemente

autógama pero facultativamente alógama (Zoro Bi *et al.*, 2005) con tasas de entrecruzamiento de hasta el 48% (Baudoin *et al.*, 1998). Su mecanismo de fertilización cruzada se encuentra mediado principalmente por la abeja *Apis mellifera* y por otras especies de abejas nativas; mientras que su dispersión natural, tanto de polen como de semillas, generalmente no excede los 6 metros (Zoro Bi *et al.*, 2003).

El frijol Lima ha sido clasificado en dos variedades botánicas: *Phaseolus lunatus* var. *lunatus* y *P. lunatus* var. *silvester* (Baudet, 1977a):

- 1) *Phaseolus lunatus* var. *lunatus*, comprende a todas las poblaciones domesticadas. Tradicionalmente, esta variedad botánica ha sido dividida en tres cultigrupos, basados en el tamaño y forma de las semillas (Baudet, 1977b): a) Gran Lima, que se caracterizan por tener un tamaño grande y forma plana, con un promedio reportado del peso de 100 semillas de 60.68 gr (Oliveira-Silva *et al.*, 2017); b) Sieva, que se caracterizan por tener un tamaño medio y una forma parecida a la de un riñón, con un promedio en el peso de 100 semillas de 34.25 gr (Oliveira-Silva *et al.*, 2017); y c) Papa, que se caracterizan por tener un tamaño pequeño y una forma globular, con un promedio en el peso de 100 semillas de 32.83 gr (Oliveira-Silva *et al.*, 2017) (Figura 1.2).



**Figura 1.2.** Semillas de frijol Lima. Cultigrupos del frijol Lima cultivado (*P. lunatus* var. *lunatus*): A) Gran Lima; B) Papa; C) Sieva. Modificado de Ruiz-Gil, 2018.

- 2) *Phaseolus lunatus* var. *silvester*, comprende a todas las poblaciones silvestres. Estas poblaciones tienen la característica de formar grandes bancos de semillas en

el suelo, las cuales pueden permanecer viables hasta por tres años después de su dispersión, lo cual puede favorecer el contacto en años posteriores con nuevas poblaciones silvestres e inclusive con poblaciones domesticadas, se ha reportado el promedio del peso de 100 semillas en 9.02 gr (López-Alcocer *et al.*, 2016; Zoro *et al.*, 2003; Degreef *et al.*, 2002; Baudet, 1977a;) (Figura 1.3).

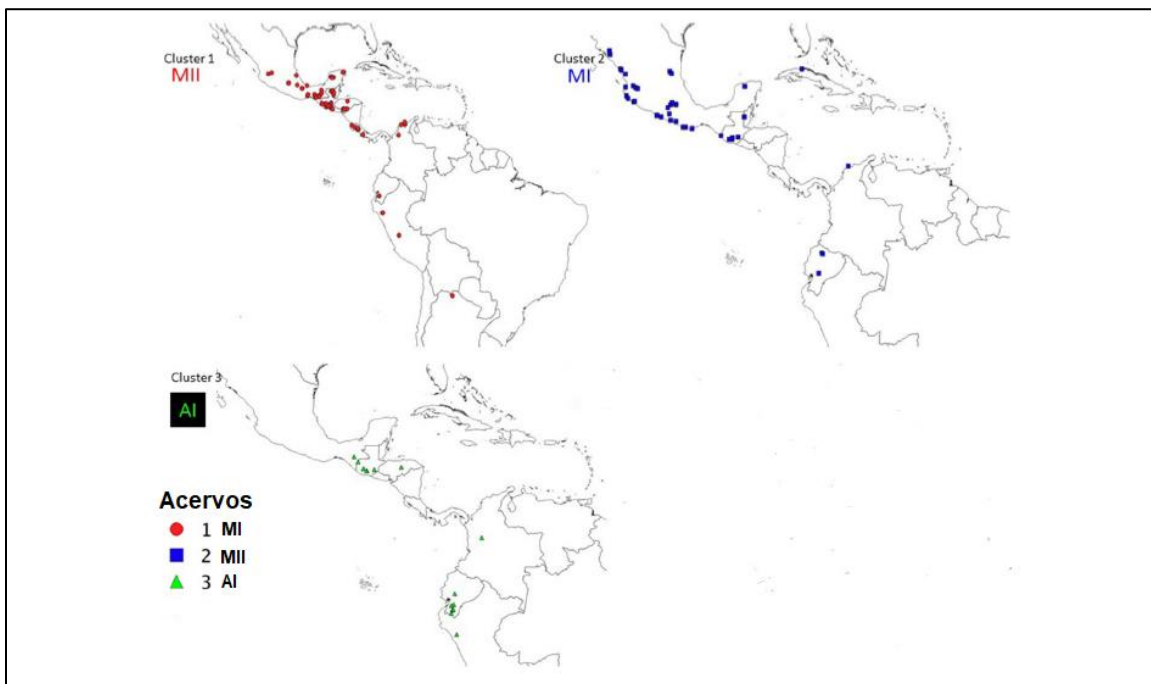


**Figura 1.3.** Semillas de frijol Lima silvestre del acervo genético Mesoamericano (*P. lunatus* var. *silvester*).

### **1.3.1. DISTRIBUCIÓN Y ESTRUCTURA DE LOS ACERVOS GENÉTICOS DEL FRIJOL LIMA.**

En *Phaseolus lunatus* se han descrito dos grandes acervos genéticos, el Mesoamericano y el Andino, clasificados inicialmente por las características de sus semillas (Debouck *et al.*, 1987), características bioquímicas de las proteínas de las semillas (Gutiérrez-Salgado *et al.*, 1995; Maquet *et al.*, 1999) y polimorfismos de ADN nuclear y de cloroplasto (Caicedo *et al.*, 1999; Fofana *et al.*, 1999). Estudios recientes (Serrano-Serrano *et al.*, 2010, 2012; Andueza-Noh *et al.*, 2013, 2015; Martínez-Castillo *et al.*, 2014) mostraron que el acervo genético Mesoamericano está organizado en dos grupos denominados MI y MII. El estudio más reciente y completo a nivel Latinoamérica (Chacón-Sánchez & Martínez-Castillo, 2017)

realizado con marcadores de polimorfismos de nucleótido simple (SNPs por sus siglas en inglés), confirmó la existencia de tres principales acervos genéticos: 1) el acervo Mesoamericano I (MI) que principalmente se encuentra distribuido en el centro-oeste de México, al norte del istmo de Tehuantepec; 2) el acervo Mesoamericano II (MII) que se encuentra distribuido al sureste del Istmo de Tehuantepec, Península de Yucatán, Centro América y Suramérica y, 3) el acervo Andino (AI) que se encuentra distribuido únicamente en una parte de los Andes de Ecuador y el norte de Perú (Figura 1.4). Chacón-Sánchez & Martínez-Castillo (2017) también mostraron la posible existencia de un cuarto acervo, el Andino II (AII); sin embargo, su existencia está aún por ser confirmada con base en un mayor muestreo poblacional del área en donde fue observada su existencia (Colombia).



**Figura 1.4.** Distribución geográfica de los acervos Mesoamericanos MI, MII y el acervo Andino AI. Modificado de Chacón-Sánchez & Martínez-Castillo, 2017.

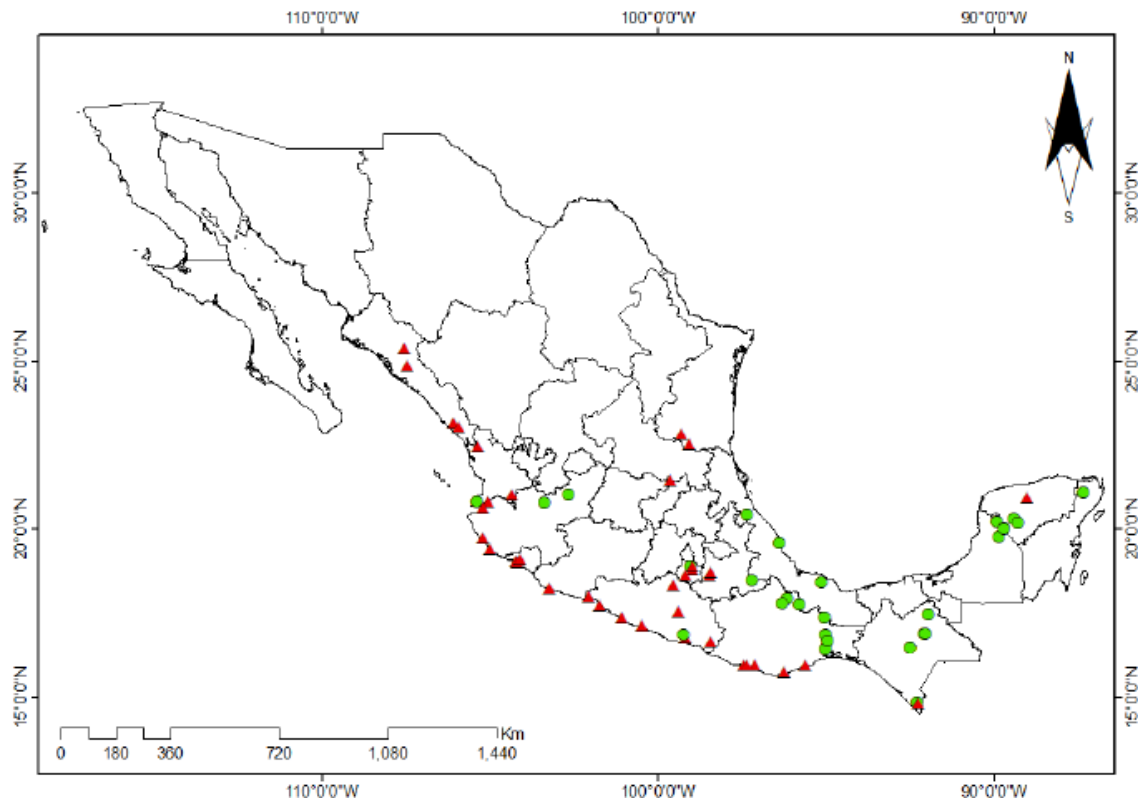
El frijol Lima es una especie que se encuentra distribuida en diferentes tipos de vegetación y altitudes en el continente americano, lo cual sugiere una gran capacidad para adaptarse y colonizar nuevos ecosistemas gracias a su amplia diversidad genética, considerando también el hecho de que la mayoría de sus poblaciones silvestres se desarrollan principalmente en vegetación secundaria originada por perturbaciones antropogénicas (Andueza-Noh *et al.*, 2016).

### **1.3.2. EL ACERVO GENÉTICO MESOAMERICANO DEL FRIJOL LIMA EN MÉXICO.**

En México podemos encontrar poblaciones silvestres de *Phaseolus lunatus*, tanto del acervo MI como del acervo MII (Serrano-Serrano *et al.*, 2010; Martínez-Castillo *et al.*, 2014; Chacón-Sánchez & Martínez-Castillo, 2017). Estos dos acervos se encuentran distribuidos, principalmente, a través de dos provincias biogeográficas (Andueza-Noh *et al.*, 2016): MI se distribuye en la provincia Costa del Pacífico Mexicano, región en la cual predomina el clima cálido subhúmedo con lluvias en verano y vegetación con selvas caducifolias; mientras que MII se encuentra en la provincia biogeográfica Golfo de México, en la cual dominan la selva tropical subcaducifolia, las selvas altas y medianas perennifolias, y que cuentan con un clima predominantemente húmedo con lluvias en verano (Figura 1.5). Ambas provincias están delimitadas por sistemas montañosos como el Eje Neovolcánico y la Sierra Madre del Sur (Espinoza *et al.*, 2008), lo cual sugiere que estos dos grupos se encuentran diferenciados genética y geográficamente. Al respecto, Martínez-Castillo *et al.* (2014) señalaron que la divergencia existente entre los grupos MI y MII puede estar asociada, en parte, al aislamiento geográfico que existe entre ellos debido a la existencia del Istmo de Tehuantepec. Las condiciones ecológicas que se encuentran en ambos lados del Istmo de Tehuantepec son diferentes, lo cual podría llevar al aislamiento o reducción del flujo genético de algunas poblaciones que se encuentren en sitios opuestos de esta barrera (Gutiérrez-Rodríguez *et al.*, 2011).

Entre los grupos MI y MII no existe un importante grado de traslape en sus áreas de distribución; sin embargo, en la Península de Yucatán se ha reportado la presencia de ambos grupos, aunque con una mayor cantidad de registros para el grupo MII que para el grupo MI (Chacón-Sánchez & Martínez-Castillo, 2017; Andueza-Noh *et al.*, 2016). También, se ha reportado la colecta en el estado de Campeche de algunos individuos con herencia intermedia de ambos grupos, posiblemente como resultado de procesos de flujo e introgresión genética (Martínez-Castillo *et al.*, 2014).





**Figura 1.5.** Distribución geográfica de los grupos MI y MII del acervo Mesoamericano del frijol Lima silvestre en México. Triángulos rojos, grupo MI; círculos verdes, grupo MII. Modificado de Chacón-Sánchez & Martínez-Castillo, 2017.

### 1.3.3. LA PENÍNSULA DE YUCATÁN: LABORATORIO NATURAL PARA ESTUDIAR EL FLUJO GENÉTICO E INTROGRESIÓN EN EL FRIJOL LIMA.

En México, al igual que en otras regiones que forman parte de Mesoamérica, la agricultura tradicional se ha desarrollado, principalmente, bajo el sistema de cultivo conocido como milpa, el cual tiene como base al maíz (*Zea mays mays* L.), asociado con otras especies como las calabazas (*Cucurbita* spp.) y los frijoles (*Phaseolus* spp.) (Mariaca, 2015; Martínez-Castillo *et al.*, 2004). En el caso particular de la Península de Yucatán, la milpa se ha desarrollado durante siglos bajo el sistema de roza-tumba-quema, el cual consiste en cortar (roza) las hierbas, bejucos y arbustos, cortar (tumba) los árboles y prender fuego (quema) cuando la vegetación removida esté seca (Lara *et al.*, 2012; Granados *et al.*, 1999). Sin embargo, la fertilidad del suelo disminuye a partir del segundo año, por lo que

usualmente la parcela es solamente utilizada 1-3 años y posteriormente dejada en descanso (barbecho) durante un periodo de entre siete y quince años, tiempo durante el cual se recupera la fertilidad del suelo (Rodríguez y Arias, 2014). Durante este periodo de barbecho, el campesino hace uso de un nuevo terreno, que posteriormente será también dejado en barbecho. Esta característica de manejo y barbecho de los terrenos le da el carácter de itinerante al sistema de roza-tumba-quema.

La milpa ha representado un sistema fundamental para la agricultura tradicional maya, debido a que diferentes características, como el tipo de suelo y la escasez de lluvia, dificultan el establecimiento de cultivos que requieren de sistemas agrícolas tecnificados; sin embargo, el uso de la milpa ha logrado una correcta adecuación entre las características del área geográfica, de los cultivos manejados y de las necesidades para la subsistencia alimentaria de los grupos indígenas que la practican (Mariaca, 2015; Granados *et al.*, 1999). Desafortunadamente, en los últimos 40 años, la agricultura tradicional en la Península de Yucatán se ha intensificado, ocasionando cambios como la reducción en la diversidad de especies cultivadas, la reducción en el periodo de “barbecho” y el incremento en el uso de agroquímicos, entre otros (Ku-Pech, 2019; Fenzi *et al.*, 2015; López-Forment, 1998; Remmers & Ucan, 1996). A pesar de esta intensificación, esta región aún alberga una gran riqueza de variedades nativas. Un ejemplo de esto es que la Península de Yucatán posee el mayor número de variedades locales de frijol Lima existentes en México (Martínez-Castillo *et al.*, 2004; Ballesteros, 1999). En esta región, el frijol lima es llamado “ib” en maya y representa el cuarto cultivo más importante de la milpa, solo después del maíz, la calabaza y el frijol común (Martínez-Castillo *et al.*, 2004).

La Península de Yucatán es una región muy interesante para estudiar el flujo genético y la introgresión post-domesticación en el frijol Lima, esto debido a varios factores:

a) Existe un registro arqueobotánico de semillas de frijol Lima (con características cultivadas) en el área de Dzibilchaltún, Yucatán, con más de 1,000 años de antigüedad (Gutiérrez-Salgado *et al.*, 1995).

b) Esta región es la que posee la mayor riqueza de variedades nativas de frijol Lima de todo México (Ballesteros, 1999; Martínez-Castillo *et al.*, 2004).

c) En esta región se distribuyen poblaciones silvestres de frijol Lima, para las cuales se han reportado niveles altos de diversidad genética (Martínez-Castillo *et al.*, 2006).

d) Algunas poblaciones silvestres crecen simpátricamente con poblaciones domesticadas (Martínez-Castillo *et al.*, 2007; Dzul-Tejero *et al.*, 2014).

e) En esta región convergen los acervos MI y MII (Martínez-Castillo *et al.*, 2014; Chacón-Sánchez y Martínez-Castillo, 2017), aspecto que podría estar favoreciendo procesos de flujo genético e introgresión entre estos dos grandes acervos.

#### **1.3.4. ANTECEDENTES SOBRE FLUJO GENÉTICO E INTROGRESIÓN SILVESTRE-DOMESTICADO EN EL FRIJOL LIMA DE LA PENÍNSULA DE YUCATÁN.**

A la fecha, existen algunos reportes que indican la existencia de eventos de flujo genético e introgresión entre las poblaciones silvestres y domesticadas de frijol Lima en la Península de Yucatán. Martínez-Castillo *et al.* (2004 y 2006), reportaron individuos silvestres con rasgos de introgresión en características morfológicas de la flor, vaina y semilla. Martínez-Castillo *et al.* (2006), sugirieron una correlación positiva entre la intensificación agrícola y el incremento en la diversidad, inclusive con niveles bajos de flujo genético; señalando a su vez la importancia del manejo agrícola, el intercambio de semillas entre campesinos y los bancos de semillas silvestres encontrados en el suelo, en esta posible correlación. Martínez-Castillo *et al.* (2007), utilizando nueve loci de microsatélites, reportaron la presencia de un flujo genético asimétrico tres veces mayor de poblaciones domesticadas hacia poblaciones silvestres de frijol Lima; señalando que este flujo asimétrico puede deberse al manejo agrícola de los campesinos mayas que limita la presencia de individuos silvestres o arvenses en sus cultivos, así como a diferencias en los tamaños poblacionales de las variedades silvestre y domesticada. Martínez-Castillo *et al.* (2008) reportaron la colecta de semillas arvenses de frijol Lima, las cuales eran consumidas por campesinos mayas del estado de Quintana Roo. Dzul-Tejero *et al.* (2014) utilizando 11 loci de microsatélites, evaluaron los niveles de introgresión y su impacto en la diversidad genética del frijol Lima en tres milpas mayas en la Península de Yucatán en las cuales crecían plantas silvestres de esta especie. Sus resultados mostraron que los niveles de introgresión fueron variables entre las tres milpas, sugiriendo que estas diferencias se debieron a selección de los agricultores sobre las semillas introgresadas y/o a las prácticas culturales de cada agricultor las cuales pueden favorecer o impedir la introgresión entre poblaciones silvestres y cultivadas; además, también reportaron niveles mayores de diversidad genética

en las poblaciones cultivadas de aquellas milpas en las cuales se encontraron los mayores niveles de introgresión.

Aunque existen muchas evidencias de la existencia de flujo genético e introgresión silvestre-domesticado en el frijol Lima presente en la Península de Yucatán, Martínez-Castillo *et al.* (2007) mostró la existencia de una marcada diferenciación genética entre ambos acervos, posiblemente, resultado de la tendencia autógama de la especie.

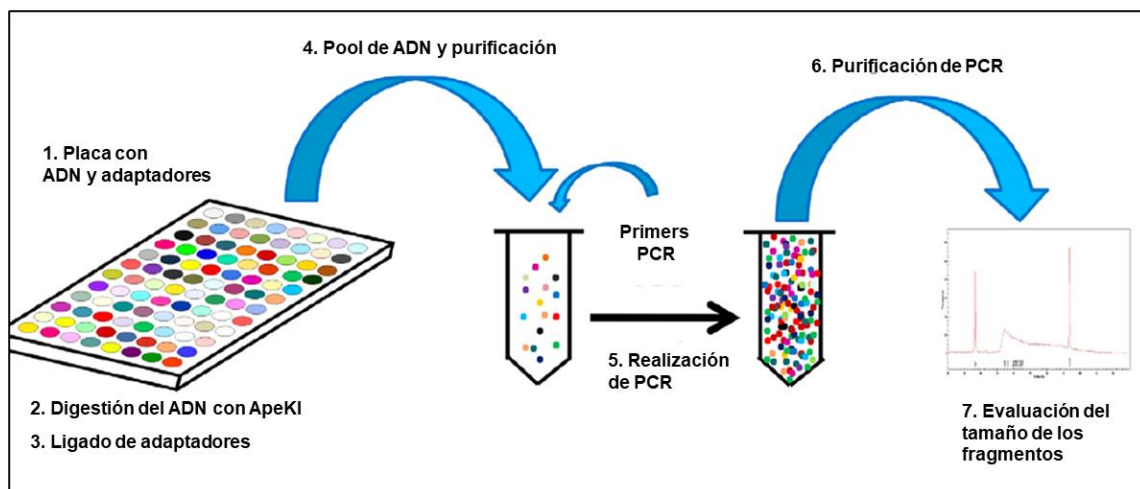
#### **1.4. ENFOQUES MOLECULARES EN EL ESTUDIO DEL FLUJO GENÉTICO E INTROGRESIÓN SILVESTRE-DOMESTICADO.**

Para poder estudiar y entender cómo el flujo genético y la introgresión genética han moldeado y modificado la diversidad y estructura genética de las especies domesticadas y sus parientes silvestres, es necesario hacer uso de enfoques, herramientas y metodologías que permitan un muestreo del genoma con una mayor cobertura, es decir, un muestreo genómico más amplio. La cobertura genética es muy importante, ya que nos permite distinguir realmente entre simples errores de secuenciación y los polimorfismos verdaderos en la secuencia de ADN, aún y cuando estos se encuentren en bajas frecuencias (Elshire, 2011).

En los últimos años, se han desarrollado nuevas técnicas como la secuenciación de siguiente generación (NGS por sus siglas en inglés), que es una técnica utilizada para la secuenciación de genomas completos o regiones genómicas (aumentando así la cobertura del genoma a comparación de otros marcadores genéticos) de diversas especies y que permite la generación de una gran cantidad de datos genéticos a bajo costo. La secuenciación de siguiente generación es útil para obtener análisis detallados de la estructura genética de las poblaciones, analizar la historia demográfica de las poblaciones, proponer genes candidatos para adaptaciones a condiciones ambientales específicas, explorar la diversidad dentro de las poblaciones, la construcción de mapas de haplotipos y la realización de estudios de asociación genómica (Eguiarte *et al.*, 2013; Elshire *et al.*, 2011; Metzker, 2009). Para lograr obtener una amplia cobertura genómica y al mismo tiempo maximizar el rendimiento, se pueden usar dos alternativas: 1) secuenciar más veces el genoma, lo cual representa una desventaja económica, al ser muy costoso; o 2) mediante la “reducción” de la complejidad genoma a analizar utilizando enzimas de restricción y la

preparación de librerías genómicas, método utilizado por ejemplo en el genotipado por secuenciación o GBS (por sus siglas en inglés) (Eguiarte *et al.*, 2013).

La metodología de GBS (Elshire *et al.* (2011), es muy eficiente para el genotipado de datos genómicos (por ejemplo, la obtención de miles de datos SNPs) y es adecuado para estudios poblacionales, caracterización de germoplasmas, tasas de entrecruzamiento y mapeo de rasgos en diversos organismos. Esta metodología se basa la utilización de enzimas de restricción para reducir la complejidad del genoma (para eliminar regiones altamente redundantes y poco informativas), la creación de “librerías genómicas” (Figura 1.6) y la utilización de códigos de barras únicos para poder identificar las muestras secuenciadas, las cuales pueden ser muy numerosas y aun así ser secuenciadas en una sola corrida (Elshire, 2011), lo cual lo hace una herramienta efectiva y con un gran rendimiento.



**Figura 1.6.** Pasos para la construcción de librerías mediante GBS: 1) Colocación y secado del ADN, adaptadores y códigos de barras; 2-3) digestión de las muestras con la enzima de restricción ApeKI y ligación de los adaptadores a los fragmentos de ADN; 4) inactivación de la ligasa T4 mediante calentamiento; 5) uso de primers con sitios de unión a los adaptadores y realización de la PCR para aumentar el número de fragmentos; 6-7) limpieza de los productos de la PCR y verificación de los fragmentos. Las librerías sin dímeros de adaptadores son conservadas para la secuenciación de los fragmentos de ADN (Modificado de Elshire *et al.*, 2011).

#### **1.4.1. MARCADORES DE POLIMORFISMO DE UN SOLO NUCLEÓTIDO (SNPs).**

Los SNPs son variaciones que consisten en el cambio o sustitución de un solo nucleótido en el ADN, en las que existen diferentes alternativas de secuencia (alelos) en individuos de la población (Khlestkina & Salina, 2006). Sin embargo, no todas las variaciones entre los nucleótidos son consideradas SNPs, ya que estos deben encontrarse presentes con una frecuencia mayor al 1% en la población. Bajo esta condición, todos los SNPs se pueden considerar mutaciones, pero no todas las mutaciones pueden ser consideradas como SNPs. Por lo tanto, las variaciones que son causadas por inserciones o deleciones no son considerados como SNPs (Brookes, 1999).

Entre todos los marcadores moleculares que existen actualmente, los polimorfismos de nucleótido simple (SNPs) son los más abundantes y robustos para la genotipificación automatizada de alto rendimiento y disponible para estudios genéticos y mejoramiento molecular en plantas cultivadas (Steemers & Gunderson, 2007; Alkan & Eichler, 2011; Huq *et al.*, 2016). Los SNPs son los polimorfismos más comunes en el genoma de animales y plantas, y se cree que juegan un papel importante en la inducción de variaciones fenotípicas (Huq *et al.*, 2016) y en comparación con los demás marcadores moleculares, permiten obtener un muestreo genómico de mayor cobertura (Morin *et al.*, 2004).

Si bien los marcadores de ADN de microsatélites (o SSRs por sus siglas en inglés) siguen siendo una herramienta ampliamente utilizada en estudios de genética de poblaciones, los marcadores SNPs han demostrado tener el mismo o mejor rendimiento al utilizar una gran cantidad de datos genómicos (miles o decenas de miles de SNPs) para determinar la diversidad (en términos de heterocigosis) dentro y entre poblaciones (Fischer *et al.*, 2017; Gärke *et al.*, 2012; Glover *et al.*, 2010), un mejor rendimiento para determinar la estructura genética poblacional a una escala más precisa (Singh *et al.*, 2013), también permiten inferir mejor el tiempo en el que una población atravesó por un cuello de botella (McCoy *et al.*, 2013) y se considera que una gran cantidad de miles de SNPs pueden compensar la "poca información" contenida en este tipo de marcador bi-alélico (Fischer *et al.*, 2017).

Los SNPs son identificados mediante el alineamiento de las secuencias contra un genoma de referencia (Munnier, 2015), lo cual puede llevarse a cabo fácilmente si se cuenta con el genoma de referencia disponible de la especie que se esté estudiando para realizar

una comparación. Los SNPs también pueden ser identificados mediante comparaciones de secuencias con genomas de referencia de especies cercanamente emparentadas o con un alto porcentaje de identidad (Munnier, 2015).

