

LA FILOGEOGRAFÍA DEL COMPLEJO *POLIANTHES GEMINIFLORA* (*ASPARAGACEAE*) REVELA MÚLTIPLES LINAJES

 PEDRO DANIEL RIVAS-SALAZAR^{1,2,3*},  JORGE DAVID LÓPEZ-PÉREZ^{1,2,3} Y  AARÓN RODRÍGUEZ¹

¹ Herbario Luz María Villarreal de Puga del Instituto de Botánica, Departamento de Botánica y Zoología, Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Universidad de Guadalajara, Zapopan, Jalisco, México.

² Laboratorio Nacional de Identificación y Caracterización Vegetal, Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación, Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Universidad de Guadalajara, Zapopan, Jalisco, México.

³ Doctorado en Ciencias en Biosistemática, Ecología y Manejo de Recursos Naturales y Agrícolas, Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Universidad de Guadalajara, Zapopan, Jalisco, México.

*Autor para correspondencia: pedrodanielrivassalazar@gmail.com

Resumen

Antecedentes: *Polianthes cernua*, *P. geminiflora* var. *clivicola*, *P. geminiflora* var. *geminiflora*, *P. geminiflora* var. *pueblensis*, *P. graminifolia*, *P. multicolor*, *P. quilae* y *P. zapopanensis* forman un complejo de especies.

Hipótesis: Un análisis filogeográfico permitirá reconocer los linajes del complejo *Polianthes geminiflora*.

Especies de estudio: Complejo *Polianthes geminiflora*.

Sitio y años de estudio: México, 2014–2025.

Métodos: Se secuenciaron las regiones *ndhF-rpl32*, *rpl32-trnL* y *3' rps16-5' trnK* del ADN del cloroplasto en 195 individuos de 23 poblaciones. Se construyó una red de haplotipos y se estimó la diversidad genética con S , h , π y Hd . La estructura genética se evaluó mediante F_{ST} de un análisis de varianza molecular. El número de linajes se estimó mediante SAMOVA. Se estimó la estructura filogeográfica con N_{ST} y G_{ST} . Se evaluó la demografía histórica con F_S , D , un análisis de distribución de diferencias pareadas y gráficos de líneas de cielo bayesianos.

Resultados: La matriz de datos tuvo 195 secuencias de 1,552 pb. La red de haplotipos mostró 28 haplotipos en dos haplogrupos. La topología de la red no fue congruente con el SAMOVA, que identificó 19 linajes genéticos. Las pruebas de neutralidad no fueron significativas.

Conclusiones: El complejo *Polianthes geminiflora* presenta estructura genética y filogeográfica. No hay congruencia entre la variación genética y morfológica. Algunos linajes presentan baja variación genética, lo cual podría deberse a una diversificación reciente, baja dispersión, refugios pleistocénicos y topografía irregular.

Palabras clave: Biogeografía, genética de poblaciones, regiones intergénicas.

Abstract

Background: *Polianthes cernua*, *P. geminiflora* var. *clivicola*, *P. geminiflora* var. *geminiflora*, *P. geminiflora* var. *pueblensis*, *P. graminifolia*, *P. multicolor*, *P. quilae*, and *P. zapopanensis* represent a species complex.

Hypothesis: A phylogeographic analysis would uncover different lineages within *Polianthes geminiflora* complex.

Studied species: *Polianthes geminiflora* complex.

Study site and dates: Mexico, 2014-2025.

Methods: We sequenced the *ndhF-rpl32*, *rpl32-trnL*, and *3' rps16-5' trnK* intergenic regions of chloroplast DNA from 195 individuals, which pertains to 23 populations. The genealogy was estimated with a haplotype network and the genetic diversity with S , h , π , and Hd indexes. The genetic structure was inferred with F_{ST} value of an analysis of molecular variance. The number of lineages was estimated with a spatial analysis of molecular variance (SAMOVA). The phylogeographic structure was estimated with N_{ST} and G_{ST} indexes. Lastly, the demographic history was described using the indexes F_S , D , analysis of mismatch distribution (ADDP), and Bayesian skyline plot.

Results: The data set contained 195 sequences with 1,552 bp each. The haplotype network showed 28 haplotypes and two haplogroups. It was incongruent with the SAMOVA which identified 19 lineages. The neutrality test was not statistically significant.

Conclusions: The *Polianthes geminiflora* complex had genetic and phylogeographic structure. There is incongruence between genetic and morphological variation. The presence of lineages with low genetic variation results from a recent diversification, topographic variation, low dispersal capacity and the Pleistocene refugia formation.

Keywords: Biogeography, population genetic, intergenic regions.