En los últimos años, los marcadores moleculares SNPs han sido ampliamente utilizados para determinar eventos de introgresión, diversidad, estructura y flujo genético en diversas especies (Ali *et al.*, 2018; Henriques *et al.*, 2018; Oliveira *et al.*, 2015; Hufford *et al.*, 2013; Causse *et al.*, 2013; Lazame *et al.*, 2012; Myles *et al.*, 2011; Zhao *et al.*, 2010).

## **JUSTIFICACIÓN**

El flujo genético y la introgresión post-domesticación, son dos procesos microevolutivos que han tenido un papel importante en moldear la diversidad y estructura genética de las especies domesticadas y de sus parientes silvestres. En el caso del frijol Lima, se sabe que representa un cultivo de gran importancia dentro de la milpa maya de la Península de Yucatán, región que es considerada un centro de alta diversidad genética por el alto número de variedades locales y poblaciones silvestres que posee y en donde, además, convergen los acervos genéticos MI y MII. Es por esto, que la Península de Yucatán resulta un laboratorio natural idóneo para estudiar el flujo genético y la introgresión silvestre-cultivado en el frijol Lima. A pesar de que estudios previos han aportado información muy valiosa del papel que estos procesos juegan en los niveles de diversidad y estructura genética de esta especie, estos estudios han utilizado un muestreo genómico limitado (8-12 loci de SSRs), por lo que realizar un estudio utilizando un enfoque de genómica poblacional y el uso de miles de marcadores SNPs ayudará a aumentar el entendimiento sobre el papel que están jugando el flujo genético y la introgresión en modelar la diversidad y estructura genética de esta especie en la Península de Yucatán. La información generada facilitará el desarrollo de mejores estrategias de manejo y conservación de esta especie en uno de sus principales centros de diversidad genética.



## **PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN**

Con la utilización de marcadores SNPs y un muestreo genómico más amplio del frijol Lima en la Península de Yucatán, se propusieron las siguientes preguntas de investigación:

¿Se encontrará evidencia de flujo genético entre poblaciones domesticadas y silvestres?

¿Se confirmará la existencia de un flujo genético asimétrico, predominantemente de poblaciones domesticadas hacia poblaciones silvestres?

¿Se encontrará evidencia de eventos de introgresión en dos complejos con diferentes años de contacto genético? ¿Existirán diferencias en los niveles de introgresión dentro de estos dos complejos como resultado de la diferencia en antigüedad?

## **HIPÓTESIS**

En la Península de Yucatán existen poblaciones silvestres y cultivadas de frijol Lima. Como cultivo, esta especie ha sido manejada por al menos 1000 años bajo el sistema milpa. Debido al manejo tradicional y a su naturaleza itinerante, la práctica de la milpa favorece eventos de flujo genético e introgresión entre las poblaciones cultivadas del frijol Lima e individuos silvestres que son tolerados dentro o alrededor de las milpas. Estos procesos microevolutivos también se ven favorecidos por características intrínsecas de la especie, como son un sistema de apareamiento predominantemente autógamo, pero que bajo algunas circunstancias puede alcanzar altas tasas de entrecruzamiento, así como el desarrollo de bancos de semillas silvestres que pueden permanecer viables en el suelo por varios años. Reportes sobre niveles de flujo genético e introgresión silvestre-domesticado en el frijol Lima han indicado que, aunque bajos, estos pueden incrementar la diversidad genética de las poblaciones cultivadas. También existen reportes de un flujo genético asimétrico, de poblaciones cultivadas hacia poblaciones silvestres; así como individuos intermedios entre los acervos MI y MII. Considerando todos estos aspectos, en este trabajo esperamos encontrar:

- a) Un nivel de flujo genético bajo y asimétrico a nivel de la Península de Yucatán, predominantemente de poblaciones domesticadas hacia poblaciones silvestres.
- b) Individuos con mezcla genética, con ancestría proveniente de los acervos MI y MII.
- c) Niveles altos de diversidad genética en el acervo cultivado.
- d) Una diferenciación genética (estructura) alta entre el acervo cultivado y el silvestres de la Península de Yucatán.
- e) Mayores tasas de introgresión en sitios de contacto genético con mayor antigüedad.

## **OBJETIVO GENERAL**

Evaluar el papel del flujo genético e introgresión en la diversidad y estructura genética del frijol Lima (*P. lunatus*) en la Península de Yucatán, México.

## **OBJETIVOS PARTICULARES**

1. Determinar el grado y dirección del flujo genético entre poblaciones silvestres y cultivadas de frijol Lima.
2. Estimar los niveles de diversidad y estructura genética del frijol Lima en la Península de Yucatán.
3. Evaluar los niveles de introgresión genética en dos complejos silvestre-arvense-cultivado de frijol Lima, con diferentes años de contacto genético en la Península de Yucatán.

## CAPITULO II

### EL EFECTO DEL FLUJO GENÉTICO E INTROGRESIÓN EN LA ESTRUCTURA Y DIVERSIDAD GENÉTICA DE LAS POBLACIONES DE FRIJOL LIMA EN LA PENÍNSULA DE YUCATÁN, MÉXICO.

#### 2.1 INTRODUCCIÓN

El flujo genético es una fuerza microevolutiva, definida como el movimiento de genes entre poblaciones por procesos de dispersión (Petit & Excoffier, 2009). Posterior a eventos de flujo génico, pueden desarrollarse otros procesos evolutivos como la hibridación, definida como el cruce de individuos provenientes de poblaciones genéticamente diferenciadas (Rhymer y Simberloff, 1996). La descendencia híbrida genera la posibilidad de, en caso de tener la capacidad de reproducirse, un potencial flujo genético con los parentales (Goulet, Roda & Hopkins, 2016), lo cual podría llevar a la existencia de un proceso conocido como introgresión genética. El flujo genético y la introgresión han sido reconocidos como procesos importantes en la evolución de las especies (Hufford *et al.*, 2013).

El frijol Lima (*Phaseolus lunatus* L.) es una de las cinco especies domesticadas del género *Phaseolus* (Delgado & Gama-López, 2015; Delgado-Salinas *et al.*, 1999). Su diversidad genética está organizada en tres grandes acervos: Andino, distribuido en una parte de los Andes de Ecuador y el norte de Perú; Mesoamericano I (MI), principalmente distribuido en el centro-oeste de México, al norte del istmo de Tehuantepec; y Mesoamericano II (MII) distribuido al sureste del Istmo de Tehuantepec, Península de Yucatán, Centro y Suramérica; y (Serrano-Serrano, 2012; Andueza-Noh, 2015; Martínez-Castillo, 2014; Chacón-Sánchez & Martínez-Castillo, 2017). Es una especie de apareamiento mixto: predominantemente autógama pero que puede alcanzar tasas de entrecruzamiento de hasta el 48% (Baudoin *et al.*, 1998), su dispersión natural (polen o semillas) generalmente no excede los 6 metros (Zoro Bi *et al.*, 2003) y sus poblaciones silvestres pueden generar bancos de semillas que pueden permanecer viables por varios años (Degreef *et al.*, 2002).

La Península de Yucatán es una región muy interesante para estudiar el flujo genético y la introgresión post-domesticación en el frijol Lima, debido a varios factores: a) la práctica de la milpa maya favorece el contacto genético entre poblaciones silvestres y cultivadas, debido principalmente a su carácter itinerante generada por la práctica del barbecho (abandono de la tierra cultivada por algunos años para que recupere su fertilidad)

(Rodríguez y Arias, 2014); b) existe un registro arqueobotánico de semillas cultivadas con más de 1,000 años de antigüedad (Kaplan, 1965); c) esta región posee la mayor riqueza de variedades nativas de todo México (Ballesteros, 1999; Martínez-Castillo *et al.*, 2004); d) en esta región se distribuyen poblaciones silvestres que poseen niveles altos de diversidad genética (Martínez-Castillo *et al.*, 2006), las cuales crecen simpátricamente con poblaciones cultivadas (Martínez-Castillo *et al.*, 2007; Dzul-Tejero *et al.*, 2014). f) En esta región convergen los acervos MI y MII (Martínez-Castillo *et al.*, 2014; Chacón-Sánchez y Martínez-Castillo, 2017).

Existen reportes de la existencia de flujo genético e introgresión silvestre-cultivado en el frijol Lima en la Península de Yucatán. Martínez-Castillo *et al.* (2004 y 2006), reportaron individuos silvestres con rasgos de introgresión en características morfológicas de la flor, vaina y semilla. Martínez-Castillo *et al.* (2007), usando 9 loci de microsatélites, reportaron un flujo genético tres veces mayor de poblaciones domesticadas hacia poblaciones silvestres. Martínez-Castillo *et al.* (2008) reportaron semillas arvenses, las cuales eran consumidas por campesinos mayas. Dzul-Tejero *et al.* (2014), usando 11 loci de microsatélites, mostraron que los niveles de introgresión pueden variar entre milpas, con niveles mayores de diversidad genética en las milpas en las cuales se encontraron los mayores niveles de introgresión. Estos estudios sugieren que las diferencias en niveles y direccionalidad del flujo genético y de la introgresión pueden deberse a factores como: a) prácticas culturales de la milpa que favorecen o limitan estos procesos entre poblaciones silvestres y cultivadas; b) diferencias en los tamaños poblacionales de las variedades silvestre y domesticada; c) destino de la producción (subsistencia vs venta).

En los últimos años, el uso de marcadores moleculares SNPs (polimorfismo de un solo nucleótido) han sido ampliamente utilizados para determinar eventos de introgresión, diversidad, estructura y flujo genético de diversas especies (Zhao *et al.*, 2010; Hufford *et al.*, 2013; Causse *et al.*, 2013; Ali *et al.*, 2018; Henriques *et al.*, 2018), esto debido a la robustez de los datos genómicos obtenidos con estos marcadores. El objetivo central de este estudio fue evaluar el papel del flujo genético e introgresión silvestre-cultivado en la diversidad y estructura genética del frijol Lima (*P. lunatus*) en la Península de Yucatán, México, utilizando marcadores SNPs.

## **2.2 METODOLOGÍA**

### **2.2.1. ÁREA DE ESTUDIO.**

La Península de Yucatán (PY), conformada por los estados de Yucatán, Campeche y Quintana Roo, se originó por el movimiento de las placas tectónicas durante el Oligoceno, que resultó con el surgimiento de una plataforma caliza y primordialmente plana (Lugo-Hubp *et al.*, 1992). Su vegetación es heterogénea y está compuesta principalmente por selvas bajas caducifolias y selvas medianas caducifolias (con mayor presencia en el estado de Yucatán), selvas bajas caducifolias espinosas, vegetación halófito, manglares, petenes, selvas bajas inundables y selvas altas perennifolias (en las áreas más húmedas de Campeche y Quintana Roo) (Duno-de Stefano *et al.*, 2018). Las elevaciones son en general menores a 350 metros, presenta una hidrografía superficial escasa y tiene temperaturas anuales entre 25 y 28 ° C (Pérez-Sarabia *et al.*, 2017).

La Península de Yucatán es una región donde, debido a sus características ecológicas (suelo somero y pedregoso o el régimen pluvial altamente variable, por ejemplo), el desarrollo de la agricultura se basó en el sistema tradicional de roza-tumba-quema (milpa) en el cual se cultivan razas y variedades de las principales especies domesticadas de Mesoamérica, como son el maíz (*Zea mays* L.), los frijoles (*Phaseolus* ssp.) y las calabazas (*Cucurbita* ssp.) (Dzul-Tejero, 2011; Colunga-GarcíaMarín & May-Pat, 1992).

### **2.2.2. MATERIAL VEGETAL.**

El material vegetal y los datos genéticos usados para este estudio procedieron de diferentes fuentes:

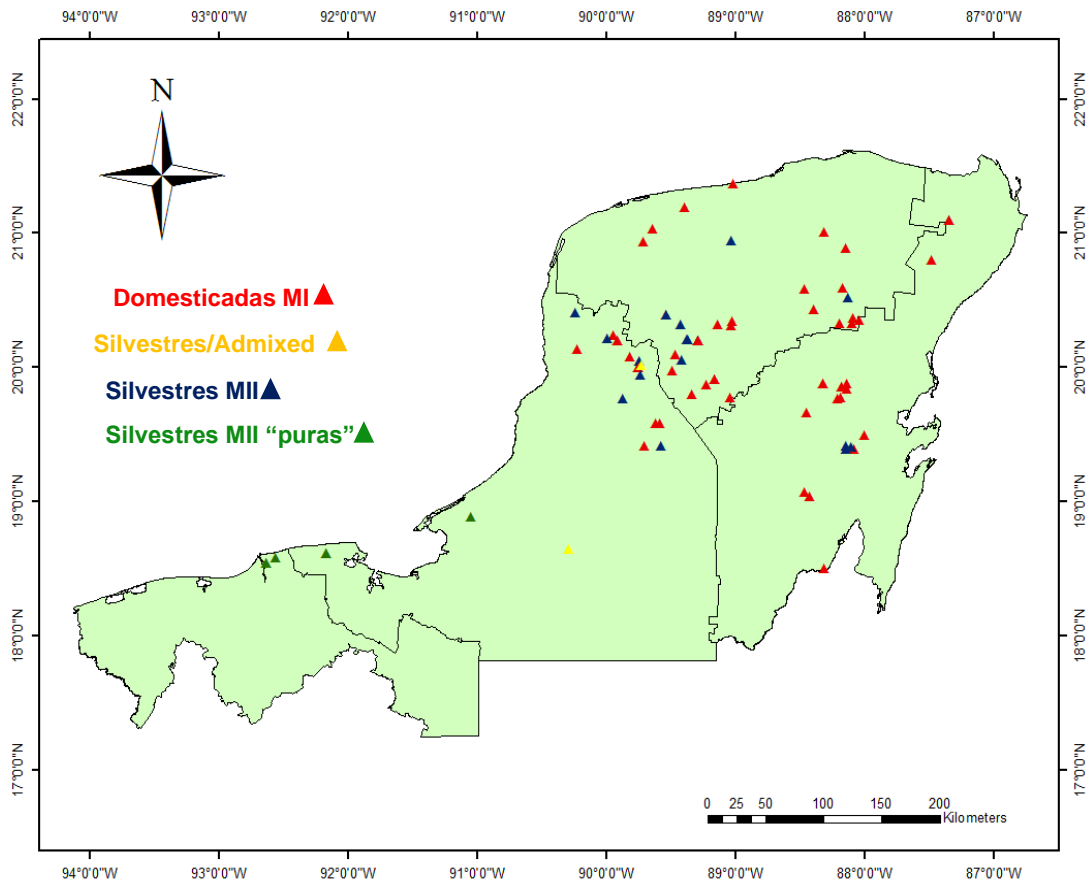
l) Para analizar el flujo genético y su impacto sobre la diversidad y estructura genética del frijol Lima presente en la Península de Yucatán (Figura 2.1) y cumplir con los objetivos 1 y 2 del presente estudio, se utilizaron datos ya generados de SNPs de:

a) 25 accesiones proporcionadas por Chacón-Sánchez & Martínez-Castillo (2017) (conformadas por 16 individuos domesticados, 8 silvestres y 1 individuo silvestre con mezcla genética (admixed) (Anexo 1).

b) 54 accesiones proporcionadas por Martínez-Castillo (2018) (compuestas por “pools” genéticos cada uno de estos conformados por 10 individuos: 43 pools domesticados, 10 silvestres y 1 silvestre con mezcla genética (admixed) (Anexo 2).

c) se utilizó un grupo control que incluyó 10 accesiones silvestres del acervo genético MI colectadas en México (fuera de la Península de Yucatán), 3 accesiones domesticadas del acervo genético MII colectadas en México (fuera de la Península de Yucatán) y 8 individuos pertenecientes al acervo genético Andino (cinco domesticadas y tres silvestres).

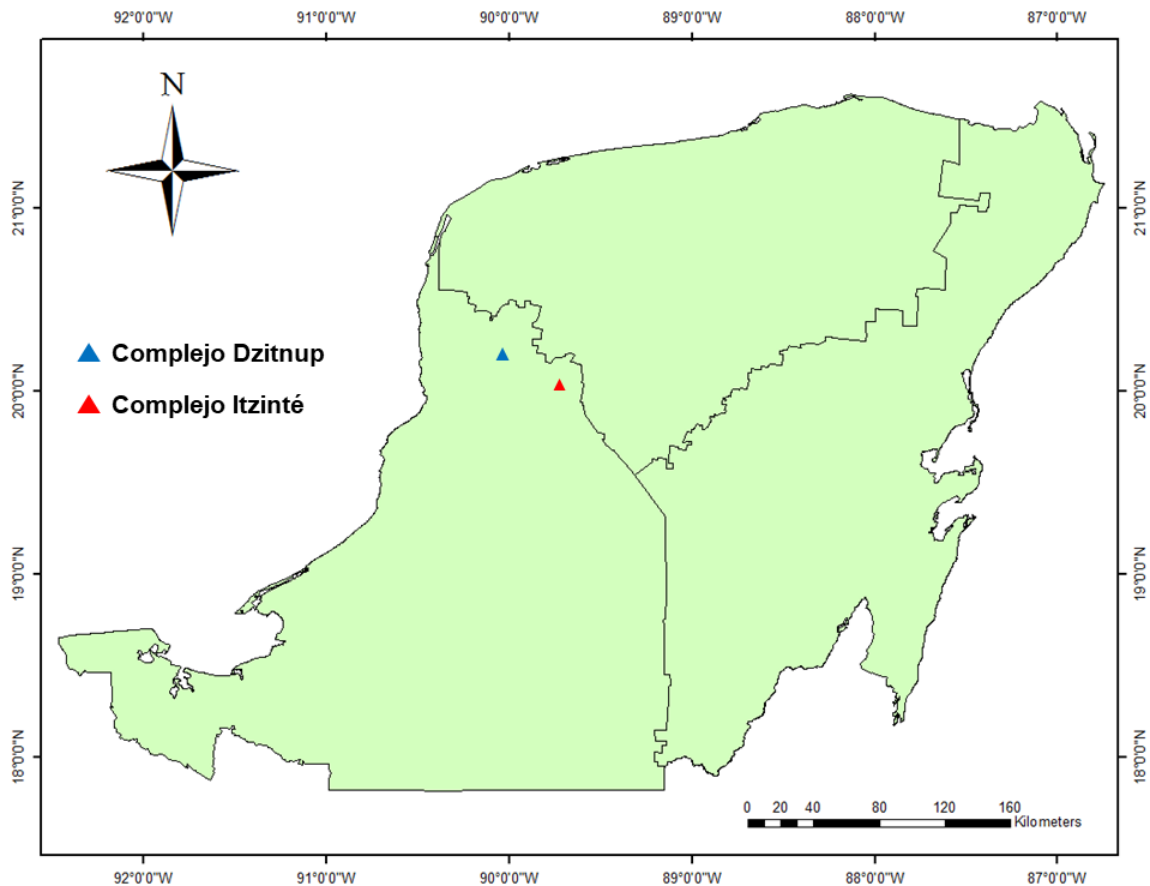
d) un grupo de solo individuos “puros” que fueron colectados en 2019 (Anexo 3): 10 individuos silvestres colectados en el estado de Tabasco (región en la cual no se practica el cultivo del frijol Lima), 9 individuos silvestres colectados en el estado de Campeche (asegurándonos de colectarlos alejados de cualquier cultivo en el que pudiesen cultivar frijol Lima) y 2 individuos domesticados con crecimiento de tipo arbustivo colectados en Yucatán, los cuales fueron añadidas considerando que el tipo de crecimiento habitual de las poblaciones domesticadas de la Península de Yucatán es de tipo trepador.



**Figura 2.1.** Mapa con la ubicación geográfica de los datos de colecta proporcionados por Chacón-Sánchez & Martínez-Castillo (2017), Martínez-Castillo (2018) y las accesiones silvestres “puras” MII colectadas en los estados de Tabasco y Campeche.

II) Para evaluar los niveles de introgresión genética en el frijol Lima en la Península de Yucatán y cumplir con el objetivo 3, se realizó una colecta en 2019 para localizar zonas de contacto genético entre poblaciones silvestres y domesticadas en los estados de Yucatán y Campeche. Se encontraron dos sitios de contacto (o complejos) silvestre-domesticado cercanos a las comunidades mayas de Dzitnup y Bolonchén del estado de Campeche (área de los Chenes) (Figura 2.2). A continuación, se describen ambos complejos y las colectas realizadas en cada uno:





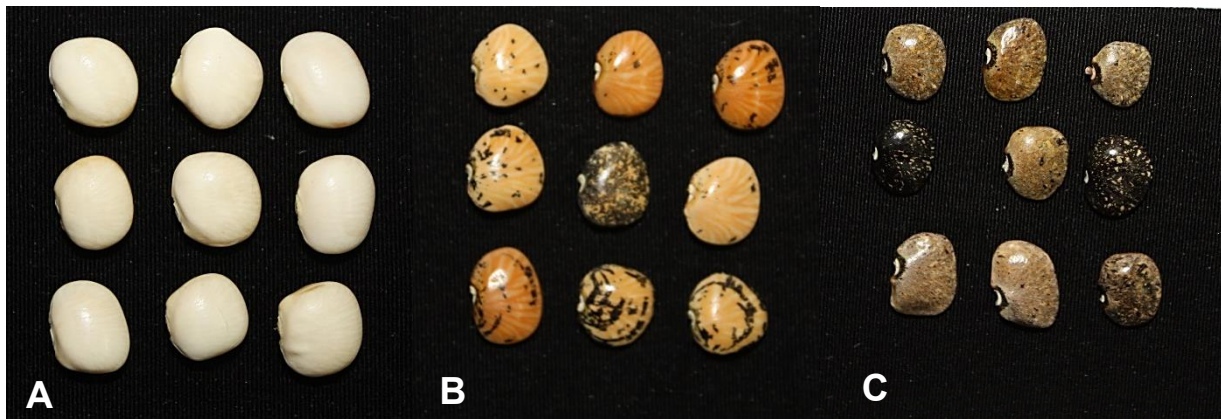
**Figura 2.2.** Mapa con la ubicación geográfica de los dos sitios de contacto genético silvestre-arvense-domesticado: 1) Complejo Dzitnup, triángulo azul; y 2) Complejo Itzinté, triángulo rojo.

**Complejo Dzitnup.** Se integró por tres sitios de colecta (Figura 2.3): a) Sitio 1, huerto familiar a la salida del pueblo de Dzitnup, camino a las ruinas de Xcalumkín donde se colectaron semillas domesticadas; b) Sitio 2, una milpa ubicada aproximadamente a 2 km del sitio 1 sobre el camino que va del pueblo de Dzitnup a las ruinas de Xcalumkín en donde se colectaron semillas con características silvestres, otras con características cultivadas y otras con rasgos intermedios. Por lo observado, el manejo de esta milpa es muy reciente (posiblemente una milpa de segundo año de uso). La alta pedregosidad e irregularidad del terreno, así como la existencia de poco suelo, son características típicas de milpas que solo son utilizadas por 1-2 años por los campesinos mayas de la región; c) Sitio 3, Ruinas de Xcalumkín, ubicado a 2 km del sitio 2 y en donde se colectó una población silvestre.



**Figura 2.3.** Esquema de la colecta realizada en los tres sitios del complejo Dzitnup.

Del total de las semillas colectadas en los tres sitios antes mencionados, las semillas seleccionadas para mandar a secuenciar por parte del complejo Dzitnup fueron: a) 3 semillas cultivadas puras (sin evidencia aparente de introgresión genética con poblaciones silvestres) colectadas en el sitio 1; b) 33 semillas cultivadas y silvestres creciendo juntas (con evidencia de introgresión en algunas de estas semillas) colectadas en el sitio 2; y c) 9 semillas silvestres puras (sin evidencia morfológica de introgresión con poblaciones cultivadas) procedentes del sitio 3. Ejemplos de los morfotipos encontrados en el complejo Dzitnup se muestran en la Figura 2.4.



**Figura 2.4.** Morfotipos pertenecientes al Complejo Dzitnup. A) Semillas cultivadas puras; B) Semillas colectadas en la milpa y con rasgos intermedios; C) Semillas silvestres puras.

**Complejo Itzinté.** Este complejo se localiza en unas ruinas mayas abandonadas que reciben el nombre de Itzinté, de allí el nombre del complejo. El complejo Itzinté es una zona de contacto en la cual han coexistido poblaciones silvestres y domesticadas de frijol Lima por al menos 20 años (Martínez-Castillo, 2005), pero creemos que el contacto puede ser mucho más antiguo ya que es un área de cultivo muy importante para agricultores mayas del pueblo de Bolonchén, el cual fue fundado desde el año 1957 (INAFED, s.f.). Itzinté abarca varias hectáreas de terrenos planos (solo interrumpido por los montículos de las ruinas y algunos cerros) y suelos profundos en donde se practica lo que algunos llaman milpa continua o milpa intensificada, esto es, el cultivo del terreno sin un descanso del mismo (sin barbecho), y el uso de agroquímicos y de maquinaria (en algunas porciones del terreno).

Dentro del complejo Itzinté se colectó en 3 sitios (Figura 2.5): a) Sitio 1, parcela ubicada a la entrada de las Ruinas, allí se colectaron semillas con características domesticadas las cuales fueron traídas del pueblo de Escárcega, Campeche, y que apenas llevaban un ciclo de cultivo (según información del campesino dueño de la parcela), en este sitio no se observaron plantas silvestres creciendo cerca; b) Sitio 2, ubicado en la ladera de uno de los cerros en uno de los extremos de las Ruinas, allí se colectaron semillas con rasgos silvestres obtenidas de plantas creciendo alejadas de plantas cultivadas; y c) Sitio 3, al interior de las ruinas en donde se cultiva frijol Lima muy cerca de plantas silvestres, allí se colectaron semillas provenientes de plantas silvestres y plantas cultivadas creciendo muy cerca unas de las otras (algunas incluso con distancia de cero metros entre ellas),

algunas de estas semillas presentaban características silvestres, otras con características domesticadas y otras con rasgos intermedios.



**Figura 2.5.** Esquema de la colecta realizada en los tres sitios del complejo Itzimté.

Del total de semillas colectadas, las semillas seleccionadas para mandar a secuenciar por parte del complejo Itzimté fueron: a) 2 semillas domesticadas puras del sitio 1, b) 3 semillas silvestres aparentemente puras (semillas silvestres con rasgos típicos de la variedad *silvester*) del sitio 2 y c) 22 semillas cultivadas y silvestres con rasgos de posible introgresión (por las características de las semillas o por haber sido colectadas de plantas silvestres y domesticadas creciendo muy cerca unas de las otras) del sitio 3. Ejemplos de los morfotipos encontrados en el complejo Itzimté se muestran en la Figura 2.6.





**Figura 2.6.** Morfotipos pertenecientes al Complejo Itzinté. A) Semillas cultivadas puras; B) Semillas colectadas en la milpa, creciendo silvestres y con rasgos intermedios; C) Semillas silvestres puras.

### 2.2.3. EXTRACCIÓN Y VERIFICACIÓN DE LA CALIDAD DEL ADN.

Para la germinación de las semillas y poder obtener tejido vegetal para la extracción de ADN, se utilizó el método de “congelamiento por inmersión en nitrógeno líquido” para romper la latencia de las semillas, ya que existen reportes que indican que exponerlas a temperaturas bajas permite eliminar la latencia en las semillas de las leguminosas (Mérola & Díaz, 2012). Se sembraron al menos 10 semillas provenientes de una misma planta de cada punto de colecta para poder asegurar material suficiente para la extracción. Las semillas se sembraron en charolas germinadoras que contenían una mezcla de tierra y agrolita, y se colocaron en un invernadero del Centro de Investigación Científica de Yucatán (CICY), en Mérida, Yucatán, México. Se trató de germinar semillas con diferentes morfotipos (principalmente el color) para poder lograr así una mayor representatividad genética.

De las plantas germinadas, se colectaron hojas trifoliadas por individuo. Para la extracción de ADN se siguió el protocolo de extracción por sílica (Echeverría-Machado *et al.*, 2005). En el Anexo 4 se presenta el protocolo de extracción de ADN. Para verificar la presencia y calidad del ADN se realizaron electroforesis en geles de agarosa al 1%. En cada pozo de los geles se agregaron 3µl de ADN mezclados con 2µl de azul de bromofenol; la electroforesis fue realizada con una cámara horizontal (LIFE TECHNOLOGIES–Horizon 11-14) con una fuente de poder (EC-105), a una carga de 95 volts durante 45 minutos. Los

geles de agarosa se observaron en un transiluminador de luz UV (Transilluminator UV, Dinco & Rhenium Industries). Posteriormente, se realizó una cuantificación y verificación de calidad del ADN con un fluorómetro Quantus™ para asegurar la concentración requerida de al menos 10 ng/ul para poder realizar la secuenciación por genotipificación (GBS). Para la secuenciación, las muestras fueron enviadas al laboratorio de “Elshire Group”.

#### **2.2.4. DETECCIÓN DE SNPs.**

Las secuencias paired-end obtenidas de la plataforma Illumina fueron asignadas a su correspondiente muestra usando el código de barras asignado por el proveedor. Para esto se usó la opción Demultiplex del programa NGSEP 3.3.2 (Tello *et al.* 2019). Posteriormente, los adaptadores Illumina y las secuencias de baja calidad fueron removidos con el programa Trimmomatic v.0.36 (Bolger *et al.* 2014). Después, las lecturas paired-end fueron alineadas al genoma de referencia del frijol Lima (disponible en [https://phytozome-next.jgi.doe.gov/info/Plunatus\\_V1](https://phytozome-next.jgi.doe.gov/info/Plunatus_V1)) con la herramienta bowtie2 y con los parámetros establecidos por defecto en NGSEP. Con la opción MultiSampleVariantsDetector de NGSEP, las variantes genéticas fueron identificadas y genotipadas con los siguientes parámetros: 100 como el número máximo de alineamientos por cada posición de inicio, tasa de heterocigosidad de SNPs de 0.0001 y calidad de genotipado mínima de 40. La matriz de SNPs obtenida fue filtrada con la opción FilterVCF de NGSEP con las siguientes opciones: MAF del 5%, datos faltantes máximo del 20% (para loci y genotipos), calidad de genotipado mínima de Q40, heterocigosidad máxima de 0.2 y removiendo los SNPs de las regiones repetitivas del genoma. Este proceso de filtrado resultó en un número de 15171 SNPs y 184 accesiones. El archivo VCF fue utilizado y convertido a otros formatos dependiendo de la necesidad para el análisis deseado, utilizando los programas TASSEL (Bradbury *et al.*, 2007) y PGDSpider (Lischer y Excoffier, 2012).

#### **2.2.5. GRADO Y DIRECCIÓN DEL FLUJO GENÉTICO A NIVEL REGIONAL.**

**Flujo genético.** Para determinar el grado y dirección del flujo genético entre poblaciones silvestres y cultivadas, así como entre los grupos MI y MII del frijol Lima en la Península de Yucatán (cumpliendo así el objetivo 1), se utilizó el software MIGRATE-N versión 3.3 (Beerli, 2004). En este análisis, el flujo genético es estimado como máxima verosimilitud desde un enfoque coalescente. MIGRATE-N deriva  $N_m$  principalmente de la diferenciación alélica, similar en contexto a la estimación de  $F_{ST}$  de Wright (1949). Se utilizaron los siguientes parámetros para la opción para análisis de SNPs: inferencia Bayesiana, 1 cadena larga con

1000 pasos registrados en la cadena, “sampling increment” de 100, y un “burn-in” de 100000. Para apoyar el estudio de flujo genético, se realizó a su vez una prueba de asignación de individuos (descrita a detalle más abajo) utilizando el programa STRUCUTURE (Pritchard *et al.*, 2000), utilizando el modelo “Admixture” y la opción de frecuencias alélicas correlacionadas.

#### **2.2.6. DIVERSIDAD Y ESTRUCTURA DEL FRIJOL LIMA EN LA PENÍNSULA DE YUCATÁN.**

Para determinar la diversidad genética y estructura genética del frijol Lima en la Península de Yucatán (cumpliéndose así con el objetivo 2), conforme a las características morfológicas de las semillas se organizaron los datos en accesiones silvestres y domesticadas. Cabe señalar que las accesiones domesticadas de la Península de Yucatán pertenecen todas al acervo genético MI, a excepción de una, que pertenece al acervo genético MII; mientras que las accesiones silvestres de la Península de Yucatán pertenecen todas al acervo genético MII.

Para determinar la estructura genética del frijol Lima en la Península de Yucatán, primero se construyó una matriz de distancias genéticas estándar de Nei entre los individuos con el programa TASSEL (Bradbury *et al.*, 2007). Posteriormente, para poder examinar el patrón de agrupamiento de los individuos se realizaron tres métodos: 1) un algoritmo de agrupamiento Neighbor-Joining utilizando el software DARwin V6 (Perrier & Jacquemoud-Collet, 2006); 2) un análisis de coordenadas principales (PCoA) utilizando el programa GenAlex (Peakall & Smouse, 2012); 3) una prueba de asignación de individuos utilizando el programa STRUCUTURE (Pritchard *et al.*, 2000), utilizando el modelo “Admixture” y frecuencias alélicas correlacionadas. STRUCUTURE utiliza un enfoque de agrupamiento Bayesiano con los métodos de cadenas de Markov Monte Carlo (MCMC) y asigna genotipos individuales a un número predefinido de poblaciones (K) que cumplan con los requisitos en términos de equilibrio Hardy-Weinberg y de ligamiento. Este método asume un modelo con K poblaciones, cada una caracterizada por un conjunto de frecuencias alélicas en cada locus. Los individuos en la muestra se asignan probabilísticamente a una población o conjuntamente a dos poblaciones si sus genotipos indican que están mezclados. Se evaluaron los valores de K desde 1 hasta 4 y se corrió el programa con 5 simulaciones independientes para cada valor de K. Cada simulación contó con un periodo de “burn-in” de 100 000 y 100 000 MCMC (Markov Chain Monte Carlo) iteraciones después

de “burn-in”. Para obtener el valor de K óptimo se utilizó el método de Evanno *et al.* (2005). Para asignar a un individuo a un grupo genético específico, se consideró un coeficiente de membresía de 80% propia, aquellos que no cumplieron con este criterio fueron considerados como individuos con mezcla genética (admixed).

Para analizar la diversidad genética se tomaron en cuenta los grupos observados con los análisis de STRUCTURE, N-J y PCoA. Se utilizaron los siguientes estimadores de diversidad: número de loci polimórfico ( $P$ ), porcentaje de loci polimórfico ( $\%P$ ), heterocigosidad esperada ( $He$ ) y diversidad nucleotídica ( $\pi$ ). Todos los estimadores de diversidad fueron calculados utilizando el software Arlequín versión 3.5.2.2 (Excoffier y Lischer, 2010).

### **2.2.7. INTROGRESIÓN GENÉTICA EN DOS COMPLEJOS INTER-REPRODUCTIVOS SILVESTRE-ARVENSE-DOMESTICADO DEL FRIJOL LIMA.**

Primero, para evaluar introgresión genética (cumpliendo así con el objetivo 3) se determinó el patrón de agrupamiento dentro de los complejos Dzitnup e Itzinté utilizando los métodos de STRUCTURE, N-J y PCoA antes descritos. Posteriormente, se evaluó la diversidad genética utilizando los estimadores antes señalados para dicho fin. Esta evaluación se realizó para cada grupo genético (silvestre, arvense, domesticado) encontrado al interior de cada complejo. Por último, se realizó un análisis a mayor profundidad para evaluar los niveles de introgresión genética en los dos complejos silvestre-arvense-cultivado con diferentes años de contacto genético, donde se utilizó el módulo para análisis de introgresión disponible en el programa NGSEP V. 3.0.2 (comando “IntrogressionAnalysis”) (Duitama *et al.*, 2014) para predecir las regiones genómicas con posibles eventos de introgresión por cromosoma, utilizando los valores por defecto del programa. Este módulo divide el genoma en ventanas no superpuestas de 50 SNP, y para cada ventana, implementa el siguiente enfoque heurístico: calcula el haplotipo característico de cada población calculando el alelo principal de cada SNP dentro de esta población. Por cada muestra, calcula la puntuación de similitud del haplotipo de la muestra frente al haplotipo representativo de cada población con una puntuación predeterminada de +1 para una coincidencia, -1 para una discrepancia y cero para los datos faltantes. El haplotipo de muestra se asigna a la población con la puntuación máxima si esta puntuación pasa un umbral mínimo (30 por defecto). Mientras que los haplotipos que no superan la primera condición se catalogaron como no asignados. Las introgresiones fueron determinadas para



cada muestra a partir de fragmentos en el genoma para los cuales la población asignada del haplotipo de la muestra era diferente al de la población de origen a la cual fue asignado.

## 2.3. RESULTADOS

### 2.3.1. GRADO Y DIRECCIÓN DEL FLUJO GENÉTICO DE FRIJOL LIMA EN LA PENÍNSULA DE YUCATÁN.

A nivel Península de Yucatán (PY), el flujo genético histórico entre accesiones domesticadas y silvestres resultó ser asimétrico, predominantemente de accesiones domesticadas hacia silvestres. La tasa de migración histórica fue mayor de accesiones domesticadas hacia silvestres (161.06), mientras que la tasa de migración de silvestres hacia domesticadas resultó ser menor (105.08) (Cuadro 2.1).

**Cuadro 2.1.** Tasas de migración entre accesiones domesticadas y silvestres de frijol Lima en la Península de Yucatán, utilizando 15,171 marcadores SNPs.

Dirección	Tasa de migración
Domesticada → Silvestre	161.06
Silvestre → Domesticada	105.08

## Diversidad y estructura genética del frijol Lima en la Península de Yucatán

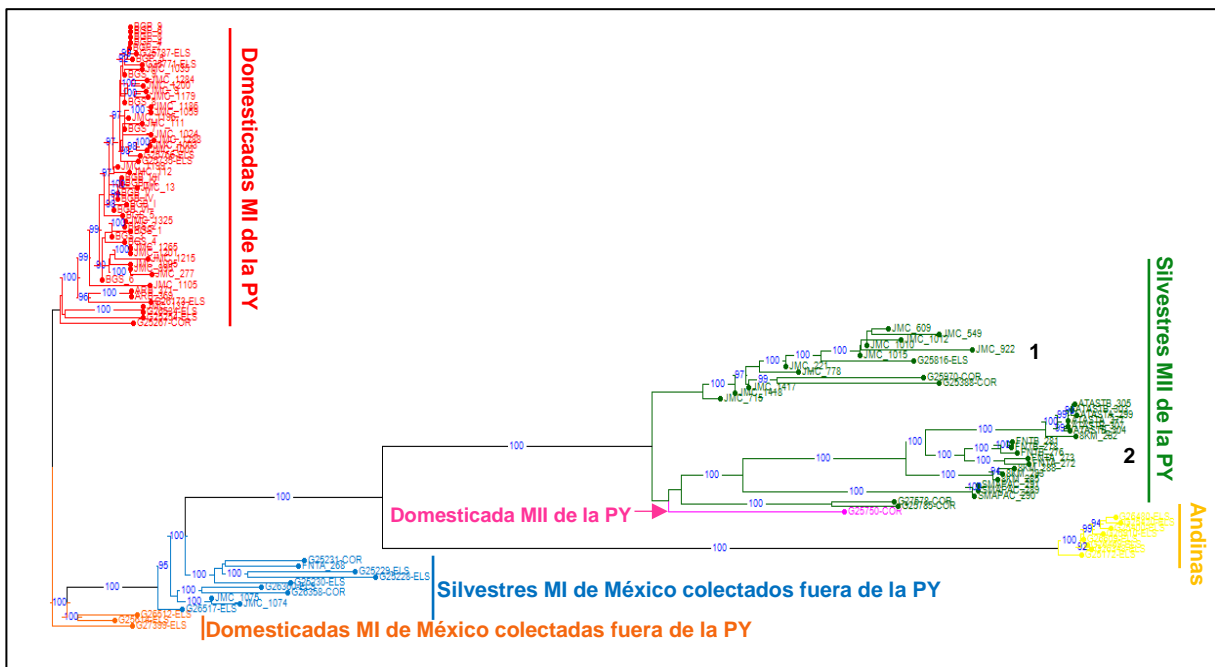
### Estructura genética

**Neighbor-Joining.** Este análisis mostró seis grupos bien definidos, tres de los cuales comprendieron a las accesiones colectadas en la Península de Yucatán (PY): 1) grupo rojo, accesiones domesticadas del acervo genético MI; 2) grupo verde, accesiones silvestres del acervo genético MII, con la presencia de dos subgrupos: a) uno compuesto por 15 accesiones obtenidas de las bases de datos de Chacón-Sánchez y Martínez-Castillo (2017) y Martínez-Castillo (2018), b) otro compuesto por las accesiones silvestres “puras” colectadas en 2019 en los estados de Tabasco y Campeche; 3) grupo rosa, la única accesión domesticada perteneciente al acervo genético MII, la cual se relacionó mas estrechamente con las accesiones silvestres MII (grupo verde) que con las accesiones domesticadas de la PY (grupo rojo) (Figura 2.7).

El análisis N-J también agrupó por separado a las accesiones de los 3 grupos control consideradas en este trabajo:

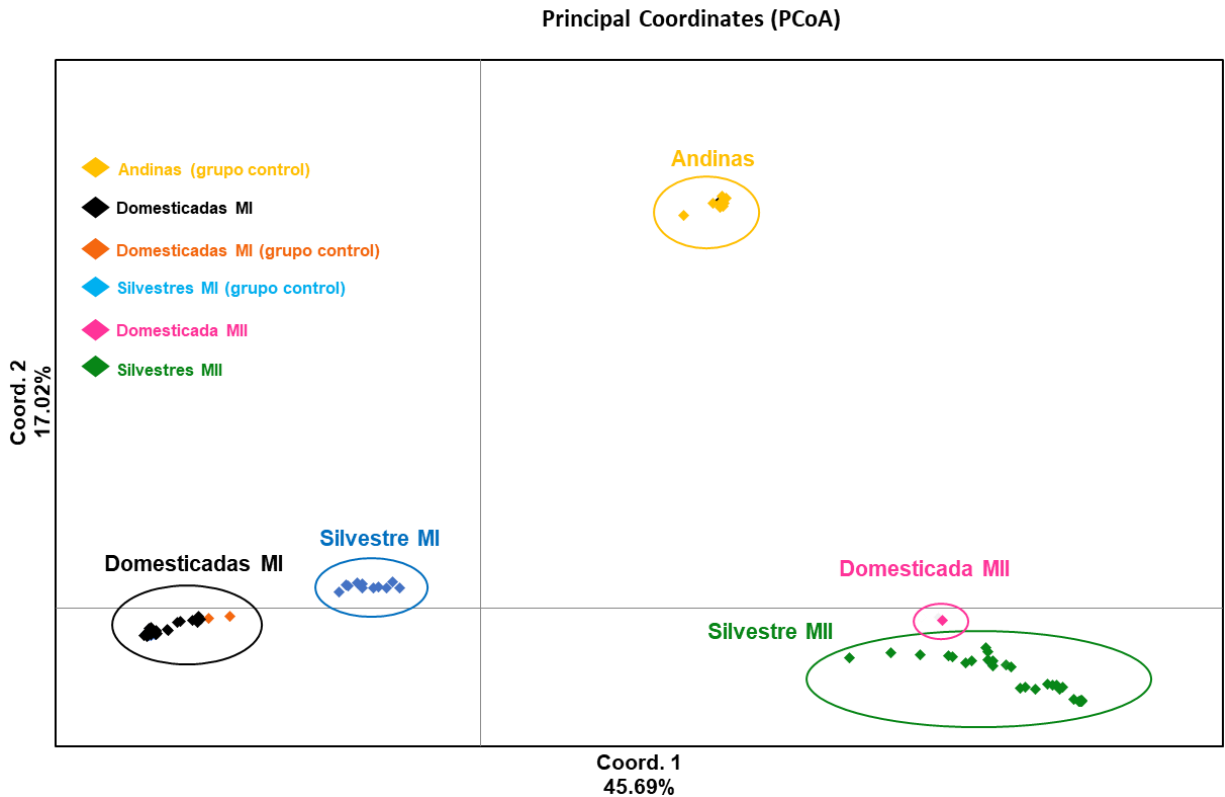
1) grupo naranja, accesiones domesticadas MI de México colectadas fuera de la Península de Yucatán ; 2) grupo azul, accesiones silvestres MI colectadas en México fuera de la Península de Yucatán; 3) grupo amarillo, accesiones del acervo Andino (Figura 2.7).

Interesantemente, este análisis N-J mostró una clara separación de las accesiones domesticadas colectadas en la PY (grupo rojo) con respecto al resto de accesiones estudiadas, mientras que agrupó a las poblaciones silvestres de la PY (grupo verde) con las accesiones pertenecientes a los grupos control, en particular, mas cercanamente a las accesiones silvestres Andinas (Figura 2.7).



**Figura 2.7.** Topología Neighbor-Joining que muestra las relaciones genéticas entre las accesiones colectadas en la PY y las accesiones del grupo control: accesiones domesticadas del acervo MI de la PY (grupo rojo), accesiones domesticadas del acervo MI de otros estados de México (grupo naranja); accesión domesticada de la PY (color rosa); accesiones silvestres de acervo MII (grupo verde), con la numeración de los subgrupos; accesiones silvestres del acervo genético MI colectadas fuera de la PY (grupo azul) y accesiones del acervo genético Andino (grupo amarillo).

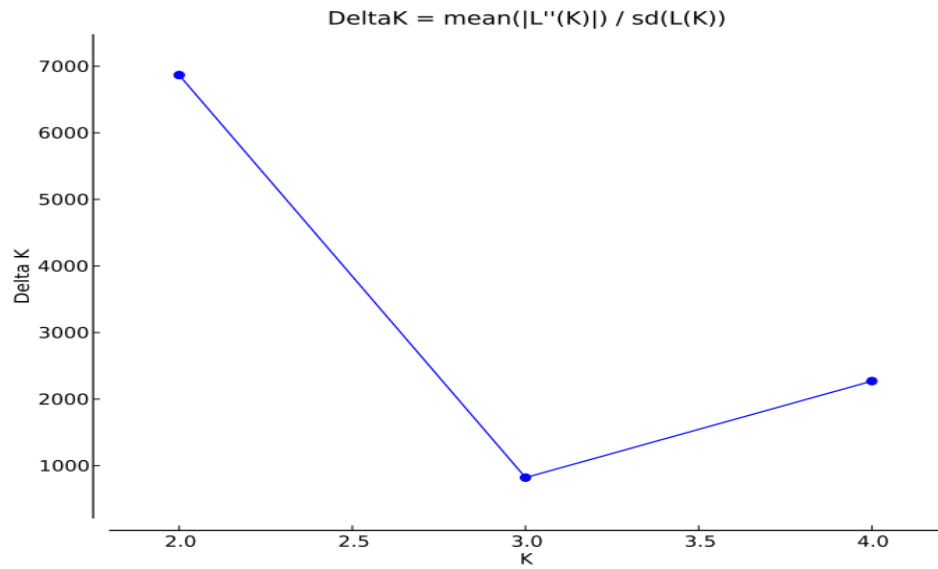
**Análisis de coordenadas principales (PCoA).** La Figura 2.8 muestra los resultados obtenidos con el PCoA. En esta figura podemos observar un patrón de agrupamiento parecido al obtenido con el Neighbor-Joining. Sin embargo, una diferencia importante entre ambos análisis fue que las accesiones domesticadas MI de la PY (en color negro) se agruparon con las accesiones domesticadas MI colectadas fuera de la PY (en color naranja). Ambos tipos de accesiones se agruparon de manera cercana a las accesiones silvestres MI colectadas fuera de la PY. Otra diferencia importante entre el N-J y el PCoA, es que este último diferenció de forma más clara la existencia de los tres grandes acervos genéticos del frijol Lima: MI (en negro-naranja-azul), MII (en verde) y Andino (en amarillo). Nuevamente, al igual que lo encontrado en el N-J, una accesión domesticada MII colectada en la PY (en color rosa) se agrupó más cercanamente a las accesiones silvestres MII de la PY (Figura 2.7). La primera coordenada principal aportó el 45.69% de la variación total y la segunda coordenada aportó 17.02%. En conjunto, ambas coordenadas aportaron el 62.71% de la variación observada.



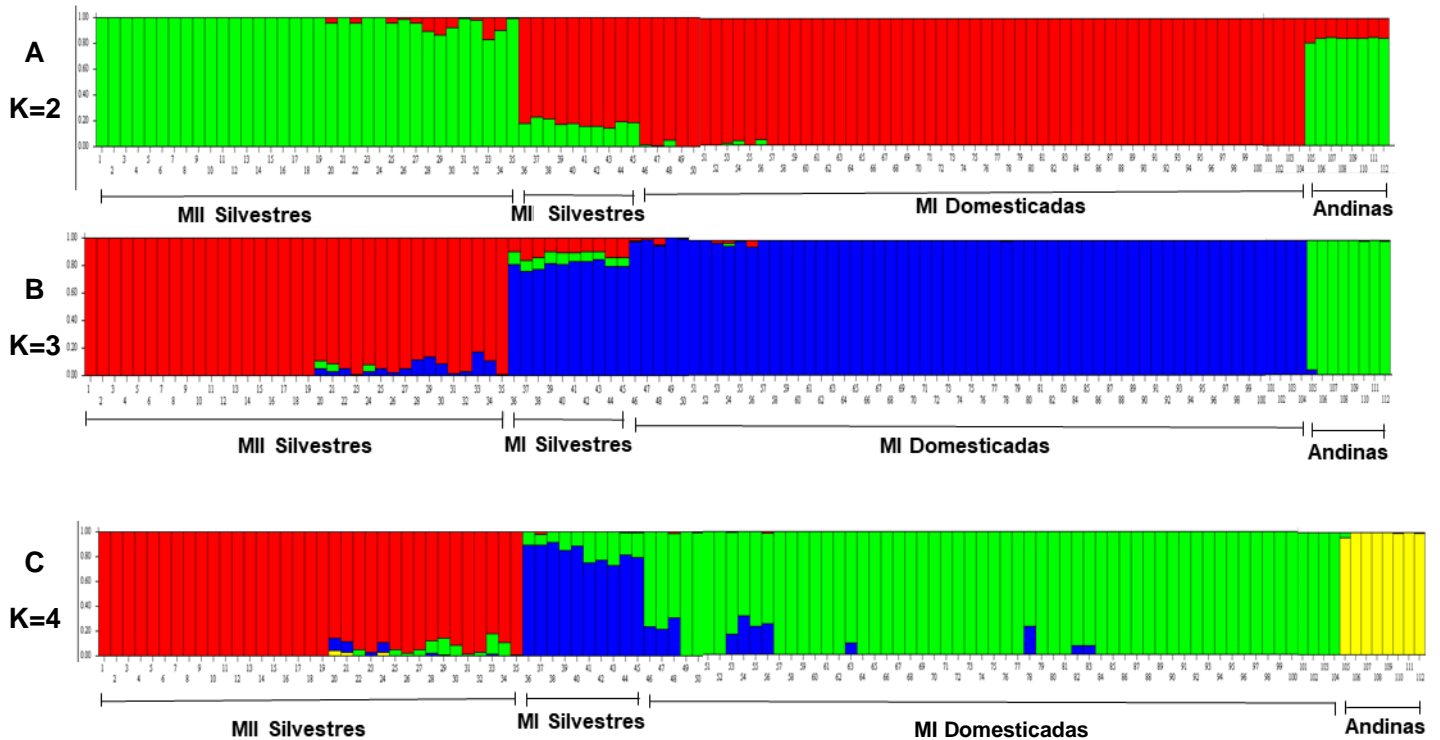
**Figura 2.8.** Análisis de Coordenadas Principales de las accesiones silvestres y domesticadas del frijol Lima de la Península de Yucatán y las accesiones del grupo control: accesiones domesticadas MI de la PY (color negro); accesiones domesticadas MI colectadas fuera de la PY (color naranja); accesiones silvestres MI colectadas fuera de la PY (color azul); accesiones silvestres MII de la PY (color verde); accesión domesticada MII de la PY (color rosa); accesiones Andinas (color amarillo).

**Prueba de asignación de individuos.** El método de Evanno reportó una K óptima de 2 (Figura 2.9). El análisis realizado con STRUCTURE y una K=2, agrupó a las accesiones silvestres MII de la PY con las accesiones del grupo Andino (color verde), mientras que las accesiones silvestres y domesticadas del grupo MI se agruparon juntas (color rojo) (Fig. 2.10-A). Cuando se corrió el programa de STRUCTURE con una K=3, las accesiones se agruparon con base en la existencia de los tres grandes acervos genéticos reportados para *Phaseolus lunatus*: MI (color azul), MII (color rojo) y Andino (color verde) (Fig. 2.10-B). Por último, cuando este programa se corrió considerando una K=4, las accesiones silvestres MI colectadas fuera de la PY pudieron ser discriminadas de las accesiones domesticadas MI

(Fig. 2.10-C). Para  $K = 4$ , los resultados sugieren que las únicas accesiones silvestres del acervo MII que resultaron genéticamente “puras” (color rojo) fueron las colectadas en los estados de Tabasco y Campeche (19 en total), el resto de las accesiones muestran cierto grado de mezcla genética (Figura 2.10 C). En general, los resultados obtenidos con STRUCTURE y una  $K=4$  son consistentes con los obtenidos con el Neighbor-Joining y el PCoA.



**Figura 2.9.** Gráfica del valor delta K que determina el número ideal de grupos presentes en los acervos genéticos del frijol Lima en la Península de Yucatán.



**Figura 2.10.** Prueba de asignación de individuos de las accesiones de frijol Lima de la Península de Yucatán identificados por acervo genético y estado biológico (silvestre o domesticado) y utilizando valores de K= 2-4, utilizando 15,171 SNPs.

## Diversidad genética

A nivel Península de Yucatán (PY), y con base en los resultados del patrón de agrupamiento generado por los tres métodos antes señalados, se observaron valores moderados de diversidad genética. Las accesiones silvestres de la PY mostraron una mayor diversidad genética que las accesiones domesticadas de la PY, para los cuatro estimadores considerados (Cuadro 2.2). Para este análisis de diversidad genética fueron excluidas las accesiones del grupo control que no pertenecían a la Península de Yucatán, así como también la única accesión domesticada del acervo MII colectada en la PY, ya que una sola accesión no es informativa para un análisis de diversidad genética a nivel regional.

**Cuadro 2.2.** Estimadores de diversidad genética de las accesiones silvestres y domesticadas de frijol Lima colectadas en la Península de Yucatán, usando 15,171 marcadores SNPs.

<b>Acervo genético</b>	<b>N</b>	<b>P</b>	<b>%P</b>	<b>He</b>	<b><math>\pi</math></b>
<b>Silvestres (MII)</b>	45	4060	27	0.27 ± 0.37	0.10 ± 0.05
<b>Domesticadas (MI)</b>	59	1136	7	0.17 ± 0.38	0.01 ± .007

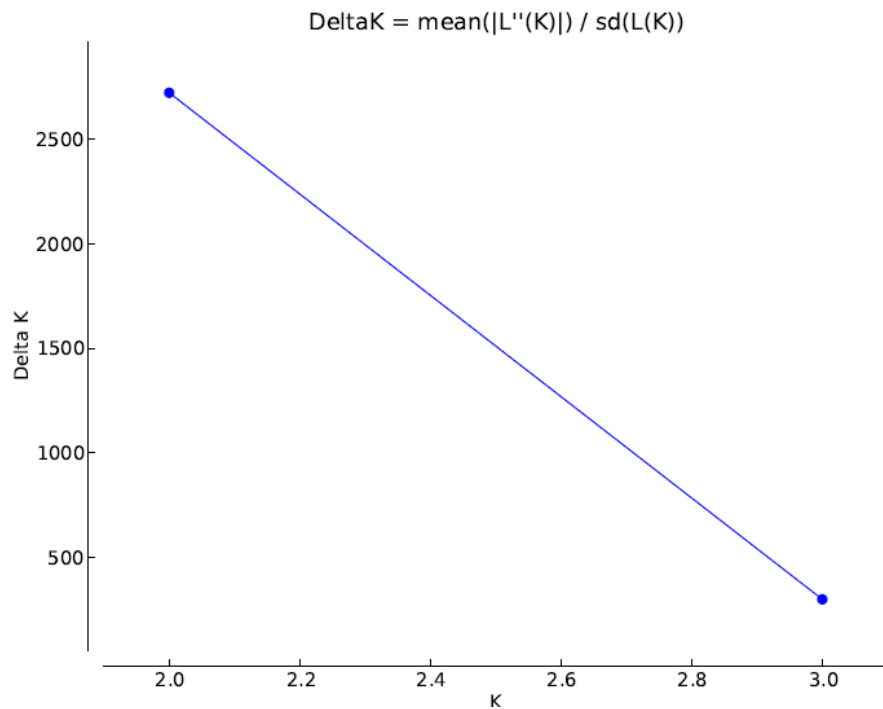
N, tamaño de muestra; P, número de loci polimórfico; %P, porcentaje de loci polimórfico; He, heterocigosidad esperada;  $\pi$ , diversidad nucleotídica.



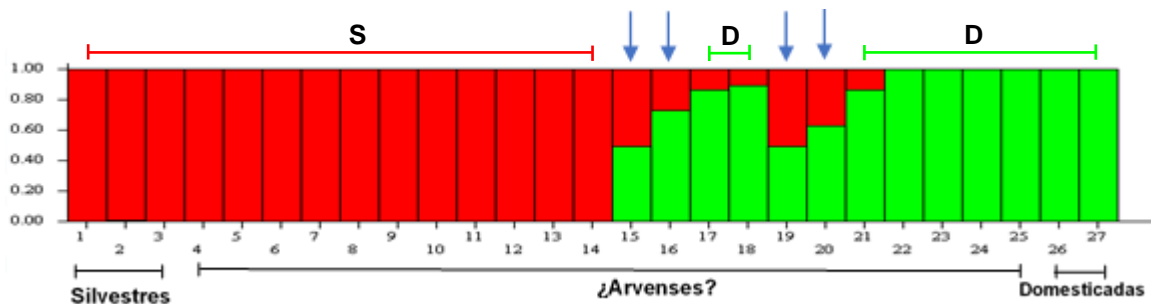
### **2.3.2. INTROGRESIÓN GENÉTICA EN DOS COMPLEJOS SILVESTRE-ARVENSE-DOMESTICADO.**

#### **Complejo Itzinté**

Evaluando el agrupamiento de individuos para identificar posibles individuos con señales de introgresión, el método de Evanno reportó una K óptima de 2 (Figura 2.11). El programa STRUCTURE y una K =2 separó a los individuos domesticados (color verde) de los silvestres (color rojo); sin embargo, se observaron algunos individuos con mezcla genética (Figura 2.12). Los resultados de STRUCTURE permitieron identificar a cuatro individuos (15, 16, 19 y 20) que fueron colectados en el sitio 3 que no cumplieron con el criterio del 80% de ancestría, siendo estos considerados como individuos arvenses o “admixed”. Estos cuatro individuos son aquellos que presentaron mayores niveles de introgresión genética de acuerdo al análisis realizado con el programa NGSEP (ver más abajo). El análisis con el programa STRUCTURE, además reconoció a otros tres individuos que también presentaron mezcla genética, pero en menor grado, y que también fueron colectados en el sitio 3 de este complejo.

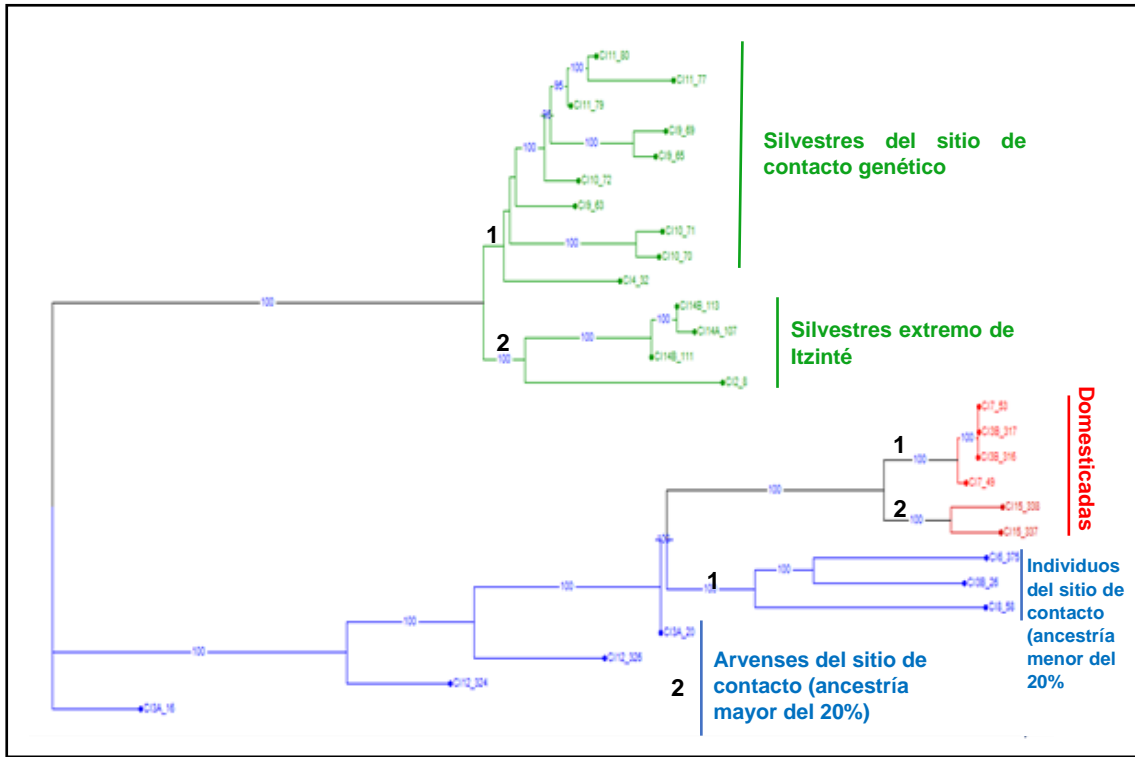


**Figura 2.11.** Gráfica del valor delta K que determina el número ideal de grupos presentes en el complejo Itzinté.



**Figura 2.12.** Coeficientes de ancestría estimados para el complejo Itzinté. Cada individuo está representado por una columna. La asignación de la parte inferior de la figura corresponde a las características morfológicas al momento de colecta y su ubicación: la asignación de la parte superior de la figura representa la agrupación de acuerdo a los análisis de asignación con el programa STRCUTURE: S, individuos silvestres; D, individuos domesticadas; las flechas señalan a los 4 individuos reconocidos como “admixed”.

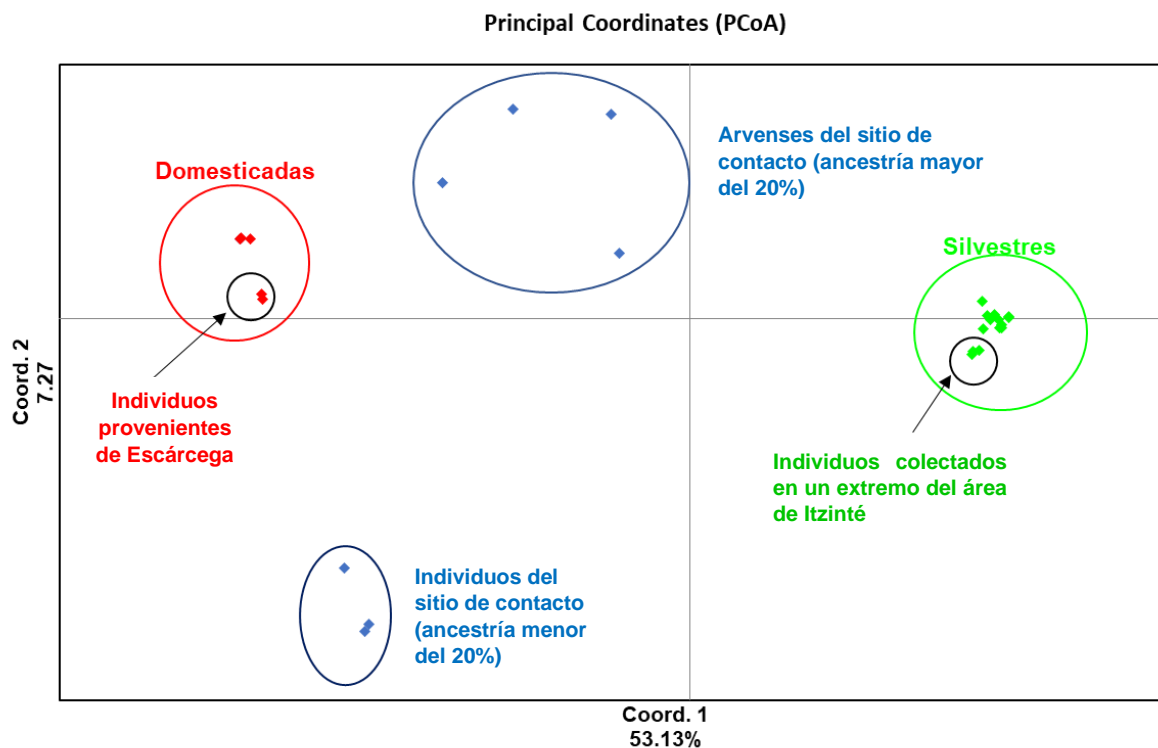
Por su parte, el análisis Neighbor-Joining identificó tres grupos genéticos principales: A) Silvestre (grupo verde); B) Individuos con mezcla genética (grupo azul); C) Domesticado (grupo rojo) (Figura 2.13). Dentro del grupo silvestre se observó una ligera sub-estructuración, incluyendo un subgrupo (1) compuesto por individuos que fueron colectados en el sitio 3 de este complejo (donde crecían en extrema proximidad individuos silvestres y cultivados); y otro subgrupo (2) compuesto por los individuos silvestres que fueron colectados en el sitio 2 (extremo del área de Itzinté y creciendo alejados de individuos cultivados) (Figura 2.13). Dentro del grupo de individuos con mezcla genética también se observó una ligera sub-estructuración con un subgrupo (1) compuesto por 3 individuos que fueron colectados en el sitio 3, y un segundo subgrupo (2) compuesto por 4 individuos que también fueron colectados en el sitio 3 (Figura 2.13). Dentro del grupo domesticado se observó una pequeña sub-estructuración con un subgrupo (1) conformado por 4 individuos que fueron colectados en el sitio 3 y otro subgrupo (2) conformado por 2 individuos con características domesticadas colectados en el sitio 1 (semillas provenientes de Escárcega) (Figura 2.13).



**Figura 2.13.** Topología Neighbor-Joining que muestra la relación genética entre los grupos del complejo Itzinté. Los individuos pertenecientes al grupo silvestre se muestran en color verde, con la numeración de sus respectivos subgrupos; los individuos pertenecientes al grupo Individuos con mezcla genética se muestran en color azul, con la numeración de sus respectivos subgrupos; los individuos pertenecientes al grupo domesticado se muestran en color rojo, con la numeración de sus respectivos subgrupos.

Similarmente, el PCoA mostró cuatro grupos bien definidos, los cuales corresponden a individuos silvestres (figuras verdes), individuos con mezcla genética (figuras azules) e individuos domesticados (figuras rojas) (Figura 2.14). La primera coordenada principal aportó el 53.13% de la variación total y, en conjunto con la segunda coordenada principal, aportaron el 60.40% de la variación observada. Estos cuatro grupos se encuentran conformados por los mismos individuos que conformaron los tres grupos encontrados en el análisis Neighbor-Joining. Dentro de cada grupo, se puede observar una ligera subagrupación: a) en el grupo domesticado se puede observar que los individuos colectados en el sitio 1, se agrupan por separado del resto de individuos domesticados colectados en el sitio 3; b) en el grupo silvestre se puede observar que los individuos que fueron colectados

en el sitio 2 se agrupan por separado de los individuos silvestres que fueron colectados en el sitio 3; c) en el grupo de individuos con mezcla genética, todos los individuos fueron colectados en el sitio 3, los individuos que fueron determinados como individuos con mezcla genética, pero con una importante parte del coeficiente de ancestría que las identifica como domesticadas (según el STRUCTURE), se agrupan por separado de los 4 individuos que no cumplieron con el criterio del 80% de ancestría (según STRUCTURE) y que, por lo tanto, son considerados como individuos “arvenses”.



**Figura 2.14.** Análisis de coordenadas principales del Complejo Itzinté. Los individuos pertenecientes al grupo silvestre se muestran en color verde, con una flecha indicando la sub-agrupación de los individuos colectados en las ruinas de Xcalumkín. Los individuos pertenecientes al grupo domesticado se muestran en color rojo, con una flecha indicando la sub-agrupación de los individuos colectados en el huerto familiar en el poblado de Dzitnup. Los individuos pertenecientes al grupo de individuos con mezcla genética se muestran en color azul, con una flecha señalando la sub-agrupación de los individuos que son considerados como “arvenses” según los resultados de las pruebas realizadas con STRUCTURE y PCoA.

Tomando en cuenta los resultados obtenidos en los tres análisis (STRUCTURE, Neighbor-Joining y PCoA), podemos considerar la existencia de 3 grupos genéticos que conforman el complejo Itzinté: silvestre, arvense y domesticado. Dentro de estos grupos genéticos, se identificaron 4 individuos con mezcla genética colectados en el sitio 3 y que no cumplieron con el 80% de membresía de algún acervo (domesticado o silvestre), por lo que posiblemente se trate de individuos que ofrezcan señales de un posible proceso de introgresión.

De acuerdo a los resultados del análisis de STRUCTURE, se encontró que los individuos identificados como posibles arvenses en el complejo Itzinté mostraron una mayor diversidad genética en comparación con plantas silvestres y domesticadas. Además, se encontró que el grupo silvestre tuvo una menor diversidad en comparación con el grupo domesticado (Cuadro 2.3).

**Cuadro 2.3.** Estimadores de diversidad genética dentro del complejo Itzinté, en Campeche, México.

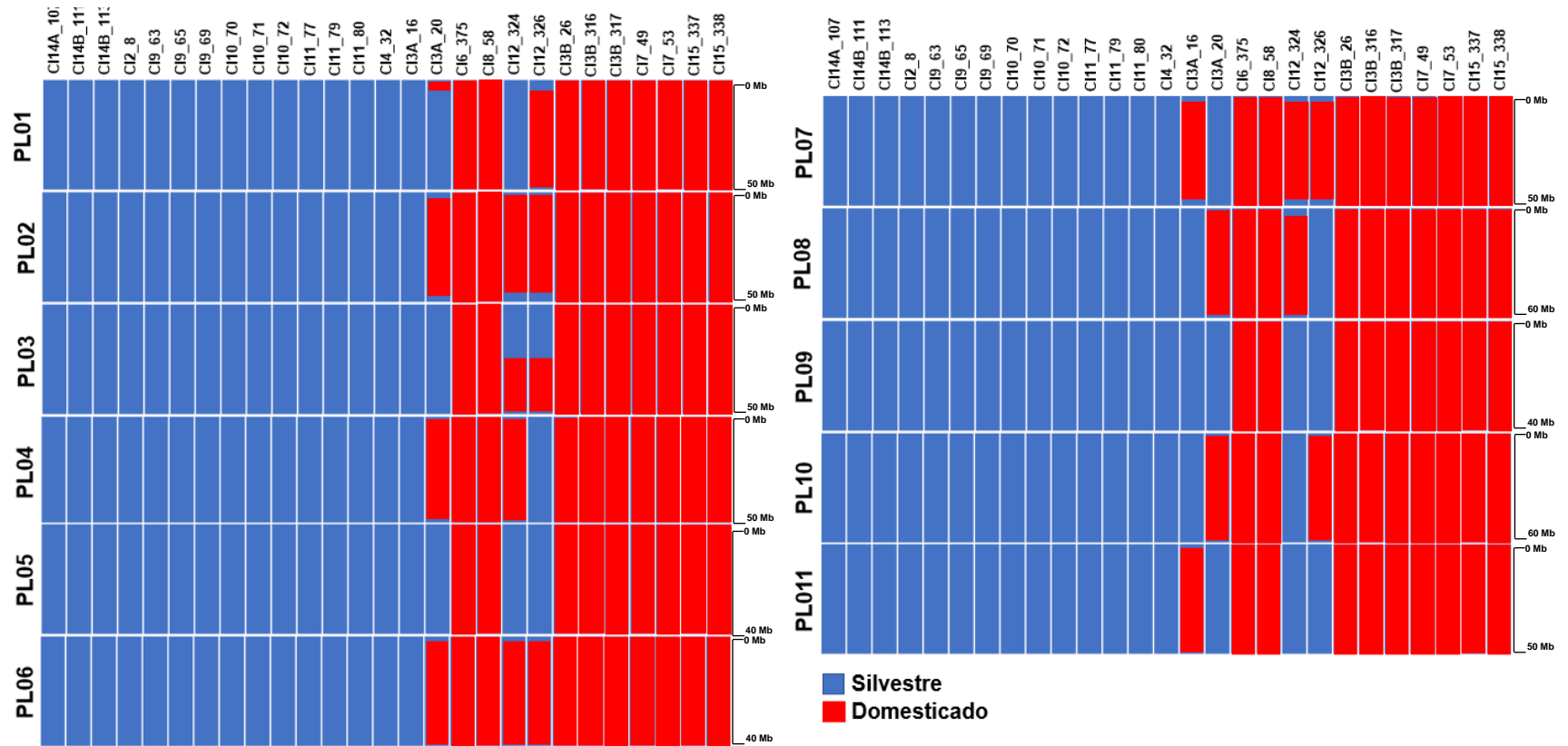
<b>Grupo genético</b>	<b>N</b>	<b>P</b>	<b>%P</b>	<b>He</b>	<b><math>\pi</math></b>
<b>Silvestre</b>	14	2081	13	0.30 ± 0.39	0.04 ± 0.02
<b>Arvense</b>	4	2691	17	0.43 ± 0.34	0.08 ± 0.04
<b>Domesticado</b>	9	1763	11	0.33 ± 0.35	0.04 ± 0.02

N, tamaño de muestra; P, número de loci polimórfico; %P, porcentaje de loci polimórfico; He, heterocigosidad esperada;  $\pi$ , diversidad nucleotídica.

Finalmente, al evaluar eventos de introgresión a nivel de cromosoma con el programa NGSEP, se identificaron 20 posibles eventos de introgresión en 4 individuos del complejo Itzinté, todos con una cobertura mayor a 5 Mbp del genoma (Figura 2.15). En 19 se encontró una cobertura mayor a 10 Mbp del genoma y en 17 se encontró una cobertura mayor a 30 Mbp del genoma (Cuadro 2.4). Se encontró que los 20 eventos correspondieron a introgresiones del acervo domesticado al silvestre, mientras que no se encontró ningún evento de introgresión en individuos domesticados provenientes del acervo silvestre. El individuo CI3A\_20, el cual fue colectado en el sitio 3 del complejo Itzinté, fue el que presentó el mayor nivel de introgresión proveniente de la variedad domesticada de acuerdo a la cobertura encontrada a través de los cromosomas, de más de 55-Mbp en el cromosoma PL08.

**Cuadro 2.4.** Lista de eventos de introgresión interpoblacionales dentro del complejo Itzinté. Inicio y final: indican en que parte del cromosoma se encuentra el segmento introgresado; Longitud: indica la cobertura total del (os) segmento (s) introgresado (s); Grupo genético: indica el acervo al cual pertenece el individuo; Haplotipo introgresado: indica el grupo genético al cual pertenece el segmento introgresado.

<b>Cromosoma</b>	<b>Inicio</b>	<b>Final</b>	<b>Longitud</b>	<b>Accesión</b>	<b>Grupo genético</b>	<b>Haplotipo introgresado</b>
PL01	363,680	6,143,473	<b>5,779,793.00</b>	CI3A_20	Silvestre	Domesticado
PL01	6,174,997	45,056,692	<b>38,881,695.00</b>	CI12_326	Silvestre	Domesticado
PL02	2,613,933	38,186,439	<b>35,572,506.00</b>	CI12_324	Silvestre	Domesticado
PL02	2,613,933	38,186,439	<b>35,572,506.00</b>	CI12_326	Silvestre	Domesticado
PL02	11,250,231	48,145,017	<b>36,894,786.00</b>	CI3A_20	Silvestre	Domesticado
PL03	27,474,025	43,770,995	<b>16,296,970.00</b>	CI12_324	Silvestre	Domesticado
PL03	27,474,025	43,770,995	<b>16,296,970.00</b>	CI12_326	Silvestre	Domesticado
PL04	69,899	45,312,180	<b>45,242,281.00</b>	CI12_326	Silvestre	Domesticado
PL04	69,899	45,312,180	<b>45,242,281.00</b>	CI3A_20	Silvestre	Domesticado
PL06	217,537	34,463,805	<b>34,246,268.00</b>	CI12_324	Silvestre	Domesticado
PL06	217,537	34,463,805	<b>34,246,268.00</b>	CI12_326	Silvestre	Domesticado
PL06	217,537	34,463,805	<b>34,246,268.00</b>	CI3A_20	Silvestre	Domesticado
PL07	2,257,569	44,063,806	<b>41,806,237.00</b>	CI12_324	Silvestre	Domesticado
PL07	2,257,569	44,063,806	<b>41,806,237.00</b>	CI12_326	Silvestre	Domesticado
PL07	2,257,569	44,063,806	<b>41,806,237.00</b>	CI3A_16	Silvestre	Domesticado
PL08	83,973	55,507,089	<b>55,423,116.00</b>	CI3A_20	Silvestre	Domesticado
PL08	8,237,390	55,507,089	<b>47,269,699.00</b>	CI12_324	Silvestre	Domesticado
PL10	1,269,479	49,682,848	<b>48,413,369.00</b>	CI12_326	Silvestre	Domesticado
PL10	1,269,479	49,682,848	<b>48,413,369.00</b>	CI3A_20	Silvestre	Domesticado
PL11	135,586	47,738,355	<b>47,602,769.00</b>	CI3A_16	Silvestre	Domesticado

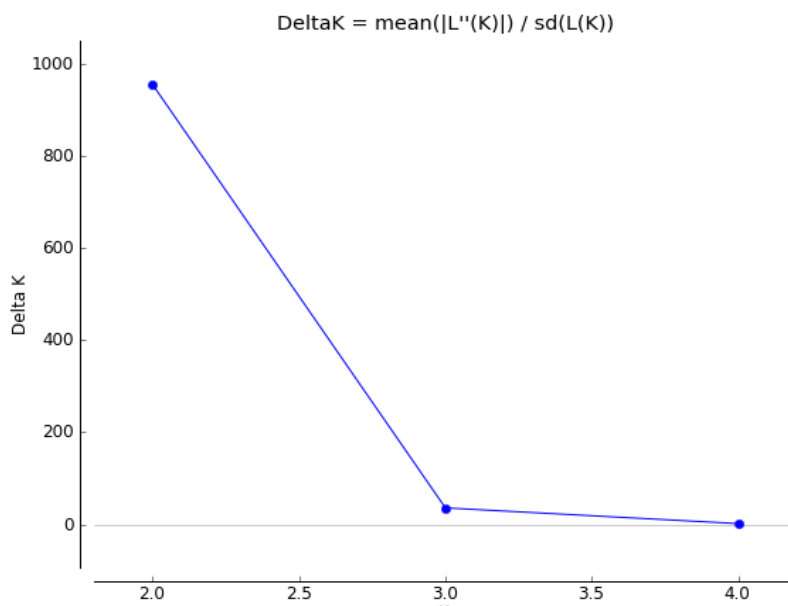


**Figura 2.15.** Representación de las introgresiones intergénicas entre individuos del acervo genético silvestre y domesticado del frijol Lima, basada en los análisis realizados con NGSEP. El grupo genético silvestre en color azul y el domesticado en color rojo, están representados a través de los 11 cromosomas. Cada individuo está representado por una columna. La asignación del lado izquierdo (PL, *Phaseolus lunatus*) indica el número de cromosoma; la asignación del lado derecho representa el tamaño en Mb de cada cromosoma.

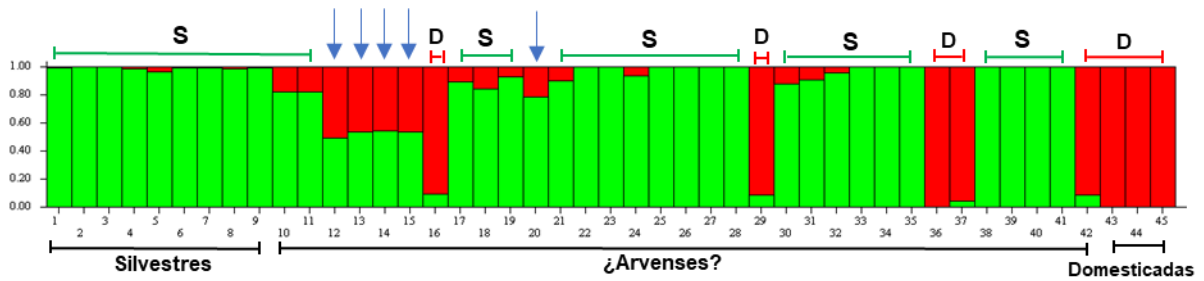


## Complejo Dzitnup

Evaluando el agrupamiento de individuos para identificar posibles individuos con señales de introgresión, el método de Evanno reportó una K óptima de 2 (Figura 2.16). El programa STRUCTURE con una K=2 separó a los individuos domesticados (color rojo) de los silvestres (color verde rojo); sin embargo, se observaron algunos individuos con mezcla genética proveniente de ambos grupos (Figura 2.17). Los resultados de STRUCTURE permitieron identificar a cinco individuos (12, 13, 14, 15 y 20) que fueron colectados en el sitio 2 del complejo Dzitnup y que no cumplieron con el criterio del 80% de membresía, siendo estos considerados como individuos arvenses o “admixed”. Estos cinco individuos son aquellos que presentaron mayores niveles de introgresión genética de acuerdo al análisis realizado con el programa NGSEP (ver más abajo). El análisis con el programa STRUCTURE, además reconoció a otros seis individuos que también presentaron mezcla genética, pero a un menor grado, y que también fueron colectados en el sitio 2 de este complejo.

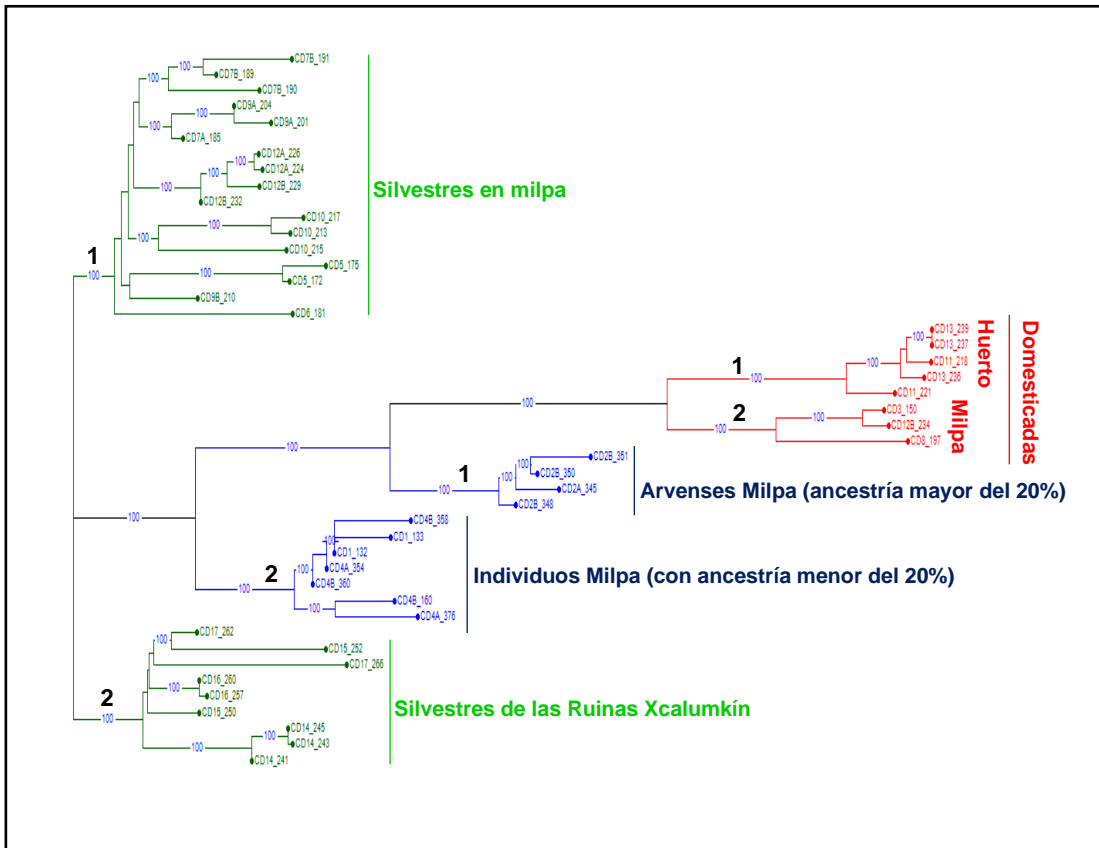


**Figura 2.16.** Gráfica del valor delta K que determina el número ideal de grupos presentes en el complejo Dzitnup.



**Figura 2.17.** Coeficientes de ancestría estimada, para el complejo Dzitnup. Cada individuo está representado por una sola columna. La asignación de la parte de abajo de la figura fue la que se realizó inicialmente al momento de realizar la colecta a partir de las características morfológicas y su ubicación, la asignación de la parte de arriba de la figura representa la agrupación real posterior a los análisis con el programa STRUCTURE: S, individuos silvestres; D, individuos domesticados; las flechas señalan a los 5 individuos arvenses reconocidos.

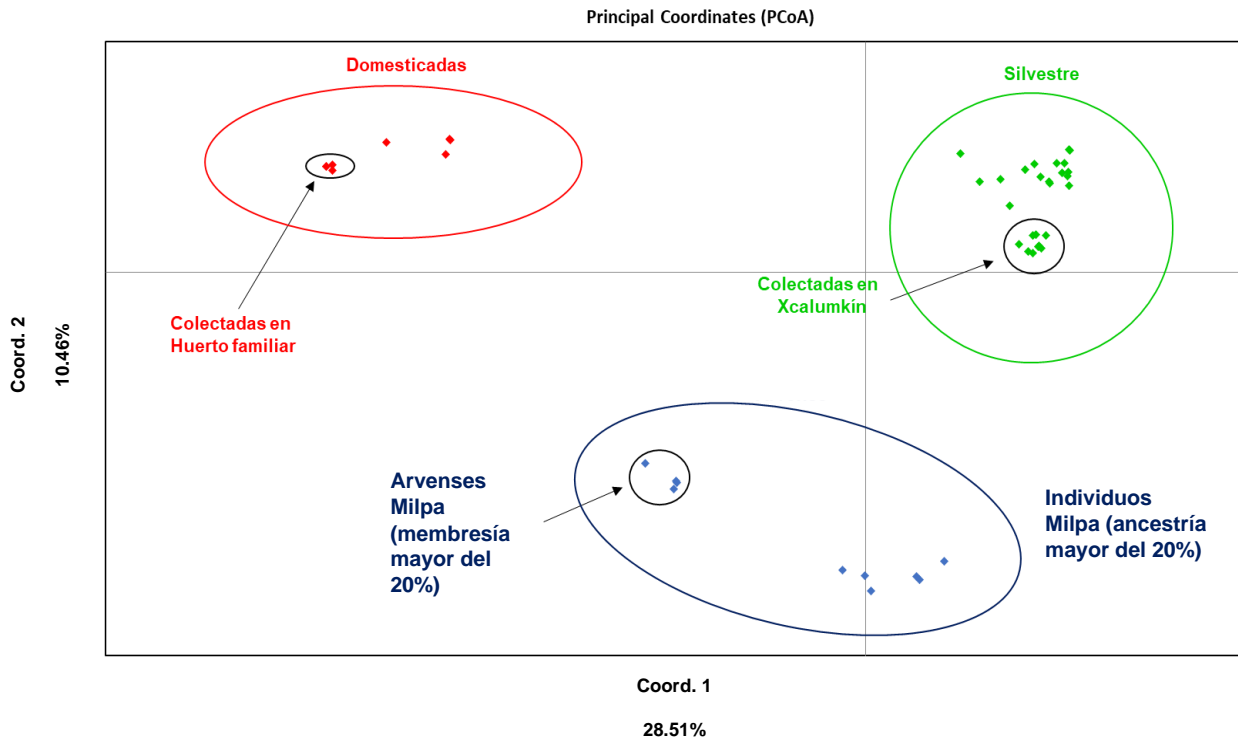
Por su parte, el análisis Neighbor-Joining identificó tres grupos genéticos principales: A) Silvestre (grupo verde); B) Individuos con mezcla genética (grupo azul); C) Domesticado (grupo rojo) (Figura 2.18). Dentro del grupo silvestre se observó una ligera sub-estructuración, incluyendo un subgrupo (1) compuesto por individuos que fueron colectados en el sitio 2 de este complejo (milpa de segundo año donde crecían en extrema proximidad silvestres y domesticadas); y otro subgrupo (2) compuesto por los individuos silvestres que fueron colectados en el sitio 3 (Ruinas de Xcalumkín, creciendo lejos de individuos cultivados) (Figura 2.18). Dentro del grupo de individuos con mezcla genética también se observó una ligera sub-estructuración con un subgrupo (1) compuesto por 4 individuos que fueron colectados en el sitio 2, y un segundo subgrupo (2) compuesto por 7 individuos que también fueron colectados en el sitio 2 (Figura 2.18). Dentro del grupo domesticado se observó una pequeña sub-estructuración con un subgrupo (1) conformado por 3 individuos que fueron colectados en el sitio 1 (huerto familiar) y otro subgrupo (2) conformado por 5 individuos con características domesticadas colectados en el sitio 2 (Figura 2.18).



**Figura 2.18.** Topología Neighbor-Joining que muestra la relación genética entre los grupos del complejo Dzitnup. Los individuos pertenecientes al grupo silvestre en color verde, con la numeración de sus respectivos subgrupos; individuos pertenecientes al grupo Individuos con mezcla genética en color azul, con la numeración de sus respectivos subgrupos, y en el cual únicamente el subgrupo 1 es considerado como “arvense” según la prueba de asignación de individuos de STRUCTURE; individuos pertenecientes al grupo domesticado en color rojo, con la numeración de sus respectivos subgrupos.

Similarmente, el PCoA mostró tres grupos bien definidos, los cuales corresponden a individuos silvestres (figuras verdes), individuos con mezcla genética (figuras azules) e individuos domesticados (figuras rojas) (Figura 2.19). La primera coordenada principal aportó el 28.51% de la variación total y, en conjunto con la segunda coordenada principal, aportaron el 38.97% de la variación observada. Estos tres grupos se encuentran conformados por los mismos individuos que conformaron los cuatro grupos encontrados en

el análisis Neighbor-Joining. Dentro de cada grupo, se puede observar una ligera subagrupación: a) en el grupo domesticado se puede observar que los individuos colectados en el sitio 1 (huerto familiar), se agrupan por separado del resto de individuos domesticados colectados en el sitio 2 (milpa de segundo año donde crecían en extrema proximidad silvestres y domesticadas) ; b) en el grupo silvestre se puede observar que los individuos que fueron colectados en el sitio 2 se agrupan por separado de los individuos silvestres que fueron colectados en el sitio 3; c) en el grupo de individuos con mezcla genética, todos los individuos fueron colectados en el sitio 2, los individuos que fueron determinados como individuos con mezcla genética, pero con una importante parte del coeficiente de ancestría que las identifica como domesticadas (según el STRUCTURE), se agrupan por separado de los individuos que no cumplieron con el criterio del 80% de membresía (según STRUCTURE) y que, por lo tanto, son considerados como individuos “arvenses”.



**Figura 2.19.** Análisis de coordenadas principales del Complejo Dzitnup, en Campeche, México. Los individuos pertenecientes al grupo silvestre se muestran en color verde, con una flecha indicando la sub-agrupación de los individuos colectados en las ruinas de Xcalumkin. Los individuos pertenecientes al grupo domesticado se muestran en color rojo, con una flecha indicando la sub-agrupación de los individuos colectados en el huerto familiar en el poblado de Dzitnup. Los individuos pertenecientes al grupo de individuos con mezcla genética se muestran en color azul, con una flecha señalando la sub-agrupación de los individuos que son considerado como “arvenses” según los resultados de las pruebas realizadas con STRUCTURE y el PCoA.

Tomando en cuenta los resultados obtenidos en los tres análisis (STRUCTURE, Neighbor-Joining y PCoA), podemos considerar la existencia de 3 grupos genéticos que conforman el complejo Itzinté: silvestre, arvense y domesticado. Dentro de estos grupos genéticos, se identificaron 5 individuos con mezcla genética colectados en el sitio 2 y que no cumplieron con el 80% de membresía de algún acervo (domesticado o silvestre), por lo que posiblemente se trate de individuos que ofrezcan señales de un posible proceso de introgresión.

En cuanto a la diversidad genética, de acuerdo al patrón de agrupamiento encontrado en el complejo, se encontró que los individuos identificados como posibles arvenses tienen una mayor diversidad genética en comparación con los grupos silvestre y domesticado. El grupo silvestre tuvo menor diversidad en comparación con el grupo domesticado (Cuadro 2.5).

**Cuadro 2.5.** Estimadores de diversidad genética dentro del complejo Dzitnup, en Campeche, México.

<b>Grupo genético</b>	<b>N</b>	<b>P</b>	<b>%P</b>	<b><math>H_e</math></b>	<b><math>\pi</math></b>
<b>Silvestre</b>	32	4124	27	0.27 ± 0.39	0.08 ± 0.03
<b>Arvense</b>	5	2265	14	0.42 ± 0.32	0.06 ± 0.03
<b>Domesticado</b>	8	1822	12	0.36 ± 0.36	0.04 ± 0.02

N, tamaño de muestra; P, número de loci polimórfico; %P, porcentaje de loci polimórfico;  $H_e$ , heterocigosidad esperada;  $\pi$ , diversidad nucleotídica.

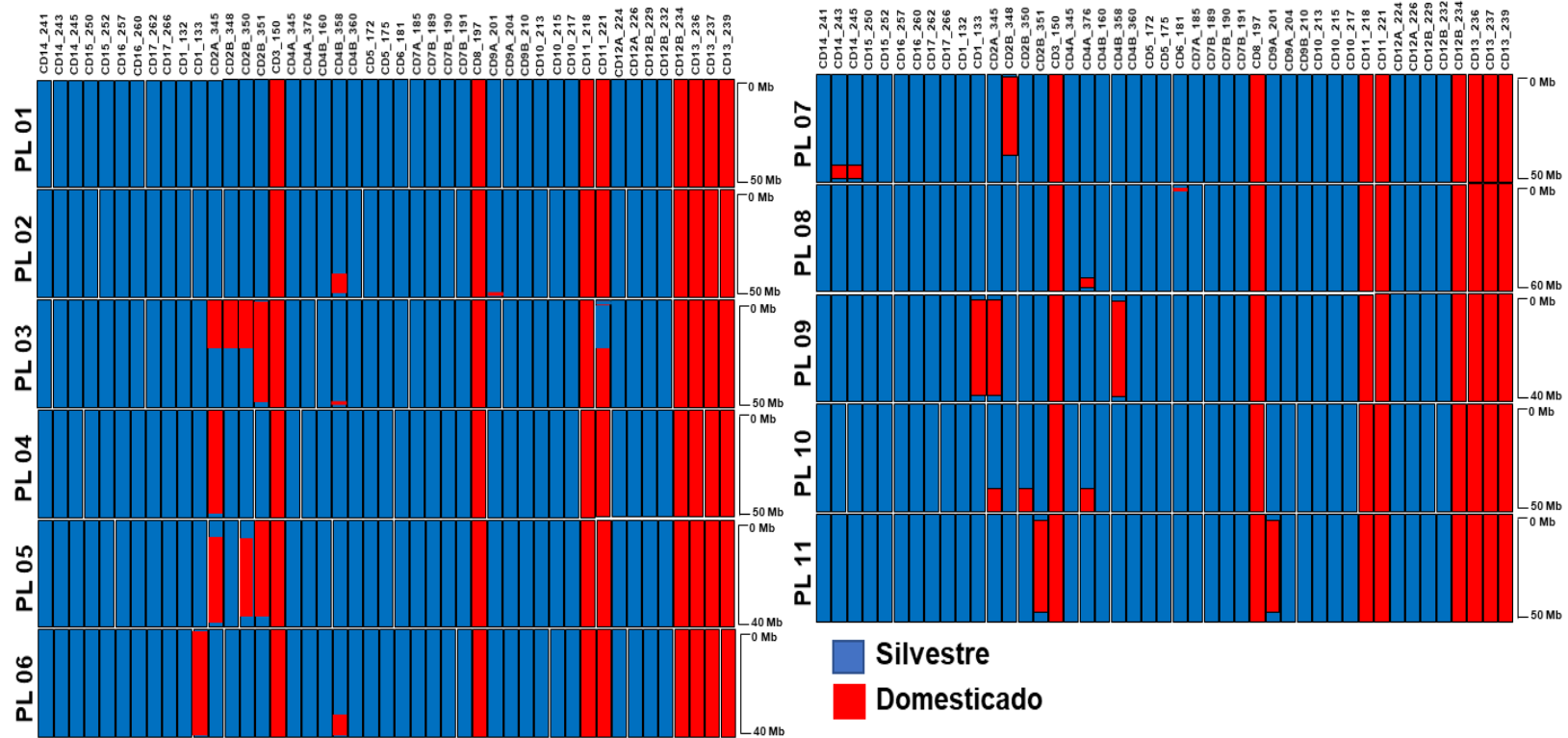
Finalmente, al evaluar eventos de introgresión a nivel cromosoma con el programa NGSEP, se identificaron 32 posibles eventos de introgresión en 12 individuos colectados en el sitio 2 del complejo Dzitnup (Figura 2.20), de los cuales en 26 se encontró una cobertura mayor a 5 Mbp del genoma, en 21 se encontró una cobertura mayor a 10 Mbp del genoma y en 11 se encontró una cobertura mayor a 30 Mbp del genoma (Cuadro 2.6) Se encontró que, de estos 32 posibles eventos de introgresión, 30 correspondieron a introgresiones del acervo domesticado hacia el silvestre, mientras que únicamente 2 fueron del acervo silvestre hacia el domesticado, sugiriendo una introgresión asimétrica, que al

igual que en el complejo Itzinté, fue predominantemente de la variedad domesticada hacia la silvestre. Los 5 individuos silvestres clasificados como “arvenses” con los análisis de estructura genética, fueron en los cuales se encontró mayores niveles de introgresión. Sin embargo, a diferencia de la propuesta realizada únicamente a partir de los análisis de estructura genética, en la cual no fueron considerados como “arvenses” a algunos individuos que sí cumplieron con el 80% de “membresía propia” pero que no eran puros genéticamente al presentar cierto grado de mezcla genética, los análisis de introgresión sugieren que sí existe una importante cantidad de regiones introgresadas en algunos cromosomas de estos individuos localizados dentro del complejo Dzitnup.

**Cuadro 2.6.** Lista de eventos de introgresión interpoblacionales dentro del complejo Dzitnup. Inicio y final: indican en que parte del cromosoma se encuentra el segmento introgresado; Longitud: indica la cobertura total del (os) segmento (s) introgresado (s); Grupo genético: indica el acervo al cual pertenece el individuo; Haplotipo introgresado: indica el grupo genético al cual pertenece el segmento introgresado.

<b>Cromosoma</b>	<b>Inicio</b>	<b>Final</b>	<b>Longitud</b>	<b>Accesión</b>	<b>Grupo genético</b>	<b>Haplotipo introgresado</b>
PL01	1443832	47502090	<b>46,058,258.0</b>	CD2A_345	Silvestre	Domesticada
PL01	1443832	47502090	<b>46,058,258.0</b>	CD2B_348	Silvestre	Domesticada
PL01	1443832	47502090	<b>46,058,258.0</b>	CD2B_350	Silvestre	Domesticada
PL01	1443832	47502090	<b>46,058,258.0</b>	CD2B_351	Silvestre	Domesticada
PL02	31256880	42969990	<b>11,713,110.0</b>	CD4B_358	Silvestre	Domesticada
PL02	46371030	49129119	<b>2,758,089.0</b>	CD9A_201	Silvestre	Domesticada
PL03	116967	23174697	<b>23,057,730.0</b>	CD11_221	Domesticada	Silvestre
PL03	116967	26853304	<b>26,736,337.0</b>	CD2A_345	Silvestre	Domesticada
PL03	116967	26853304	<b>26,736,337.0</b>	CD2B_348	Silvestre	Domesticada
PL03	116967	26853304	<b>26,736,337.0</b>	CD2B_350	Silvestre	Domesticada
PL03	116967	26853304	<b>26,736,337.0</b>	CD2B_351	Silvestre	Domesticada
PL03	116967	44990923	<b>44,873,956.0</b>	CD2B_351	Silvestre	Domesticada
PL03	26902973	31574290	<b>4,671,317.0</b>	CD11_221	Domesticada	Silvestre
PL03	42817195	44990923	<b>2,173,728.0</b>	CD4B_358	Silvestre	Domesticada
PL04	104718	48612365	<b>48,507,647.0</b>	CD2A_345	Silvestre	Domesticada
PL05	44900	33249334	<b>33,204,434.0</b>	CD2B_351	Silvestre	Domesticada
PL05	8100606	33249334	<b>25,148,728.0</b>	CD2B_350	Silvestre	Domesticada
PL05	8100606	36873470	<b>28,772,864.0</b>	CD2A_345	Silvestre	Domesticada
PL06	174682	35212488	<b>35,037,806.0</b>	CD1_133	Silvestre	Domesticada
PL06	27284539	35212488	<b>7,927,949.0</b>	CD4B_358	Silvestre	Domesticada
PL07	345045	35082954	<b>34,737,909.0</b>	CD2B_348	Silvestre	Domesticada
PL07	35136755	39321562	<b>4,184,807.0</b>	CD14_243	Silvestre	Domesticada
PL07	35136755	39321562	<b>4,184,807.0</b>	CD14_245	Silvestre	Domesticada
PL08	6719015	11187631	<b>4,468,616.0</b>	CD5_175	Silvestre	Domesticada
PL08	44809655	52788081	<b>7,978,426.0</b>	CD4A_376	Silvestre	Domesticada
PL09	9998836	31958008	<b>21,959,172.0</b>	CD1_133	Silvestre	Domesticada
PL09	9998836	31958008	<b>21,959,172.0</b>	CD2A_345	Silvestre	Domesticada
PL09	9998836	31958008	<b>21,959,172.0</b>	CD4B_358	Silvestre	Domesticada
PL10	45163176	53012754	<b>7,849,578.0</b>	CD2A_345	Silvestre	Domesticada
PL10	45163176	53012754	<b>7,849,578.0</b>	CD2B_350	Silvestre	Domesticada
PL10	45163176	53012754	<b>7,849,578.0</b>	CD4A_376	Silvestre	Domesticada
PL11	5903338	39367131	<b>33,463,793.0</b>	CD2B_351	Silvestre	Domesticada
PL11	5903338	39367131	<b>33,463,793.0</b>	CD9A_201	Silvestre	Domesticada





**Figura 2.20.** Representación de las introgresiones intergénicas entre individuos del acervo genético silvestre y domesticado del frijol Lima, basada en los análisis realizados con NGSEP. El grupo genético silvestre en color azul y el domesticado en color rojo, están representados a través de los 11 cromosomas. Cada individuo está representado por una columna. La asignación del lado izquierdo (PL, Phaseolus lunatus) indica el número de cromosoma; la asignación del lado derecho representa el tamaño en Mb de cada cromosoma.

## **2.4. DISCUSIÓN**

### **2.4.1. EFECTO DEL FLUJO GENÉTICO ENTRE POBLACIONES SILVESTRES Y DOMESTICADAS DEL FRIJOL LIMA DE LA PENÍNSULA DE YUCATÁN EN SU ESTRUCTURA Y DIVERSIDAD GENÉTICA**

#### **2.4.1.1 GRADO Y DIRECCIONALIDAD DEL FLUJO GENETICO SILVESTRE-DOMESTICADO.**

Los resultados obtenidos con el programa Migrate-N mostraron un flujo genético asimétrico, el cual resultó ser predominantemente de accesiones domesticadas hacia accesiones silvestres. El análisis hecho con STRUCTURE apoyó estos resultados, los cuales fueron evidentes en prácticamente todas las accesiones silvestres colectadas en la PY, excepto en aquellas que fueron colectadas en los estados de Tabasco y la parte más al oeste del estado Campeche, las cuales se ubicaron lejos de cualquier área de cultivo y que al parecer se encuentran aisladas por distancia, impidiendo así el flujo genético con su contraparte domesticada. Martínez-Castillo *et al.* (2007) reportaron resultados similares en cuanto a la asimetría de flujo genético entre individuos domesticados y silvestres de frijol Lima en la Península de Yucatán. Estos autores utilizaron nueve loci de marcadores microsatélites para medir la magnitud y dirección del flujo genético del frijol Lima bajo condiciones de agricultura tradicional maya en cuatro regiones de la PY, México. En total, utilizaron un total de 24 poblaciones: silvestres (11), arvense (1) y domesticadas (12), y reportaron un nivel de flujo genético bajo, pero el cual fue hasta tres veces mayor de poblaciones domesticadas hacia poblaciones silvestres. Ellos señalaron que esto puede deberse a la combinación de tres factores principales: I) la característica itinerante del sistema de agricultura tradicional conocido como milpa; y II) la formación de bancos de semillas en el suelo de *P. lunatus* var. *silvester*; ya que los autores explican que si existen semillas silvestres en el suelo, estas pueden germinar cuando los campesinos corten y quemen la vegetación para implementar un nuevo ciclo agrícola, lo que puede propiciar el crecimiento simpátrico de poblaciones domesticadas y silvestres, incrementado así la posibilidad de un proceso de flujo genético e inclusive introgresión entre ellas; y III) niveles bajos de flujo genético explicados en términos del limitado potencial de entrecruzamiento de la especie y la predominancia de su sistema reproductivo autógeno (Zoro-Bi *et al.*, 2005), su ciclo de vida corto (Maquet *et al.*, 1997) y su limitada capacidad de dispersión natural de polen y semillas de no más de 6 metros (Zoro-Bi *et al.*, 2003).

Eventos de flujo genético silvestre-cultivado asimétrico también han sido reportados para el frijol común (*Phaseolus vulgaris*). Papa & Gepts (2003), utilizando 78 marcadores AFLPs, estudiaron un total de 248 individuos silvestres y 134 individuos domesticados, integrados en dieciocho poblaciones silvestres y trece poblaciones domesticadas, provenientes de diferentes estados de México, pero principalmente enfocado en poblaciones del estado de Chiapas. Estos autores reportaron que el flujo genético era al menos tres veces mayor de individuos domesticados hacia individuos silvestres. Ellos señalaron que el flujo genético asimétrico puede deberse principalmente a dos factores: I) en términos de las diferencias en los tamaños poblacionales entre las domesticadas y las silvestres, en donde, el tamaño poblacional de los individuos domesticados suele ser mayor; II) el rol protagónico de los agricultores en la selección de las semillas bajo un sistema de agricultura tradicional, en donde, los agricultores seleccionan en contra a semillas que presenten características intermedias, principalmente en el color y tamaño, eliminando así posibles “híbridos” y reduciendo la posibilidad de introgresión de germoplasma silvestres hacia el germoplasma domesticado. En otro estudio, Papa *et al.* (2005) utilizaron 78 marcadores AFLPs para estimar la magnitud y dirección del flujo genético entre veinte poblaciones silvestres y domesticadas de tres diferentes áreas del estado de Chiapas evaluando  $F_{ST}$  y  $H$ . Encontraron que, en dos de las tres áreas, los niveles de  $H$  en las poblaciones silvestres eran bajos y que no eran significativamente diferentes de las poblaciones domesticadas. Estos autores explicaron que estos resultados podrían deberse a un flujo genético o introgresión asimétrico predominantemente de poblaciones domesticadas hacia poblaciones silvestres en donde, la baja cantidad de polen generado por las poblaciones silvestres en comparación con las poblaciones domesticadas (nuevamente, tamaño poblacional), en conjunto con la selección diferencial en contra de individuos híbridos por parte de agricultores bajo un sistema de agricultura tradicional, podrían ser factores que explicarían sus resultados. Por último, Zizumbo *et al.* (2005) utilizaron 37 loci de marcadores ISSR para calcular el flujo genético ( $N_m$ ) en tres complejos silvestre-arvense-domesticado ubicados en la región de El Bajío, México, bajo un sistema de agricultura tradicional. Estos autores reportaron que, dentro de los complejos, las poblaciones arvenses se encontraban más relacionadas con las poblaciones domesticadas que con las poblaciones silvestres, sugiriendo un flujo asimétrico predominante de poblaciones domesticadas hacia poblaciones silvestres, o que las poblaciones arvenses pueden haberse originado a partir de un proceso de introgresión de alelos silvestres hacia

las poblaciones domesticadas. Cabe mencionar que estos estudios realizados en frijol común, si bien fueron realizados con poblaciones que se encontraban bajo un sistema de agricultura tradicional, representan condiciones diferentes a las que podemos encontrar en el sistema de agricultura tradicional de la PY, específicamente refiriéndonos a la milpa maya y su característico sistema itinerante.

La asimetría encontrada en el flujo genético silvestre-cultivado del frijol Lima en este estudio, y la reportada por los diferentes estudios realizados en el género *Phaseolus* (Martínez-Castillo *et al.*, 2007; Papa *et al.*, 2005; Zizumbo *et al.*, 2005; Papa & Gepts, 2003), puede ser explicada en términos de la diferencia en el tamaño poblacional, que, por lo general es mayor en las poblaciones domesticadas en comparación con las poblaciones de sus parientes silvestres, así como también por los diferentes tipos de sistemas agrícolas bajo las que se encuentren y los diferentes tipos de selección en los ambientes silvestre y cultivado (Papa & Gepts, 2004). Asimismo, Papa *et al.* (2005), sugieren que en el ambiente de los cultivos, los agricultores juegan un papel fundamental en la selección en contra de los individuos que presenten características silvestres o arvenses, sobre todo si consideramos que los “alelos domesticados” suelen ser recesivos (Papa & Gepts, 2004), lo cual hace muy probable que la primera generación híbrida denote algunas características silvestres en caso de existir un flujo genético de poblaciones silvestres hacia las domesticadas, ocasionando su fácil detección y eliminación por parte de los agricultores. Estos factores suelen ser determinantes en la dinámica del flujo genético existente entre poblaciones silvestres y domesticadas de frijol Lima en la PY.

#### **2.4.1.2 ESTRUCTURA GENETICA.**

Los resultados obtenidos con los análisis de Neighbor-Joining, PCoA y STRUCTURE de las accesiones provenientes de la Península de Yucatán (PY) fueron congruentes, apoyando la existencia de dos grupos genéticos claramente diferenciados: uno integrado por accesiones silvestres pertenecientes al acervo genético MII y otro grupo representado por accesiones domesticadas pertenecientes al acervo genético MI. La existencia de ambos grupos genéticos de frijol Lima en la PY encontrados en este estudio, concuerda con lo previamente reportado por Chacón-Sánchez y Martínez-Castillo (2017), donde utilizaron 270 accesiones, silvestres (160) y domesticadas (110) de frijol Lima de los acervos Mesoamericanos (MI y MII) y Andino, y 4,779 marcadores SNPs para evaluar dos posibles escenarios de domesticación en Mesoamérica. Estos autores reportaron la presencia de

accesiones domesticadas y silvestres en la PY, así como también accesiones pertenecientes a los acervos MI y MII. En otros estudios, Andueza-Noh *et al.* (2013) utilizaron 262 accesiones silvestres y domesticadas de frijol Lima pertenecientes al acervo Mesoamericano, las cuales fueron caracterizadas con dos espaciadores intergénicos de ADN de cloroplasto (*atpB-rbcL* y *trnL-trnF*) para evaluar posibles eventos de domesticación en el acervo genético Mesoamericano a nivel Latinoamérica. A su vez, reportaron la presencia de accesiones pertenecientes a las variedades domesticada y silvestre en la PY, así como también accesiones pertenecientes a los acervos MI y MII. Serrano-Serrano *et al.*, (2012), utilizaron 151 accesiones silvestres (92) y domesticadas (59) de frijol Lima del acervo Mesoamericano y la región espaciadora interna transcrita (ITS) de ADN ribosomal para saber cuándo y cuántas veces fue domesticado el frijol Lima en Mesoamérica. Estos autores también reportaron la presencia de accesiones pertenecientes a las variedades domesticada y silvestre en la PY, así como también accesiones pertenecientes a los acervos MI y MII.

En este estudio, cabe destacar que las 19 accesiones silvestres que fueron colectadas en los estados de Tabasco (lugar donde no se practica el cultivo del frijol Lima) y Campeche (colectadas en regiones alejadas de milpas), resultaron ser accesiones genéticamente “puras”, en comparación con la gran mayoría de accesiones silvestres que fueron colectadas en el resto de la PY, las cuales presentaron cierta mezcla genética proveniente de las accesiones domesticadas. Este resultado remarca la importancia del aislamiento por distancia en el frijol Lima en la PY, ya que, a pesar de presentar poblaciones silvestres y domesticadas con una distribución similar, este aislamiento puede ser suficiente para evitar el flujo genético entre poblaciones distantes y mantener una estructura marcada entre las variedades domesticada y silvestre. La limitante del flujo genético por distancia puede ser explicado en términos de la biología reproductiva de esta especie, como: a) su sistema de reproducción predominantemente autógamo, favorecido por la sincronía de la maduración del polen y el estigma (Webster *et al.*, 1979); y b) su reducido rango de dispersión natural de polen y semillas de no más 6 metros (Zoro-Bi *et al.*, 2003; Baudoin *et al.*, 1998).

Contrastando con lo anterior, el flujo asimétrico encontrado en este estudio y reportado para el género *Phaseolus* (Martínez-Castillo *et al.*, 2007; Papa *et al.*, 2005; Zizumbo *et al.*, 2005; Papa & Gepts, 2003), podría estar jugando un rol muy importante en

la estructura genética de algunas poblaciones de frijol Lima en la PY, y particularmente en las poblaciones silvestres, que son las que suelen recibir en mayor magnitud este flujo proveniente de su contraparte domesticada. Ellstrand (2013; 2010; 2003; 1999) ha discutido ampliamente los efectos adversos que este flujo hacia las poblaciones silvestres puede representar, por ejemplo: a) impactar negativamente en la diversidad genética de las poblaciones silvestres al ocasionar una reducción de la misma; o b) el incremento en las tasas de extinción local en poblaciones nativas y reducción de su potencial evolutivo, es decir, la capacidad de adaptarse a cambios ambientales (Epps, *et al.*, 2005), efecto relacionado también con la reducción de la diversidad genética.

#### **2.4.1.3 DIVERSIDAD GENETICA.**

En este estudio se encontraron, en general, niveles moderados de diversidad genética en las accesiones analizadas de frijol Lima de la PY. Las accesiones silvestres mostraron niveles medios de diversidad genética ( $H_e = 0.270$ ), por encima de los encontrados en las accesiones domesticadas ( $H_e = 0.170$ ). Esta diferencia en el nivel de diversidad genética entre ambos acervos puede deberse a un efecto característico del cuello de botella que se presenta durante el proceso de domesticación (reducción de la diversidad genética) y/o a una posterior introducción del cultivo de frijol Lima a la PY (Andueza-Noh *et al.*, 2015). Resultados similares a los encontrados en este trabajo han sido reportados por otros autores. Chacón-Sánchez y Martínez-Castillo (2017) utilizando 4,779 marcadores SNPs reportaron que las accesiones silvestres del acervo MII ( $H_e = 0.138$ ) eran más diversas que las accesiones domesticadas del acervo MI ( $H_e = 0.079$ ). Los niveles de diversidad encontrados en nuestro estudio y en el de Chacón-Sánchez y Martínez-Castillo (2017) difieren, siendo mayores los valores encontrados en este estudio, debido posiblemente al número de SNPs utilizados (15,171 vs 4,779) y/o por la escala en la que se realizaron los estudios (Península de Yucatán vs Latinoamérica); sin embargo, ambos reportaron mayor diversidad genética en las accesiones silvestres. En otro estudio, Ruiz-Gil (2018), utilizando 9,475 marcadores SNPs, reportó una diversidad genética media, similar a la reportada en este estudio, en accesiones silvestres del acervo Mesoamericano ( $H_e = 0.302$ ), en un estudio realizado a nivel México.

Diversos estudios realizados con diferentes marcadores moleculares, escala geográfica y variedad botánica han reportado también niveles de diversidad genética mayores en el acervo silvestre que en el acervo domesticado. Andueza-Noh *et al.* (2013),

analizaron 80 accesiones silvestres y 85 domesticadas de frijol Lima pertenecientes al acervo Mesoamericano utilizando dos espaciadores intergénicos de ADN de cloroplasto (*atpB-rbcL* y *trnL-trnF*), reportando una mayor diversidad en las accesiones silvestres en comparación con las domesticadas ( $H_d = 0.634$  y  $H_d = 0.262$ , respectivamente), explicando que esta reducción en la diversidad de las accesiones domesticadas se debe probablemente a la existencia de un efecto fundador durante el proceso de domesticación.

Otros estudios han analizado solamente la diversidad genética de un acervo, pero siempre se han reportado niveles mayores de diversidad genética en el acervo silvestre que en el domesticado. Martínez-Castillo *et al.* (2006), utilizaron 8 loci de microsatélites para analizar la diversidad genética de once poblaciones silvestres de la Península de Yucatán, reportando una alta diversidad genética ( $H = 0.69$ ), explicando que esta alta diversidad puede deberse a la antigüedad y buen estado de conservación de las poblaciones silvestres en la PY. Martínez-Castillo *et al.* (2014), utilizaron 10 loci de microsatélite para analizar la diversidad genética de 67 accesiones silvestres de México, reportando una alta diversidad genética ( $H_e = 0.61$ ). Ruiz-Gil *et al.* (2016), utilizaron 8 loci de microsatélites para analizar la diversidad genética de accesiones silvestres del estado de Chiapas, México, reportando una diversidad alta ( $H_e = 0.48$ ). Martínez-Castillo *et al.* (2008), utilizaron 90 loci ISSR para analizar la diversidad de 21 razas de frijol Lima en la Península de Yucatán, reportando una diversidad media ( $H = 0.31$ ). Camacho-Pérez *et al.* (2017) utilizaron 75 loci ISSR para analizar la diversidad genética de 46 accesiones domesticadas provenientes del área Maya reportando una alta diversidad ( $H_{BAY} = 0.44$ ), señalaron también que la diversidad genética de las Tierras Bajas Mayas (porción mexicana de la Península de Yucatán) fue mayor a la de Tierras Altas (Chiapas y Guatemala). Todos estos estudios reportan valores de diversidad genética ( $H$ ) mayores a lo reportado en el presente trabajo; sin embargo, esto puede deberse a diferencias en el tipo de marcador molecular utilizado, tamaños de muestra, metodologías, orígenes del material vegetal (campo o bancos de semillas), razas o variedades locales; por lo que las comparaciones pueden no ser tan precisas y tendrían que tomarse con reserva.

#### **2.4.2 INTROGRESIÓN GENÉTICA EN DOS COMPLEJOS SILVESTRE-ARVENSE-DOMESTICADO DE LA PENÍNSULA DE YUCATÁN.**

La introgresión genética entre poblaciones silvestres y domesticadas de frijol Lima en la Península de Yucatán (PY) parece ser un proceso que no es inusual, y que probablemente

es favorecido por la naturaleza itinerante del sistema de cultivo milpa (Martínez-Castillo *et al.*, 2007), el sistema de apareamiento mixto de la especie del cual se han reportado tasas de entrecruzamiento de hasta el 48% (Baudoin *et al.*, 1998) y los bancos de semillas silvestres que pueden formarse en el suelo, las cuales pueden permanecer viables hasta tres años después de su dispersión natural (Degreef *et al.*, 2002). Estos factores, pueden favorecer el crecimiento simpátrico y entrecruzamiento e introgresión entre individuos de poblaciones silvestres y domesticadas de frijol Lima, a pesar de existir reportes acerca de tasas bajas de flujo genético para la especie (Martínez-Castillo *et al.*, 2007) y una dispersión natural limitada de polen y semillas de no más de 6 metros (Zoro-Bi *et al.*, 2003).

Los resultados obtenidos en el presente trabajo sugieren la existencia de eventos de introgresión en los dos complejos estudiados; sin embargo, el número de eventos fue mayor dentro del complejo Dzitnup, el cual posee una antigüedad muy reciente en comparación con el complejo Itzinté. Dentro del complejo Itzinté únicamente se registraron introgresiones del acervo silvestre hacia el domesticado, mientras que en el complejo Dzitnup se reportaron un par de introgresiones en sentido opuesto. En conjunto, la introgresión genética es predominante del acervo domesticado hacia el silvestre, un resultado que fue congruente con el flujo genético asimétrico encontrado a nivel PY. Aun cuando la diferencia de antigüedad entre los complejos Dzitnup e Itzinté no pareciera representar diferencias marcadas en el nivel de introgresión, es importante señalar que en el complejo Dzitnup no solo se encontró un mayor número de eventos de introgresión, sino que también se encontró que algunos de estos bloques o segmentos introgresados eran relativamente pequeños, de no más de 5 Mbp, los cuales se encontraron en algunos individuos que de acuerdo a los análisis de estructura genética (consultar más abajo) presentaban un grado de mezcla genética bajo (de menos del 25% del coeficiente de ancestría). Este fue un resultado poco esperado dentro de un complejo joven, ya que el tamaño de los bloques genómicos, en algunos casos, puede servir como un indicativo de la antigüedad de estos bloques de ancestría, ya que se esperaría que los híbridos recién formados F1 contengan una importante cantidad de información genética de ambos parentales, formando grandes bloques genómicos de ancestría contigua, y que posteriormente mediante recombinación genética ocurriría una interrupción de estos bloques de ancestría contigua y consecuentemente la cantidad de bloques se acumulará mientras que su tamaño disminuirá de generación en generación (Janzen, Nolte & Traulsen, 2018; Tung *et al.*, 2008).



Actualmente, existen pocos estudios en los cuales se haya realizado una comparación en los niveles o número eventos de introgresión entre complejos o zonas híbridas con diferentes años de antigüedad. Estudios similares se han centrado más en la dinámica de flujo genético e hibridación en zonas híbridas y no tanto en introgresión como tal, así como también en los cambios en la estructura genética y patrones demográficos de los híbridos en una escala espacio-temporal (Walsh *et al.*, 2017; Senn *et al.*, 2010; Senn & Pemberton, 2009; Tung *et al.*, 2008). Sin embargo, la mayoría de estos estudios difícilmente pueden servir como un punto de comparación preciso, puesto que: a) han sido realizados con diferentes marcadores moleculares; b) fueron realizados en escalas espacio-temporales muy diferentes; y c) han sido realizados con diferentes modelos biológicos, tomando en cuenta que, por ejemplo, el tiempo que tardan en aparecer nuevas generaciones a través de la reproducción puede variar mucho dependiendo de la especie.

Si bien los resultados encontrados dentro de los dos complejos con diferentes años de antigüedad no ofrecen señales claras de diferenciación entre los eventos de introgresión, es importante recalcar que la hibridación y la introgresión en zonas híbridas son procesos dinámicos que se encuentran sujetos a fuerzas evolutivas como la selección y la deriva, por lo que suelen cambiar constantemente a través del tiempo y el espacio (Walsh *et al.*, 2017; Abbott *et al.*, 2013), lo que puede generar mucha variación en la composición del mosaico de introgresiones a través de los cromosomas.

Los diferentes análisis utilizados para determinar el patrón de agrupamiento y entender mejor el proceso de introgresión genética en ambos complejos, permitieron definir tres principales grupos genéticos en cada uno de los complejos: silvestres, arvenses y domesticados. Ambos complejos tuvieron una sub-estructuración en sus grupos genéticos: el grupo silvestre se subdividió entre los individuos silvestres que fueron colectados en sitios donde crecían junto con individuos domesticados, de los individuos que fueron colectados alejados unos metros (no más de 1000); el grupo domesticado se subdividió entre los individuos que fueron colectados en sitios creciendo junto con individuos silvestres, de los individuos que fueron colectados alejados unos metros (no más de 1000). Es posible que esta subdivisión de los grupos domesticado y silvestre pueda deberse a que los individuos colectados en sitios de contacto genético hayan atravesado posiblemente por algún proceso de flujo genético o introgresión, si bien no lo suficientemente fuerte para ser considerados como arvenses (según STRUCTURE), parecieran separarse ligeramente de

los individuos silvestres y domesticados “puros” que fueron colectados a algunos metros de los sitios de contacto. También se observó una sub-estructuración en el grupo “arvense” de los complejos, ya que se subdividieron los individuos que resultaron ser únicamente individuos con mezcla genética (de más del 80% de ancestría) de los individuos que fueron reconocidos como arvenses (de menos del 80% de ancestría), según STRUCTURE.

Interesantemente, se encontró que todos los individuos que presentaron algún patrón de introgresión, fueron colectados únicamente en los sitios de contacto físico (sitio 2 de Dzitnup y sitio 3 de Itzinté), es decir, sitios en los cuales se colectaron creciendo juntos individuos domesticados y silvestres (previamente determinados por sus características morfológicas). Nuevamente, al igual que lo encontrado a nivel PY, el aislamiento por distancia puede representar un papel importante, ya que puede limitar el flujo genético e introgresión entre los acervos domesticado y silvestre dentro de los complejos.

Aunque en el presente estudio no se realizaron análisis morfológicos de las semillas, las características morfológicas intermedias observadas en los diferentes sitios de contacto de ambos complejos fueron contrastantes. Las semillas encontradas en el sitio de contacto del complejo Dzitnup (milpa de segundo año), presentaron patrones de tamaño y coloración mucho más diversos que las semillas encontradas en el sitio de contacto del complejo Itzinté (con mayor antigüedad). Este patrón más uniforme encontrado en el complejo Itzinté puede deberse al tiempo en que se ha cultivado el frijol Lima en esta zona, de al menos 20 años (Martínez-Castillo, 2005), en el cual probablemente se haya mantenido un proceso de flujo genético e introgresión entre poblaciones silvestres y domesticadas como resultado de la tolerancia de los campesinos de este lugar a la presencia de individuos silvestres y arvenses de frijol Lima coexistiendo con sus materiales cultivados.

El flujo genético y la introgresión son procesos microevolutivos que pueden ser de gran importancia para la evolución de las variedades cultivadas, ya que ambos favorecen la incorporación de regiones genómicas adaptativas que permiten la adaptación de variedades locales a ambientes fuera de sus centros de domesticación o cultivo (Rendón-Anaya *et al.*, 2017). Algunos autores sugieren que es probable que la introgresión adaptativa sea más frecuente entre linajes recientemente divergentes, donde la acumulación de “incompatibilidades híbridas” no es tan avanzada como para impedir el intercambio de loci adaptativos cuando los linajes entren en contacto (Hamlin *et al.*, 2020).

No obstante, la prevalencia de los eventos de introgresión en las poblaciones, y, por lo tanto, su importancia en la configuración evolutiva de las especies, recién comienza a ser objeto de estudio (Folk *et al.*, 2018).

En este trabajo se encontró un patrón similar en la diversidad genética de los grupos encontrados al interior de cada complejo. Si comparamos la diversidad genética del acervo genético silvestre encontrado en la PY ( $H_e = 0.27$ ), ésta es muy similar a la diversidad genética encontrada en los individuos silvestres de los complejos Dzitnup e Itzinté ( $H_e = 0.27$  y  $H_e = 0.30$ , respectivamente). También, se encontró que los individuos domesticados tenían mayor diversidad genética que los individuos silvestres de los complejos Dzitnup e Itzinté ( $H_e = 0.36$  y  $H_e = 0.33$ , respectivamente), a diferencia de lo encontrado en los análisis de diversidad genética a nivel PY. Esta diversidad genética media encontrada en los individuos domesticados presentes en ambos complejos, inclusive mayor que la de los individuos silvestres, puede ser explicada en términos de la importancia que representa la introgresión silvestre-domesticada como un posible factor que puede ayudar a incrementar la diversidad genética de los cultivos, como han sugerido algunos autores (Dzul-Tejero *et al.*, 2014; Hajjar y Hodking, 2007; Zizumbo-Villareal *et al.*, 2005).

Interesantemente, tanto en el complejo Dzitnup como en el complejo Itzinté, los grupos genéticos compuestos por los individuos arvenses mostraron los niveles de diversidad genética más altos dentro de cada complejo ( $H_e = 0.420$  y  $H_e = 0.430$ , respectivamente), lo cual sugiere que estos individuos “arvenses” pueden ser el resultado de hibridación y posterior introgresión, puesto que estos mismos individuos mostraron evidencia de segmentos genómicos introgresados al realizar los análisis de introgresión. Así, estos grupos están compuestos por individuos con una elevada diversidad genética generada, posiblemente, por un proceso conocido como heterosis o “vigor híbrido”, en el cual los individuos híbridos tienen un mejor desempeño que el de sus parentales (Miyaji & Fujimoto, 2018). El vigor híbrido es un proceso que ha sido de mucho interés, principalmente en el área agronómica para el mejoramiento del rendimiento de los cultivos con la utilización de estos individuos híbridos. Este proceso ha sido estudiado principalmente en cultivos de importancia alimentaria a nivel mundial como el maíz (Huanuqueño, Casas & Jiménez, 2019; Romagnoli *et al.*, 1990; Nebiolo *et al.*, 1983), el arroz (Feng *et al.*, 2017; Huang, *et al.*, 2015; Cheng *et al.*, 2007) o el trigo (Karimizadeh, Sharifi & Mohammadi, 2020; Kumar *et al.*, 2020).

La alta diversidad genética de los individuos arvenses encontrados en los complejos Dzitnup y Itzinté, podría indicar que estos sitios inter-reproductivos pueden representar una importante fuente de variación genética para las poblaciones domesticadas de frijol Lima en la Península de Yucatán. Si los agricultores se ven beneficiados por las variantes generadas en estos sitios de contacto genético, por ejemplo, incluyendo en su dieta las poblaciones arvenses, la presencia de estos complejos silvestre-arvense-domesticado pueden ser indicativos de sitios en los cuales puede estar sucediendo un proceso de domesticación incipiente (Beebe *et al.*, 1996). Por el contrario, si los agricultores se ven perjudicados a causa de este proceso de flujo genético e introgresión hacia sus cultivos, por ejemplo, si estos modifican las características morfológicas o de sabor de sus cultivos y limitando así su venta o consumo, probablemente limiten y seleccionen en contra a estos individuos con herencia intermedia. Por lo que, los agricultores juegan un papel fundamental en el manejo, mantenimiento y aprovechamiento de estos complejos como posible fuente de variación genética para sus cultivos. Estos factores podrían ser determinantes en el efecto del flujo genético y la introgresión sobre la diversidad y estructura genética de los complejos silvestre-arvense-domesticado.

A la fecha, solo existe un trabajo sobre introgresión genética que ha sido realizado en condiciones similares al presente estudio en cuanto al sistema de agricultura tradicional maya bajo el que fue realizado, la ubicación (PY) y usando complejos inter-reproductivos silvestre-arvense-domesticado, el cual arrojó resultados similares en cuanto a la estructura y diversidad genética. Dzul-Tejero *et al.* (2014), utilizando 11 loci de microsatélites, evaluaron los niveles de introgresión y su impacto en la diversidad genética del frijol Lima en tres milpas mayas en la PY, en las cuales también crecían plantas silvestres. Sus resultados mostraron que los niveles de introgresión fueron variables entre las tres milpas, sugiriendo que estas diferencias se debieron a selección de los agricultores sobre las semillas introgresadas y/o a las prácticas culturales de cada agricultor las cuales pueden favorecer o impedir la introgresión entre poblaciones silvestres y cultivadas; además, también reportaron niveles mayores de diversidad genética en las poblaciones cultivadas de aquellas milpas en las cuales se encontraron los mayores niveles de introgresión. A diferencia del trabajo de Dzul-Tejero *et al.* (2014), en el presente estudio se utilizaron marcadores SNPs, lo cual permite tener una mayor cobertura del genoma y realizar análisis de introgresión más especializados. Esto a su vez, permite utilizar métodos con mayor

capacidad de detección de eventos de introgresión que pueden llegar a pasar desapercibidos cuando se realizan análisis únicamente a partir de rasgos fenotípicos o de estructura genética. En el presente estudio algunos individuos no fueron identificados como “arvenses” por el programa STRUCTURE, pero sí presentaron segmentos introgresados en su genoma según el programa NGSEP.

En estudios realizados en frijol común, Beebe *et al.* (1996), utilizaron características morfológicas y patrones de faseolinas para estudiar posibles eventos de introgresión en complejos silvestre-arvense-domesticado presentes en Perú y Colombia. Estos autores reportaron, a partir de las faseolinas, que había ocurrido un intercambio genético en estos sitios de contacto genético; además, reportaron algunos tipos de faseolina introducidos desde otras regiones que se encontraban en etapas incipientes de introgresión en las poblaciones locales. También observaron tipos locales de faseolina en todos los componentes de los complejos, desde individuos totalmente silvestres hasta totalmente cultivados, sugiriendo que los complejos habían experimentado un largo proceso de introgresión. Estos autores sugieren que el activo intercambio genético que suele ocurrir en este tipo de complejos puede representar importantes fuentes de variación; sin embargo, también señalan que es importante saber en qué grado esta generación de nueva variabilidad está siendo realmente aprovechada por los agricultores, ya que difícilmente pueden reconocerla más allá de las características fenotípicas de las semillas.

La diversidad genética alta encontrada en individuos domesticados y arvenses dentro del sitio de contacto de los complejos, sugiere que este aumento en la diversidad ocasionada por el flujo genético y la introgresión, es evidencia que puede servir para diseñar mejores planes de mejoramiento o conservación del frijol Lima en la PY. Estos planes se basan en el aumento en la heterocigosidad y creación de nuevas combinaciones genéticas a través de la hibridación, reduciendo potenciales riesgos de extinción de algunas poblaciones al aumentar el potencial adaptativo (Chan, Hoffmann & van Oppen, 2019).

## CONCLUSIONES

Con la evidencia generada en este trabajo, se puede concluir que:

Se cumple la primera hipótesis planteada, puesto que se encontró un nivel de flujo genético bajo y asimétrico a nivel PY, que fue predominantemente de poblaciones domesticadas hacia silvestres. Lo cual posiblemente estuvo determinado, principalmente, por la naturaleza autógama del frijol Lima y la diferencia en los tamaños poblacionales de ambos acervos.

La evidencia generada, concuerda con lo encontrado en trabajos anteriores y confirma la presencia de individuos con mezcla genética proveniente de los acervos domesticado y silvestre, así como de los acervos MI y MII, apoyando la segunda hipótesis planteada en este trabajo.

Se encontraron niveles altos de diversidad genética en el acervo cultivado, específicamente en individuos encontrados dentro de los complejos, denotando la importancia del rol que puede representar el flujo genético y la introgresión en la diversidad genética de las poblaciones domesticadas de frijol Lima en la PY. Confirmando así, la tercera hipótesis.

Congruente con la cuarta hipótesis planteada, se encontró una diferenciación genética (estructura) alta entre el acervo domesticado y el silvestre en la PY, posiblemente determinada por el papel de los agricultores y la selección en contra de individuos silvestres cerca de sus cultivos, la selección natural seleccionando en contra a los alelos domesticados en poblaciones silvestres, la baja tasa de entrecruzamiento y predominancia hacia la autogamia de la especie, así como el aislamiento por distancia entre poblaciones.

Contrario a lo planteado en la quinta hipótesis, no se encontraron señales claras de diferencias en las tasas de introgresión entre dos sitios de contacto genético con diferentes años de antigüedad. Sin embargo, cabe mencionar que la dinámica de flujo genético e introgresión dentro de estos complejos puede ser muy variable en el tiempo y el espacio, y que, aunado a la selección por parte de los agricultores, serán fuerzas que determinarán la ruta evolutiva de las poblaciones de los complejos.

## BIBLIOGRAFÍA

Abbott, R., Albach, D., Ansell, S., Arntzen, J. W., Baird, S. J., Bierne, N., Boughman, J., Brelsford, A., Buerkle, C. A., Buggs, R., Butlin, R. K., Dieckmann, U., Eroukhmanoff, F., Grill, A., Cahan, S. H., Hermansen, J. S., Hewitt, G., Hudson, A. G., Jiggins, C., Jones, J., Kelleer, B., Marczewski, T., Mallet, J., Martínez-Rodríguez, P., Möst, M., Mullen, S., Nichols, R., Nolte, A. W., Parisod, C., Pfennig, K., Rice, A. M., Ritchie, M. G., Seifert, B., Smadja, C.M., Stelkens, R., Szymura, J. M., Väinölä, R., Wolf, J. B. W. & Zinner, D. (2013). Hybridization and speciation. *Journal of evolutionary biology*, 26(2), 229–246.

Ali, J., Aslam, U. M., Tariq, R., Murugaiyan, V., Schnable, P. S., Li, D., Marfori-Nazarea, C. M., Hernández, J., Arif, M., Xu, J., Li, Z. (2018). Exploiting the Genomic Diversity of Rice (*Oryza sativa* L.): SNP-Typing in 11 Early-Backcross Introgression-Breeding Populations. *Frontiers in Plant Science*. 9.

Alkan, C., Coe, B. P., Eichler, E. E. (2011). Genome structural variation discovery and genotyping. *Nat Rev Genet*. 12:363-376.

Al-Samarai, Firas & A. Al-Kazaz, Abdulkareem. (2015). Molecular Markers: an Introduction and Applications. *European Journal of Molecular Biotechnology*. 9: 118-130.

Anderson, E. (1953). Introgressive Hybridization. *Biological Reviews*. 28(3): 280–307.

Andueza-Noh, R. H., Martínez-Castillo, J., & Chacón-Sánchez, M. I. (2015). Domestication of small-seeded lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) landraces in Mesoamerica: evidence from microsatellite markers. *Genética*. 143(6): 657–669.

Andueza-Noh, R. H., Serrano-Serrano, M. L., Chacón Sánchez, M. I., Sánchez del Pino, I., Camacho-Pérez, L., Coello-Coello, J., Mijangos-Cortés, J., Debouck, D., Martínez-Castillo, J. (2012). Multiple domestications of the Mesoamerican gene pool of lima bean (*Phaseolus lunatus* L.): evidence from chloroplast DNA sequences. *Genetic Resources and Crop Evolution*. 60(3): 1069–1086.

Andueza-Noh, R., Camacho-Pérez, L., Martínez-Castillo, J., May-Pat, F. (2016). Distribución geográfica de los parientes silvestres del acervo genético mesoamericano del frijol Lima (*Phaseolus lunatus* L.) en México. *Polibotánica*. 41: 101-113.

Arnold, M.L. & Hodges S.A. 1995. Are natural hybrids fit or unfit relative to their parents? *Trends Ecol. Evol.* 10: 67–71.

- Arnold, M.L., Bulger, M.R., Burke, J.M., Hempel, A.L. & Williams J.H. 1999. Natural hybridization: how low can you go and still be important? *Ecology* 80: 371–381.
- Ashley, M. (2010). Plant parentage, pollination, and dispersal: How DNA microsatellites have altered the landscape. *Critical Reviews in Plant Sciences*. 29: 148– 161.
- Ballesteros, G. A. (1999). Contribuciones al conocimiento del frijol lima (*Phaseolus lunatus* L.) en América Tropical. Colegio de Postgraduados. Montecillos.
- Bard, A., Muller, K., Shafer-Pregl, R., El Rabey, H., Effgen, S., Ibrahim, H., Pozzi, C., Rohde, W., Salamini, F. (2000). On the origin and domestication history of Barley (*Hordeum vulgare*). *Molecular Biology and Evolution*. 17:499-510.
- Baudet, J. C. (1977). The taxonomic status of the cultivated types of lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) *Trop. Grain Bull.*
- Baudet, J. C. (1977)a. The taxonomic status of the cultivated types of lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) *Trop. Grain Bull.*
- Baudet, J. C. (1977)b. Origine et classification des espèces cultivées du genre *Phaseolus* Author. *Bull. la Société R. Bot. Belgique*. 110: 65-76.
- Baudoin, J. P (1988). Genetic resources, domestication and evolution of lima bean (*Phaseolus lunatus*). In: *Genetics Resources of Phaseolus Beans*. P. Gepts (ed.). Kluwer Academic, Dordrecht, The Netherlands. pp. 393-408.
- Baute, G.J., Kane, N.C., Grassa, C.J., Lai, Z., Rieseberg, L.H. 2015. Genome scans reveal candidate domestication and improvement genes in cultivated sunflower, as well as post-domestication introgression with wild relatives. *The new phytologist*. 206: 830-838. Doi:10.1111/nph.13255
- Beebe, S., Toro, O., González, A., Chacón-Sánchez, M. & Debouck, D. (1996). Wild-weed-crop complexes of common bean (*Phaseolus vulgaris* L., Fabaceae) in the Andes of Peru and Colombia, and their implications for conservation and breeding. *Genetic Resources and Crop Evolution*. 44: 73-91.



Beerli, P. (2004). Migrate: Documentation and program, part of LAMARC. Versión 2.4.4, disponible en:

[http://www.peterbeerli.com/programs/migrate/distribution\\_4.x/migratedoc4.x.pdf](http://www.peterbeerli.com/programs/migrate/distribution_4.x/migratedoc4.x.pdf)

Bradbury, P. J., Zhang, Z., Kroon, D. E., Casstevens, T. M., Ramdoss, Y., Buckler, E. S. (2007). TASSEL: software for association mapping of complex traits in diverse samples. *Bioinformatics* 23, 2633-2635.

Camacho-Pérez, L., Martínez-Castillo, J., Mijangos-Cortés, J., Ferrer-Ortega, M., Baudoin, J., Andueza-Noh, R. (2017). Genetic structure of Lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) landraces grown in the Mayan área. *Genetic Resources and Crop Evolution*. DOI: 10.1007/s10722-017-0525-1.

Caruso, G. B., Broglia, V. G. & Pocovi, M. I. 2015. Uso de germoplasma silvestre en el programa de mejora de tomate. *Biodiversidad y conservación*. Vol. 4. Num. 1.

Catchen JM, Amores A, Hohenlohe P, Cresko W, Postlethwait JH. (2011). Stacks: building and genotyping loci de novo from short-read sequences. *G3: Genes, Genomes, Genetics*. 1:171–182

Causse, M., Desplat, N., Pascual, L., Le Paslier, M.-C., Sauvage, C., Bauchet, G., Bouchet, J.-P. (2013). Whole genome resequencing in tomato reveals variation associated with introgression and breeding events. *BMC Genomics*. 14(1): 791.

Chacón, M. I., Pickersgill, B., Debouck, D. & Arias, S. (2007). Phylogeographic analysis of the chloroplast DNA variation in wild common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) in the Americas. *Plant Systematics and Evolution*. 266:175-195.

Chacón-Sánchez, M. I., & Martínez-Castillo, J. (2017). Testing Domestication Scenarios of Lima Bean (*Phaseolus lunatus* L.) in Mesoamerica: Insights from Genome-Wide Genetic Markers. *Frontiers in plant science*, 8, 1551. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01551>

Chaparro-Giraldo, Alejandro, Blanco M., Jennifer Teresa, & López-Pazos, Silvio Alejandro. (2015). Evidence of gene flow between transgenic and non-transgenic maize in Colombia. *Agronomía Colombiana*, 33(3), 297-304.

- Cheng, S.-H., Zhuang, J.-Y., Fan, Y.-Y., Du, J.-H., & Cao, L.-Y. (2007). Progress in Research and Development on Hybrid Rice: A Super-domesticated in China. *Annals of Botany*. 100(5): 959–966.
- Colunga-GarcíaMarín, P. & May-Pat, F. (1992). El sistema milpero y sus recursos filogenéticos. La modernización de la milpa en Yucatán: utopía o realidad. 97-134.
- Davey, J. W., Hohenlohe, P. A., Etter, P. D., Boone, J. Q., Catchen, J. M., & Blaxter, M. L. (2011). Genome-wide genetic marker discovery and genotyping using next-generation sequencing. *Nature Reviews Genetics*. 12(7): 499–510.
- Debouck D.G. (1999). Diversity in *Phaseolus* Species in Relation to the Common Bean. In: Singh S.P. (eds) *Common Bean Improvement in the Twenty-First Century*. Developments in Plant Breeding, vol 7. Springer, Dordrecht.
- Debouck, D. G., Linan Jara, J. H., Campana, S. A., de la Cruz, R. J. H. (1987). Observations on the domestication of *Phaseolus lunatus* L. *FAO/IBPGR Plant Genet Res Newsl.* 70:26-32.
- Degreef, J., Rocha, O. J., Vanderborght, T., & Baudoin, J.-P. (2002). Soil seed bank and seed dormancy in wild populations of lima bean (Fabaceae): considerations for *in situ* and *ex situ* conservation. *American Journal of Botany*. 89(10): 1644-1650.
- Delgado, A., Gama-López, S. (2015). Diversidad y distribución de los frijoles silvestres en México. *Revista Digital Universitaria*. 16: 1-11.
- Delgado-Salinas, A., Bibler, R. & Lavin, M. (2006). Phylogeny of the genus *Phaseolus* (Leguminosae): a recent diversification in an ancient landscape. *Systematic Botany*. 31: 779-791.
- Delgado-Salinas, A., Turley, T., Richman, A. & Lavin, M. (1999). Phylogenetic analysis of the cultivated and species of *Phaseolus* (Fabaceae). *Systematic Botany*. 23: 438-460.
- Delplancke, M., Alvarez, N., Espíndola, A., Joly, H., Benoit, L., Brouck, E., & Arrigo, N. (2011). Gene flow among wild and domesticated almond species: insights from chloroplast and nuclear markers. *Evolutionary applications*, 5(4), 317-29.

Dempewolf, H., G. Baute, J. Anderson, B. Kilian, C. Smith, and L. Guarino. 2017. Past and Future Use of Wild Relatives in Crop Breeding. *Crop Sci.* 57:1070-1082. doi:10.2135/cropsci2016.10.0885

Doebley, J. F., Gaut, B. S. & Smith, B.D. (2006). The molecular genetics of crop domestication. *Cell*, 127:1309-1321.

Dong S, Liu Y, Yu C, Zhang Z, Chen M, Wang C (2016) Investigating Pollen and Gene Flow of WYMV-Resistant Transgenic Wheat N12-1 Using a Dwarf Male-Sterile Line as the Pollen Receptor. *PLoS ONE* 11(3): e0151373. doi:10.1371/journal.pone.0151373

Duitama, J., Quintero, J. C., Cruz, D. F., Quintero, C., Hubmann, G., Foulquié-Moreno, M. R., Tohme, J. (2014). An integrated framework for discovery and genotyping of genomic variants from high-throughput sequencing experiments. *Nucleic Acids Research*: 42(6): e44.

Duno-de Stefano, R., Ramírez-Morillo, M., Tapia-Muñoz, J. L., Hernández-Aguilar, S., Can, L., Cetzal-Ix, W., Méndez-Jiménez, N., Zamora-Crescencio, P., Gutiérrez-Báez, C., & Carnevali-Fernández-Concha, G. (2018). Aspectos generales de la flora vascular de la Península de Yucatán, México. *Botanical Sciences*. 96(3): 515-532.

Dzul-Tejero, F. (2011). Introgresión genética silvestre-domesticado del lb (*Phaseolus lunatus* L.) en la agricultura Maya de la Península de Yucatán México. Centro de Investigación Científica de Yucatán. Yucatán, México.

Dzul-Tejero, F., Coello-Coello, J., Martínez-Castillo, J. (2014). Wild to crop introgression and genetic diversity in Lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) in traditional Mayan milpas from Mexico. *Conserv Genet.* 15: 1315-1328.

Ellstrand, N. C. (2003). Current knowledge of gene flow in plants: implications for transgene flow. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*. 358(1434); 1163–1170.

Ellstrand, N. C., Heredia, S. M., Leak-Garcia, J. A., Heraty, J. M., Burger, J. C., Yao, L., Nohzadeh-Malakshah, S., Ridley, C. E. (2010). Crops gone wild: evolution of weeds and invasives from domesticated ancestors. *Evolutionary Applications*. 3(5-6): 494–504.

- Ellstrand, N. C., Heredia, S. M., Leak-Garcia, J. A., Heraty, J. M., Burger, J. C., Yao, L., Nohzadeh-Malakshah, S., Ridley, C. E. (2010). Crops gone wild: evolution of weeds and invasives from domesticated ancestors. *Evolutionary Applications*. 3(5-6): 494–504.
- Ellstrand, N. C., Meirmans, P., Rong, J., Bartsch, D., Ghosh, A., de Jong, T. J., Hooftman, D. (2013). Introgression of Crop Alleles into Wild or Weedy Populations. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*. 44(1): 325–345.
- Ellstrand, N., Prentice, H. & Hancock, J. (1999). Gene flow and introgression from domesticated plants into their wild relatives. *Annu. Rev. Ecol.Syst.* 30:539-563.
- Elshire, R. J., Glaubitz, J. C., Sun, Q., Poland, J. A., Kawamoto, K., Buckler, E. S. & Mitchell, S. E. (2011). A robust, simple genotyping-by-sequencing (GBS) approach for high diversity species. *PLoS One*. 6:1-10.
- Epps, C., Palsboll, P. J., Wehausen, J. D., Roderick, G. K., Ramey II, R. R., McCullough, D. (2005). Highways block gene flow and cause a rapid decline in genetic diversity of desert bighorn sheep. *Ecology Letters*. 8:1029-1038.
- Espinoza, D., Ocegueda, S., Aguilar, C., Flores, O. & Llorente-Bousquets, J. (2008). El conocimiento biogeográfico de las especies y su regionalización natural. Sarukhán, J., *et al.* (Ed.), *Capital Natural de México, Vol, 1: Conocimiento de La Biodiversidad Actual*. CONABIO, México, pp. 33-65.
- Esquivel, M., Castiñeiras, L., Hammer, K. (1990). Origin, classification, variation and distribution of lima vean (*Phaseolus lunatus*) in the light of cuban material. *Euphytica*. 49:89-97.
- Excoffier, L., & Lischer, H. E. L. (2010). Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources*, 10(3): 564–567.
- Feng, F., Li, Y., Qin, X., Liao, Y., & Siddique, K. H. M. (2017). Changes in Rice Grain Quality of Indica and Japonica Type Varieties Released in China from 2000 to 2014. *Frontiers in Plant Science*, 8.
- Fenzi, M., Jarvis, D. I., Arias Reyes, L. M., Latournerie Moreno, L., & Tuxill, J. (2015). Longitudinal analysis of maize diversity in Yucatan, Mexico: influence of agro-ecological

factors on landraces conservation and modern variety introduction. *Plant Genetic Resources*, 15(01), 51–63.

Fischer, M.C., Rellstab, C., Leuzinger, M., Roumet, M., Gugerli, F., Shimizu, K., Holderegger, R., Widmer, A. (2017). Estimating genomic diversity and population differentiation – an empirical comparison of microsatellite and SNP variation in *Arabidopsis halleri*. *BMC Genomics* 18: 69.

Fisher, R. (1930). *The Genetical Theory of Natural Selection*. Clarendon M. Ridley. Oxford University Press, London.

Fofana, B., Baudoin, J. P., Vekemans, X., Debouck, D. G., du Jardin, P. (1999). Molecular evidence for an Andean origin and a secondary gene pool for the Lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) using chloroplast DNA. *Theor Appl Genet.* 98:202-212.

Folk, R. A., Soltis, P., Soltis, D. and Guralnick, R. (2018). New prospects in the detection and comparative analysis of hybridization in the tree of life. *Am. J. Bot.* 05:364–375.

Freytag, G. & Debouck, D. (2002). Review of taxonomy, distribution and ecology of the genus *Phaseolus* (Leguminosae-Papilionoideae) in North America, Mexico, and Central America. *SIDA, Botanical Misceliany.* 23: 1-300.

Fritz, R.S., Hochwender, C.G., Brunfeld, S.J., and Roche, B.M. (2003). Genetic architecture of susceptibility to herbivores in hybrid willows. *J. Evol. Biol.* 16, 1115–1126.

Gärke C, Ytournel F, Bed'hom B, Gut I, Lathrop M, Weigend S, Simianer H. (2012). Comparison of SNPs and microsatellites for assessing the genetic structure of chicken populations. *Anim Genet.* 43:419–428.

Glover K, Hansen M, Lien S, Als T, Hoyheim B, Skaala O. (2010). A comparison of SNP and STR loci for delineating population structure and performing individual genetic assignment. *BMC Genet.* 11:2.

Goulet, B. E., Roda, F., & Hopkins, R. (2016). Hybridization in Plants: Old Ideas, New Techniques. *Plant Physiology.* 173(1): 65–78.

Granados, D., López, G., Trujillo, E. (1999). La milpa en la zona maya de Quintana Roo. *Revista de Geografía Agrícola.* 28: 57-72.

- Green, E. D. (2001). Strategies for the systematic sequencing of complex genomes. *Nature Reviews Genetics*. 2(8): 573–583.
- Gutiérrez Salgado, A., Gepts, P., & Debouck, D. G. (1995). Evidence for two gene pools of the Lima bean, *Phaseolus lunatus* L., in the Americas. *Genetic Resources and Crop Evolution*. 42(1): 15–28.
- Gutiérrez-Rodríguez, C., Ornelas, J. F., Rodríguez-Gómez, F., (2011). Chloroplast DNA phylogeography of a distylous shrub (*Palicourea padifolia*, *Rubiaceae*) reveals past fragmentation and demographic expansion in Mexican cloud forest. *Mol. Phylogenet. Evol.* 61, 603-615.
- Hadfield, J. D., Richardson, D. S., & Burke, T. (2006). Towards unbiased parentage assignment: combining genetic, behavioural and spatial data in a Bayesian framework. *Molecular Ecology*. 15(12): 3715–3730.
- Hails, R. S. (2000). Genetically modified plants – the debate continues. *Trends Ecol Evol*. 15:14-18.
- Hajjar, R. y Hodgkin, T. (2007). The use of wild relatives in crop improvement: a survey of developments over the last 20 years. *Euphytica*. 156:1–13.
- Haldane, J. (1926). A mathematical theory of natural and artificial selection. Part III. *Mathematical Proceedings of the Cambridge Philosophical Society*. 23: 363-372.
- Harlan, J. R., de Wet, J. M. (1971). Towards a rational classification of cultivated plants. *Taxon*. 70:509-517.
- Henriques, D., Parejo, M., Vignal, A., Wragg, D., Wallberg, A., Webster, M. T., & Pinto, M. A. (2018). Developing reduced SNP assays from whole-genome sequence data to estimate introgression in an organism with complex genetic patterns, the Iberian honeybee (*Apis mellifera iberiensis* ). *Evolutionary Applications*. 11(8): 1270–1282.
- Hernández-Delgado, S., Muruaga-Martínez, J., Vargas-Vázquez, M., Martínez-Mondragón, J., Chávez-Servia, J., Gill-Langarica, H., Mayek-Pérez, N. (2015). Advances in genetic diversity of *Phaseolus* in Mexico. *Molecular Approaches to Genetic Diversity*. 47-73. Doi:10.5772/60029.

- Huanuqueño, E., Casas, A. & Jiménez, J. Heterosis útil y caracteres asociados al rendimiento en híbridos de maíz amarillo duro bajo condiciones de secano en Tarapoto. *Anales científicos*. 80 (1): 259-268.
- Hufford, M. B., Lubinsky, P., Pyhäjärvi, T., Devengenzo, M. T., Ellstrand, N. C., & Ross-Ibarra, J. (2013). The Genomic Signature of Crop-Wild Introgression in Maize. *PLoS Genetics*. 9(5): e1003477.
- Huq, A., Akter, S., Nou, S., Hoy-Taek, K., Jin-Jung, Y. & Kyoo-Kang, K. (2016). Identification of functional SNPs in genes and their effects on plant phenotypes. *J Plant Biotechnol*. 43:1-11.
- Instituto Nacional para el Federalismo y el Desarrollo Municipal, s.f. Enciclopedia de los Municipios y Delegaciones de México [Online]. Disponible en: <http://www.inafed.gob.mx/work/enciclopedia/EMM04campeche/gobierno.html> [Acceso 27 mayo 2020].
- Janzen, T., Nolte, A. W., & Traulsen, A. (2018). The breakdown of genomic ancestry blocks in hybrid lineages given a finite number of recombination sites. *Evolution; international journal of organic evolution*. 72(4): 735–750.
- Jarvis, D. I. & Hodgkin, T. (1999). Wild relatives and crop cultivars: detecting natural introgression and farmer selection of new genetic combinations in agroecosystems. *Molecular Ecology*. 8:S159-S173.
- Jenczewski, E., Ronfort, J. & Chevre, A. (2003). Crop-to-wild gene flow, introgression and possible fitness effects of transgenes. *Environmental Biosafety Research*. 1:9-24.
- Jones, N., Ougham, H. & Howard, T. (1997). Markers and mapping: we are all geneticists now. *New Phytol*. 137:165-177.
- Karimizadeh, R., Sharifi, P. & Mohammadi, M. (2020). Genetic analysis of morphological traits in wheat hybrids based on the additive-dominance model. *Russian Agricultural Sciences*. 46: 113-120.
- Kimura, M. (1969). The number of heterozygous nucleotide sites maintained in a finite population due to steady flux of mutation. *Genetics*. 61: 893-903.

- Kordrostami, M. & Rahimi, M. (2015). Molecular markers in plants: Concepts and applications. ResearchGate. 4024-4031.
- Kumar, A., Chhaya, R., Pratap-Singh, V. & Singh, L. (2020). Exploitation of heterosis for grain yield and quality traits in wheat. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 9 (2): 1465-1468.
- Kumar, S., Banks, T. W., & Cloutier, S. (2012). SNP Discovery through Next-Generation Sequencing and Its Applications. *International Journal of Plant Genomics*. 2012: 1–15.
- Ku-Pech, E. M. (2019). La diversidad de maíz, frijol y calabaza en la milpa maya de Xoy, Peto, Yucatán. Centro de Investigación Científica de Yucatán. Yucatán, México.
- Lamaze, F. C., Sauvage, C., Marie, A., Garant, D., & Bernatchez, L. (2012). Dynamics of introgressive hybridization assessed by SNP population genomics of coding genes in stocked brook charr (*Salvelinus fontinalis*). *Molecular Ecology*. 21(12): 2877–2895.
- Langmead, B., & Salzberg, S. L. (2012). Fast gapped-read alignment with Bowtie 2. *Nature Methods*. 9(4): 357-359.
- Lara, E., Caso, E., Aliphath, M. (2012). El sistema milpa roza, tumba y quema de los mayas Itzá de San Andrés y San José, Petén Guatemala. *Ra Ximhai*. 8 (2): 71-92.
- Levin, D. & Kerster, H. (1974). Gene flow in seed plants. *Evolutionary Biology*. 7: 139–220.
- López-Alcocer, J., Lépiz-Ildelfonso, R., González-Eguiarte, D., Rodríguez-Macías, R., López-Alcocer, E. (2016). Variabilidad morfológica de *Phaseolus lunatus* L. silvestre de la región occidente de México. *Rev. Fitotec. Mex.* 39: 49-58.
- López-Forment, I.S. (1998). Changes in Diversity in the Process of Milpa Intensification in the Henequen Zone in Yucatan, Mexico.
- Lugo-Hubp, J., Aceves-Quesada, J. A. & Espinasa-Pereña, R. (1992). Rasgos geomorfológicos mayores de la península de Yucatán. *Revista del Instituto de Geología*. 10: 143-150.
- Lynch. (2010). Scaling expectations for the time to establishment of complex adaptations. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107(38), 16577-82.



Mallet, J. (2005). Hybridization as an invasion of the genome. *Trends in Ecology & Evolution*. 20(5): 229–237.

Mariaca, R. (2015). La milpa maya yucateca en el siglo xvi: evidencias etnohistóricas y conjeturas. *Etnobiología*. 13(1): 1-38.

Martin, S. H., & Jiggins, C. D. (2017). Interpreting the genomic landscape of introgression. *Current Opinion in Genetics & Development*, 47, 69–74.

Martínez, J. (2005). Diversidad intraespecífica de *Phaseolus lunatus* L. e intensificación de la agricultura tradicional en la Península de Yucatán, México. Tesis de Doctorado. Centro de Investigación Científica de Yucatán. México. pp. 70.

Martínez-Castillo, J., Camacho-Pérez, L., Coello-Coello, J., & Andueza-Noh, R. (2011). Wholesale replacement of lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) landraces over the last 30 years in northeastern Campeche, Mexico. *Genetic Resources and Crop Evolution*. 59(2): 191–204.

Martínez-Castillo, J., Camacho-Pérez, L., Villanueva-Viramontes, S., Andueza-Noh, R. H., & Chacón-Sánchez, M. I. (2014). Genetic structure within the Mesoamerican gene pool of wild *Phaseolus lunatus* (Fabaceae) from Mexico as revealed by microsatellite markers: Implications for conservation and the domestication of the species. *American Journal of Botany*. 101(5): 851–864.

Martínez-Castillo, J., Camacho-Pérez, L., Villanueva-Viramontes, S., Andueza-Noh, R. H., & Chacón-Sánchez, M. I. (2014). Genetic structure within the Mesoamerican gene pool of wild *Phaseolus lunatus* (Fabaceae) from Mexico as revealed by microsatellite markers: Implications for conservation and the domestication of the species. *American Journal of Botany*. 101(5): 851–864.

Martínez-Castillo, J., Colunga-GarcíaMarín, P., & Zizumbo-Villarreal, D. (2008). Genetic erosion and in situ conservation of Lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) landraces in its Mesoamerican diversity center. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 55(7), 1065–1077

Martínez-Castillo, J., Zizumbo-Villareal, D., Gepts, P., Colunga-GarcíaMarín, P. (2007). Gene flow and genetic structure in the wild-weedy-domesticated complex of Lima Bean

(*Phaseolus lunatus*) in its Mesoamerican center of domestication and diversity. *Crop Sci* 47:58-66.

Martínez-Castillo, J., Zizumbo-Villarreal, D., Gepts, P., Delgado-Valerio, P., & Colunga-GarcíaMarín, P. (2006). Structure and Genetic Diversity of Wild Populations of Lima Bean from the Yucatan Peninsula, Mexico. *Crop Science*. 46(3): 1071.

Martínez-Castillo, J., Zizumbo-Villarreal, D., Perales-Rivera, H., Colunga-GarcíaMarín, C. (2004). Intraspecific diversity and morpho-phenological variation in *Phaseolus lunatus* L. from Yucatan Peninsula, Mexico. *Economic Botany*. 58(3):354-380.

Mayr, E. (1942) *Systematics and the Origin of Species*. Columbia University Press.

Mayr, E. (1963) *Animal Species and Ecology*. Harvard University Press.

McCoy, R., Garud, N., Kelley, J., Boggs, C., Petrov, D. (2013). Genomic inference accurately predicts the timing and severity of a recent bottleneck in non-model insect population. *Mol Ecol*. 23: 136-150.

Mercado-Ruaro, P., Delgado-Salinas, A. (1998). Karyotypic studies on species of *Phaseolus* (Fabaceae: Phaseolinae). *American Journal of Botany*. 85:1-9.

Mérola, R., Díaz, S. (2012). *Métodos, técnicas y tratamientos para inhibir dormancia en semillas de plantas forrajeras*. Universidad de la empresa, Facultad de Ciencias Agrarias. Montevideo, Uruguay.

Metzker, M. L. (2009). Sequencing technologies – next generation. *Nature Reviews Genetics*. 11:31-46.

Millstein RL, Skipper RA (2007) *Population genetics. The Cambridge companion to the philosophy of biology*. Cambridge University Press. 1: 22–43.

Miyaji, N., & Fujimoto, R. (2018). Hybrid Vigor. *Plant Epigenetics Coming of Age for Breeding Applications*. 247–275.

Morin, P. A., Luikart, G., Wayne, R. K. & the SNP workshop group. (2004). SNPs in ecology, evolution and conservation. *TRENDS in Ecology and Evolution*. 19:208-216.

- Munnier-González, N. (2015). Identificación y validación de Single Nucleotide Polymorphism (SNPs) distribuidos en el genoma de *Eucalyptus globulus*. Universidad de Concepción. Concepción, Chile.
- Mussmann, S. M., Douglas, M. R., Chafin, T.K. and Douglas, M. E. (2019). BA3-SNPs: Contemporary migration reconfigured in BayesAss for next-generation sequence data. *Methods in Ecology and Evolution*. 10(10): 1808-1813.
- Myles, S., Boyko, A. R., Owens, C. L., Brown, P. J., Grassi, F., Aradhya, M. K., Buckler, E. S. (2011). Genetic structure and domestication history of the grape. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 108(9): 3530–3535.
- Nebiolo CM, Kaczamarczyk WJ, Ulrich V (1983) Manifestation of hybrid vigor in RNA synthesis parameters by corn seedling protoplasts in the presence and absence of gibberellic acid. *Plant Sci Lett*. 28:195-206.
- Neigel, J. (1997). A comparison of alternative strategies for measuring gene flow from genetic markers. *Annual Review of Ecology and Systematics* 28: 105–128.
- Nemeth, C., Yang, C., Kasprzak, P., Hubbart-Edwards, S., Scholefield, D., Surbhi, M., Skipper, E., King, I. & King, J. (2015). Generation of amphidiploids from hybrids of wheat and related species from the genera *Aegilops*, *Secale*, *Thinopyrum* and *Triticum* as a source of genetic variation for wheat improvement. *Genome*. 58: 1-9. 10.1139/gen-2015-0002.
- Oliveira, R., Randi, E., Mattucci, F., Kurushima, J. D., Lyons, L. A., & Alves, P. C. (2015). Toward a genome-wide approach for detecting hybrids: informative SNPs to detect introgression between domestic cats and European wildcats (*Felis silvestris*). *Heredity*. 115(3): 195-205.
- Oliveira-Silva, R., Lobo-Burle, M., Gomes-Pádua, J., Almeida-Lopes, A., Ferreira-Gomes, R., Martinez-Castillo, J. (2017). Phenotypic diversity in lima bean landraces cultivated in Brazil, using the Ward-MLM strategy. *Chilean Journal Of Agricultural Research*. 77(1): 35-40.
- Papa, R. & Gepts, P. (2003). Asymmetry of gene flow and differential geographical structure of molecular diversity in wild and domesticated common bean (*Phaseolus vulgaris L.*) from Mesoamerica. *Theoretical and Applied Genetics*. 106:239-250.

Papa, R. & Gepts, P. (2004). Asymmetric gene flow and introgression between domesticated and wild populations.

Papa, R. (2005). Gene flow and introgression between domesticated crops and their wild relatives. Research Gate. The role of biotechnology. 71-76.

Papa, R., & Gepts, P. (2003). Asymmetry of gene flow and differential geographical structure of molecular diversity in wild and domesticated common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) from Mesoamerica. *Theoretical and Applied Genetics*, 106(2), 239–250.

Papa, R., Acosta, J., Delgado-Salinas, A. & Gepts, P. (2005). A genome-wide análisis of differentiation between wild and domesticated *Phaseolus vulgaris* from Mesoamerica. *Theor. Appl. Genet.* 111: 1147-1158

Peakall, R., Smouse, P. E. (2012). GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research—an update. *Bioinformatics*. 28: 2537-2539.

Perea, C., De La Hoz, J. F., Cruz, D. F., Lobaton, J. D., Izquierdo, P., Quintero, J. C., Duitama, J. (2016). Bioinformatic analysis of genotype by sequencing (GBS) data with NGSEP. *BMC Genomics*. 17:(S5): 498.

Pérez-Sarabia, J. E., Duno-de Stefano, R., Fernández-Concha, G. C., Ramírez-Morillo, I., Méndez-Jiménez, N., Zamora-Crescencio, P., Gutiérrez-Báez, C & Cetzal, W. El conocimiento florístico de la Península de Yucatán, México. *Polibotánica*. 44: 39-49.

Perrier, X. & Jacquemound, J. (2006). DARwin [WWW Document]. URL <http://darwin.cirad.fr/feedback.php>.

Petit, R. & Excoffier, L. (2009). Gene flow and species delimitation. *Trends in Ecology and Evolution*, Vol. 24 No. 7, 286-393.

Philipp, M., Madsen, H. E. S., & Siegismund, H. R. (1992). Gene flow and population structure in *Armeria maritima*. *Heredity*. 69(1): 32–42.

Price, A. L., Tandon, A., Patterson, N., Barnes, K. C., Rafaels, N., Ruczinski, I., Myers, S. (2009). Sensitive Detection of Chromosomal Segments of Distinct Ancestry in Admixed Populations. *PLoS Genetics*. 5(6): e1000519.

- Pritchard, J. K., Stephens, M., & Donnelly, P. (2000). Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 155(2): 945–959.
- Reagon, M. & Snow, A. (2006). Cultivated *Helianthus annuus* (Asteraceae) volunteers as a genetic “bridge” to weedy sunflowers population in north America. *American Journal of Botany*. 93(1): 127-133.
- Remmers, G.G.A., and E. Ucan. 1996. La roza-tumba-quema maya: Un sistema agroecológico tradicional frente al cambio tecnológico. *Etnoecología* 3:97–109.
- Rendón-Anaya, M., Montero-Vargas, J. M., Saburido-Álvarez, S., Vlasova, A., Capella-Gutierrez, S., Ordaz-Ortiz, J. J., Aguilar, O. M., Vianello-Brondani, R. P., Santalla, M., Delaye, L., Gabaldón, T., Gepts, P., Winkler, R., Guigó, R., Delgado-Salinas, A., & Herrera-Estrella, A. (2017). Genomic history of the origin and domestication of common bean unveils its closest sister species. *Genome biology*. 18(1): 60.
- Rhymer, J. M., & Simberloff, D. (1996). EXTINCTION BY HYBRIDIZATION AND INTROGRESSION. *Annual Review of Ecology and Systematics*. 27(1): 83–109.
- Rodríguez, A. & Arias, L. (2014). La milpa y el maizal: retos al desarrollo rural en México y Perú. *Etnobiología*. 12(3): 76-89.
- Rodríguez, M., Rau, D., Bitocchi, E., Bellucci, E., Biagetti, E., Carboni, A., ... Attene, G. (2015). Landscape genetics, adaptive diversity and population structure in *Phaseolus vulgaris*. *New Phytologist*. 209(4): 1781–1794.
- Rosyara, U., Kishii, M., Payne, T., Sansaloni, C. P., Singh, R. P., Braun, H. J. & Dreisigacker, S. 2019. Genetic Contribution of Synthetic Hexaploid Wheat to CIMMYT's Spring Bread Wheat Breeding Germplasm. *Sci Rep* 9, 12355 doi:10.1038/s41598-019-47936-5
- Ruiz-Gil, P. (2018). Estructura genética en el acervo genético mesoamericano del frijol lima silvestre (*Phaseolus lunatus* Var. *Silvester Baudet.*) de México. Centro de Investigación Científica de Yucatán. Yucatán, México.
- Ruiz-Gil, P. J., Chepe-Cruz, G., Andueza-Noh, R. H., Ortiz-García, M. M. & Martínez-Castillo, J. (2016). Differentiation and genetic diversity of *Phaseolus lunatus* wild populations from Chiapas, México, and their genetic relationships with MI and MII groups. *Bot. Sci.* 94:701-712.

Scheet, P. & Stephens, M. (2006). A fast and flexible statistical model for large-scale population genotype data: Applications to inferring missing and haplotypic phase. *Am J Hum Genet.* 78: 629-644.

Seeb, J.E., Carvalho, G., Hauser, L., Naish, K., Roberts, S. & Seeb, L. W. (2011). Single-nucleotide polymorphism (SNP) discovery and applications of SNP genotyping in nonmodel organism. *Mol. Ecol. Resour.* 11:1-8.

Senn, H. V., & Pemberton, J. M. (2009). Variable extent of hybridization between invasive sika (*Cervus nippon*) and native red deer (*C. elaphus*) in a small geographical area. *Molecular ecology.* 18(5): 862–876.

Senn, H. V., Barton, N. H., Goodman, S. J., Swanson, G. M., Abernethy, K. A., & Pemberton, J. M. (2010). Investigating temporal changes in hybridization and introgression in a predominantly bimodal hybridizing population of invasive sika (*Cervus nippon*) and native red deer (*C. elaphus*) on the Kintyre Peninsula, Scotland. *Molecular ecology.* 19(5): 910–924.

Serrano, M. (2011). Origen y diversidad genética de las variedades cultivadas de frijol lima en Mesoamérica. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá, Colombia.

Serrano-Serrano, M. L., Andueza-Noh, R. H., Martínez-Castillo, J., Debouck, D. G., & Chacón S, M. I. (2012). Evolution and Domestication of Lima Bean in Mexico: Evidence from Ribosomal DNA. *Crop Science.* 52(4): 1698.

Serrano-Serrano, M. L., Hernández-Torres, J., Castillo-Villamizar, G., Debouck, D. G., & Chacón Sánchez, M. I. (2010). Gene pools in wild Lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) from the Americas: Evidences for an Andean origin and past migrations. *Molecular Phylogenetics and Evolution,* 54(1), 76–87.

Serrat, X., Esteban, R., Peñas, G., Català, M. M., Melé, E., & Messeguer, J. (2013). Direct and reverse pollen-mediated gene flow between GM rice and red rice weed. *AoB Plants,* 5, plt050. doi:10.1093/aobpla/plt050

Singh, N., Choudhury, D., Singh, A., Kumar, S., Srinivasan, K., Tyagi, R., Singh, N. K., Singh, R. (2013). Comparison of SSR and SNP markers in estimation of genetic diversity and population structure of Indian rice varieties. *PLoS One.* 8(12): e84136.

- Slatkin, M. (1985). Gene flow in natural populations. *Annual Review of Ecology and Systematics* 16: 393–420.
- Slatkin, M. (1987). Gene flow and the geographic structure of populations. *Science* 236: 787–792.
- Soltis, P. S., & Soltis, D. E. (1987). POPULATION STRUCTURE AND ESTIMATES OF GENE FLOW IN THE HOMOSPOROUS FERN *POLYSTICHUM MUNITUM*. *Evolution*. 41(3): 620–629.
- Stebbins, G. (1950). *Variation and Evolution in Plants*. New York, Columbia University Press. 643 pp.
- Stebbins, G. (1959). The Role of Hybridization in Evolution. *Proceedings of the American Philosophical Society*. 103(2): 231-251.
- Stemers, F. J. & Gunderson, K. L. (2007). Whole genome genotyping technologies on the BeadArray platform. *Biotechnol.* 2:41-49.
- Tung, J., Charpentier, M. J., Garfield, D. A., Altmann, J., & Alberts, S. C. (2008). Genetic evidence reveals temporal change in hybridization patterns in a wild baboon population. *Molecular ecology*. 17(8): 1998–2011.
- Twyford, A. D., & Ennos, R. A. (2012). Next-generation hybridization and introgression. *Heredity*. 108(3): 179–189.
- Vignal, A., Milan, D., SanCristobal, M. & Eggen, A. (2002). A review on SNP and other types of molecular markers and their use in animal genetics. *Genet. Sel. Evol.* 34:275-305.
- Walsh, J., Shriver, W. G., Correll, M. D., Olsen, B. J., Elphick, C. S., Hodgman, T. P., Rowe, K. M., Kovach, A. I. (2017). Temporal shifts in the saltmarsh–Nelson’s sparrow hybrid zone revealed by replicated demographic and genetic surveys. *Conservation Genetics*: 18(2). 453–466.
- Waterston, R. H., Lander, E. S., & Sulston, J. E. (2002). On the sequencing of the human genome. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 99(6): 3712–3716.
- Wegier, A., Piñeyro-Nelson, A., Alarcón, J., Gálvez-Mariscal, A., Álvarez-Buylla, E., Piñero, D. (2011). Recent long-distance transgene flow into wild populations conforms to historical

patterns of gene flow in cotton (*Gossypium hirsutum*) at its centre of origin. *Molecular Ecology*. 20: 4182-4194.

Wilson GA Rannala B. (2003). Bayesian inference of recent migration rates using multilocus genotypes. *Genetics*. 163: 1177–1191.

Wilson, E., & Bossert, W. (1971). *A primer of population biology*. Sinauer, Stamford, Connecticut, USA.

Wright, S. (1932). The roles of mutation, inbreeding, crossbreeding and selection in evolution. *Proceedings of the VI International Congress of Genetics*. 1: 356-366.

Wu, X., & Hurst, L. D. (2015). Why Selection Might Be Stronger When Populations Are Small: Intron Size and Density Predict within and between-Species Usage of Exonic Splice Associated cis-Motifs. *Molecular Biology and Evolution*. 32(7): 1847–1861.

Yan, X.-B., Guo, Y.-X., Liu, F.-Y., Zhao, C., Liu, Q.-L., & Lu, B.-R. (2009). Population structure affected by excess gene flow in self-pollinating *Elymus nutans* and *E. burchanbuddae* (Triticeae: Poaceae). *Population Ecology*. 52(1): 233–241.

Zhao K, Wright M, Kimball J, Eizenga G, McClung A. (2010) Genomic Diversity and Introgression in *O. sativa* Reveal the Impact of Domestication and Breeding on the Rice Genome. *PLoS ONE*. 5(5): e10780.

Zoro Bi, I., Maquet, A. & Baudoin, J. P. (2003). Population genetic structure of wild *Phaseolus lunatus* (Fabaceae), with special reference to population sizes. *American Journal of Botany*. 90:897-904.

Zoro Bi, I., Maquet, A. & Baudoin, J. P. (2005). Mating system of wild *Phaseolus lunatus* L. and its relationship to population size. *Heredity*. 94:153-158



## Anexos

**Anexo 1.** Accesiones proporcionadas por Chacón-Sánchez & Martínez-Castillo (2017), 25 accesiones en total conformadas por: 16 individuos domesticados, 8 silvestres y 1 individuo silvestre con mezcla genética (admixed).

ID	Gene pool	Institución	Estado biológico	País	Estado	Localidad	Latitud	Longitud
G25234-COR	Wild_MII	CIAT	Silvestre	Mexico	Yucatan	Oxkutzcab	20.32	-89.42
G25705-COR	Dom_MI	CIAT	Domesticada	Mexico	Campeche	Hopelchen	19.42	-89.7
G25735-ELS	Dom_MI	CIAT	Domesticada	Mexico	Campeche	Hecelchakan	20.24	-89.94
G25737-COR	Wild_MII	CIAT	Silvestre	Mexico	Campeche	Hecelchakan	20.22	-89.99
G25750-COR	Dom_MII	CIAT	Domesticada	Mexico	Campeche	Calkini	20.41	-90.24
G25762-COR	Wild_MII	CIAT	Silvestre	Mexico	Campeche	Hopelchen	19.77	-89.87
G25766-ELS	Dom_MI	CIAT	Domesticada	Mexico	Campeche	Hecelchakan	20.14	-90.22
G25770-COR	Dom_MI	CIAT	Domesticada	Mexico	Campeche	Hecelchakan	20.2	-89.91
G25771-ELS	Dom_MI	CIAT	Domesticada	Mexico	Campeche	Hecelchakan	20.2	-89.91
G25785-COR	Wild_MII	CIAT	Silvestre	Mexico	Campeche	Hopelchen	20.05	-89.74
G25787-ELS	Dom_MI	CIAT	Domesticada	Mexico	Campeche	Hopelchen	19.59	-89.61
G25816-ELS	Wild_MII	CIAT	Silvestre	Mexico	Yucatan	Izamal	20.95	-89.03
JMC_1024	Dom_MI	CICY	Domesticada	Mexico	Campeche	Bolonchen	20.0036	-89.7478
JMC_1035	Dom_MI	CICY	Domesticada	Mexico	Campeche	Chunyaxnic	20.0833	-89.8167
JMC_1048-COR	Dom_MI	CICY	Domesticada	Mexico	Campeche		19.8	-89.3292
JMC_1265	Dom_MI	CICY	Domesticada	Mexico	Quintana Roo		19.8431	-88.1344
JMC_1277-COR	Dom_MI	CICY	Domesticada	Mexico	Yucatán			
JMC_1335-COR	Dom_MI	CICY	Domesticada	Mexico	Quintana Roo		19.0424	-88.4193
JMC_13-COR	Dom_MI	CICY	Domesticada	Mexico	Quintana Roo		19.4944	-87.9944
JMC_580-COR	Wild_MII	CICY	Silvestre	Mexico	Yucatán		20.0623	-89.4159
JMC_609	Wild_MII	CICY	Silvestre	Mexico	Yucatán		20.209	-89.369
JMC_715	Wild_admixed	CICY	Silvestre	Mexico	Campeche		20.0217	-89.7278
JMC_9	Dom_MI	CICY	Domesticada	Mexico	Quintana Roo			
JMC_922-COR	Wild_MII	CICY	Silvestre	Mexico	Campeche		19.9476	-89.7342
JMC_995	Dom_MI	CICY	Domesticada	Mexico	Yucatán		20.8911	-88.1364

**Anexo 2.** Adiciones proporcionadas por Martínez-Castillo (2018), 54 en total (compuestas por “pools” genéticos de poblaciones de frijol Lima conformados por 10 individuos cada uno), conformadas por: 43 domesticados, 10 silvestres y 1 individuo silvestre con mezcla genética (admixed).

ID	Gene pool	Institución	Estado biológico	País	Estado	Localidad	Latitud	Longitud
BGB-I	Dom_MI	CICY	Domesticado	Mexico	Yucatán	Tixcacal	20.943	-89.7133
BGB-IV	Dom_MI	CICY	Domesticado	Mexico	Quintana Roo	Tuzik. FCP	19.9153	-89.1597
BGB-IX	Dom_MI	CICY	Domesticado	Mexico	Quintana Roo	Naranjal	20.8044	-87.4761
BGB-V	Dom_MI	CICY	Domesticado	Mexico	Quintana Roo	Xyatil	19.6625	-88.4444
BGB-VI	Dom_MI	CICY	Domesticado	Mexico	Quintana Roo	X-itazil	19.3917	-88.0742
BGB-VII	Dom_MI	CICY	Domesticado	Mexico	Quintana Roo	Kampocolche	19.8792	-88.3167
BGP-4	Dom_MI	CICY	Domesticado	Mexico	Yucatán	Kinil	20.3244	-89.1338
BGP-5	Dom_MI	CICY	Domesticado	Mexico	Quintana Roo	Yaxley	19.7687	-88.2
BGP-6	Dom_MI	CICY	Domesticado	Mexico	Yucatán	Tzumuc	20.5911	-88.4562
BGP-7	Dom_MI	CICY	Domesticado	Mexico	Yucatán	Timul	21.1928	-89.3894
BGP-8	Dom_MI	CICY	Domesticado	Mexico	Yucatán	Sisbic	20.3344	-88.0881
BGP-9	Dom_MI	CICY	Domesticado	Mexico	Yucatán	Espita	21.0106	-88.3055
BGS-1	Dom_MI	CICY	Domesticado	Mexico	Yucatán	Becanchén	19.8742	-89.2169
BGS-2	Dom_MI	CICY	Domesticado	Mexico	Yucatán	Escondido	19.7781	-89.0389
BGS-3	Dom_MI	CICY	Domesticado	Mexico	Yucatán	Xcumpich	21.0352	-89.6358
BGS-4	Dom_MI	CICY	Domesticado	Mexico	Campeche	Bolonchen	20.0061	-89.7497
BGS-5	Dom_MI	CICY	Domesticado	Mexico	Quintana Roo	Tuzik	19.9153	-89.1597
BGS-6	Dom_MI	CICY	Domesticado	Mexico	Yucatán	Xul	20.0982	-89.4629
BGS-7	Dom_MI	CICY	Domesticado	Mexico	Yucatán	Santa Clara	21.3733	-89.0151
BGS-8	Dom_MI	CICY	Domesticado	Mexico	Yucatán	Sabakché	20.3153	-89.0275
BGS-9	Dom_MI	CICY	Domesticado	Mexico	Quintana Roo	Divorciados	19.0764	-88.4564
G26173-ELS	Dom_MI	CIAT	Domesticado	Mexico	Yucatan			
JMC_1003	Dom_MI	CICY	Domesticado	Mexico	Yucatán	Sierra de Ticul	20.3953	-89.5339
JMC_1005	Dom_MI	CICY	Domesticado	Mexico	Yucatán	Benito Juárez	20.2031	-89.2878
JMC_1007	Dom_MI	CICY	Domesticado	Mexico	Yucatán	Benito Juárez	20.2031	-89.2878
JMC_1010	Wild_MII	CICY	Wild	Mexico	Yucatán		20.2031	-89.2878
JMC_1012-COR	Wild_MII	CICY	Wild	Mexico	Yucatán		20.2031	-89.2878
JMC_1015	Wild_MII	CICY	Wild	Mexico	Yucatán		20.3953	-89.5339
JMC_1021-COR	Wild_MII	CICY	Wild	Mexico	Quintana Roo		21.1028	-87.3378
JMC_1059	Dom_MI	CICY	Domesticado	Mexico	Quintana Roo	Tixcacal. guardia	19.8586	-88.175
JMC_1061-COR	Dom_MI	CICY	Domesticado	Mexico	Quintana Roo		19.8586	-88.175
JMC_111	Dom_MI	CICY	Domesticado	Mexico	Quintana Roo		20.3589	-88.0364
JMC_112	Dom_MI	CICY	Domesticado	Mexico	Yucatán		20.599	-88.1634
JMC_1179	Dom_MI	CICY	Domesticado	Mexico	Quintana Roo			
JMC_1186	Dom_MI	CICY	Domesticado	Mexico	Quintana Roo			
JMC_1196	Dom_MI	CICY	Domesticado	Mexico	Quintana Roo	Kompocolche	19.8792	-88.3167
JMC_1197-COR	Dom_MI	CICY	Domesticado	Mexico	Quintana Roo		19.8833	-88.1333
JMC_1199	Dom_MI	CICY	Domesticado	Mexico	Yucatán		20.3694	-88.0864
JMC_1200	Dom_MI	CICY	Domesticado	Mexico	Quintana Roo		19.775	-88.1833
JMC_1201	Dom_MI	CICY	Domesticado	Mexico	Quintana Roo	Señor	21.1028	-87.3378
JMC_1215	Dom_MI	CICY	Domesticado	Mexico	Yucatán	Nenela	20.3497	-89.0193
JMC_1262-COR	Dom_MI	CICY	Domesticado	Mexico	Quintana Roo		18.5036	-88.3053
JMC_1284-COR	Dom_MI	CICY	Domesticado	Mexico	Campeche		19.5833	-89.5833
JMC_1288-COR	Dom_MI	CICY	Domesticado	Mexico	Yucatán		19.9786	-89.4883
JMC_1312-COR	Dom_MI	CICY	Domesticado	Mexico	Yucatán		20.4375	-88.3889
JMC_1325-COR	Dom_MI	CICY	Domesticado	Mexico	Yucatán		20.2031	-89.2878
JMC_1416	Wild_MII	CICY	Wild	Mexico	Quintana Roo		19.4092	-88.1018
JMC_1417	Wild_MII	CICY	Wild	Mexico	Quintana Roo		19.4186	-88.1419
JMC_1418	Wild_MII	CICY	Wild	Mexico	Quintana Roo		19.3968	-88.1362
JMC_1420	Wild_admixed	CICY	Wild	Mexico	Campeche		18.6487	-90.2885
JMC_221	Wild_MII	CICY	Wild	Mexico	Yucatán		20.525	-88.1233
JMC_277	Dom_MI	CICY	Domesticado	Mexico	Yucatán	Tixcacalcupul	20.3293	-88.1848
JMC_549	Wild_MII	CICY	Wild	Mexico	Yucatán		20.2108	-89.3691
JMC_778	Wild_MII	CICY	Wild	Mexico	Campeche		19.4142	-89.5742

**Anexo 3.** Individuos silvestres "puros" colectados en 2019 en los estados de Tabasco y Campeche, México.

ID	Estado	latitud	longitud	Estatus biológico	Composición
FNTA (garrapta)	Tabasco	N 18° 32.467'	W 092° 38.100'	Silvestre "pura"	3 individuos
FNTB (negra)	Tabasco	N 18° 32.467'	W 092° 38.100'	Silvestre "pura"	3 individuos
8 km	Tabasco	N 18° 35.319'	W 092° 33.888'	Silvestre "pura"	4 individuos
SMAPAC (garrapata)	Campeche	N 18° 53.580'	W 091° 02. 623'	Silvestre "pura"	3 individuos
Atasta A (garrapata)	Campeche	N 18° 37.053'	W 092° 09.955'	Silvestre "pura"	2 individuos
Atasta B (negra)	Campeche	N 18° 37.053'	W 092° 09.955'	Silvestre "pura"	4 individuos

**Anexo 4.** Protocolo de extracción de ADN por sílica (Echeverría-Machado *et al.*, 2005).

1. Encender la incubadora a 65 °C (baño María).
2. Preparar el buffer de extracción (100mM de Tris pH 8; 50mM de EDTA; 500mM de NaCl) en un vaso de precipitado estéril, añadir 1000µl por muestra, Añadir β-mercapto-etanol (0.75 µl/ml por buffer de extracción).
3. Macerar el tejido (1gr aproximadamente) con N2 líquido y PVP (adicionar una pizca de PVP por muestra). Se congelan los tubos Eppendorf de 2ml y se colecta.
4. Añadir 1000µl del buffer de extracción (ya preparado) se mezcla por inmersión.
5. Agregar 100µl de SDS al 20% y mezclar en vortex (5 segundos) e incubar en baño María por 10 minutos.
6. Añadir 500µl de acetato de potasio 5M, mezclar por inmersión e incubar en hielo por 20 min.
7. Centrifugar a 13 000 rpm por 21 minutos.
8. Obtener 1400µl del sobrenadante y colocar en un tubo Eppendorf de 2ml.
9. Añadir 300 µl de sílica (agitar manualmente 5 minutos antes de usarla) bien disuelta a cada tubo Eppendorf y mezclar manualmente durante 4 minutos.
10. Centrifugar a 12 000 rpm por 6 minutos.
11. Tirar el sobrenadante cuidando la pastilla.
12. Dejar secar la pastilla 1 hora (aproximadamente) dejando los tubos boca bajo en papel absorbente.
13. Agregar a la pastilla obtenida 50µl de agua estéril (inyectable), agitar con la gradilla 5 veces (pasando rápidamente el tubo por la gradilla) e incubar a temperatura ambiente por 15 minutos.

14. Centrifugar a 13 000 rpm durante 4 minutos.

15. Tomar los 50µl del sobrenadante