Un complejo de especies es un grupo de taxones emparentados y reconocidos como especies pero que morfológicamente son difíciles de delimitar (Adams *et al.* 2014). La dificultad resulta de la especiación reciente, el flujo genético o la evolución repetida (paralelismo y convergencia, Cerca 2023). Por su parte, la especiación requiere de la existencia de barreras reproductivas entre poblaciones divergentes. En ocasiones, la especiación es gradual y la incompatibilidad reproductiva resulta de la acumulación de cambios genotípicos y fenotípicos en las poblaciones (Givnish 2010, Dufresnes *et al.* 2020). El concepto biológico de especies es útil en zoología (Mayr 1969), pero en plantas la hibridación e introgresión dificultan su aplicación. Según Cain (1954), una especie es el conjunto de individuos con variación morfológica, asociados a una distribución geográfica determinada y que están separados de otros conjuntos por una disrupción en la variación morfológica. Sin embargo, el posible flujo genético entre poblaciones divergentes genera híbridos que podrían llenar el espacio fenotípico entre poblaciones parentales. De este modo, surge un complejo de especies.

La filogeografía estudia la distribución geográfica de la variación genética entre poblaciones de una especie o entre especies emparentadas estrechamente. Analiza la distribución espacial de linajes genéticos (Avise 2000). Un linaje genético es una agrupación de entidades (alelos o haplotipos) que forman una sola línea de ascendencia y descendencia directa (Schaal *et al.* 1998, De Queiroz 1999, Avise 2000, Lanteri & Confalonieri 2003, Garrick *et al.* 2019). No cualquier segmento de un linaje puede considerarse una especie, pero una especie siempre corresponde al segmento de un linaje (De Queiroz 1999). Para delimitar un linaje como una especie debe existir congruencia entre diferentes fuentes de datos (Dufresnes *et al.* 2023, Burbrink *et al.* 2024). En particular, el método es recomendable en grupos con diversificación reciente. El género *Polianthes* L. (Asparagaceae) y en particular *P. geminiflora* (Lex.) Rose son un ejemplo ideal (Jiménez-Barron *et al.* 2020).

Polianthes incluye geófitas herbáceas. Producen raíces tuberosas y contráctiles, cormo y bulbo. Desarrollan inflorescencias racemosas o espigadas con una bráctea y una o dos bractéolas por nudo floral. Las flores son geminadas, pero solitarias en *P. howardii* Verh.-Will. El perigonio es tubular a infundibuliforme, rojo o blanco (McVaugh 1989, Solano 2000). *Polianthes* agrupa 23 especies endémicas de México (Solano *et al.* 2019).

El reconocimiento y la posición filogenética de *Polianthes* están bajo discusión. Jiménez-Barron *et al.* (2020) mostraron que *Polianthes* se encuentra inmerso en el género *Agave* L. Thiede *et al.* (2019) sugirieron que los géneros de la tribu Poliantheae (*Manfreda* Salisb., *Polianthes* y *Prochnyanthes* S.Watson) deben considerarse como agaves herbáceos. Por otro lado, Vázquez-García *et al.* (2024) reconocieron a los géneros de Poliantheae y propusieron a los géneros *Equinoagave* Vázquez, Rosales, & García-Mor., *Paleoagave* Vázquez, Rosales, & García-Mor. y *Paraagave* Vázquez, Rosales, & García-Mor.

Polianthes geminiflora fue descrita inicialmente bajo el nombre de *Bravoa geminiflora* Lex. y designada como especie tipo, del entonces género monotípico *Bravoa* Lex. (Lexarza 1824). Posteriormente, *P. graminifolia* Rose fue descrita por Rose (1903). McVaugh (1989) describió a *P. geminiflora* var. *clivicola* McVaugh e indicó que *P. graminifolia* representaba una variedad de *P. geminiflora*. Eventualmente, Solano (2000) realizó un análisis cladístico para evaluar las relaciones filogenéticas dentro de *Polianthes* y reconoció a *P. graminifolia* como una especie diferente. Solano & Dávila (2003) nombraron a *P. multicolor* E.Solano & Dávila. Después, Solano & Ríos-Gómez (2011) segregaron a *P. zapopanensis* E.Solano & Ríos-Gómez de *P. geminiflora*. Castro-Castro *et al.* (2015) separaron a *P. cernua* Art.Castro, J. G. González & Aarón Rodr. de *P. geminiflora*. Castro-Castro *et al.* (2016) hicieron lo mismo con *P. quillae* Art.Castro & Aarón Rodr. Adicionalmente, García-Mendoza & Solano (2007) propusieron a *P. geminiflora* var. *pueblensis* E.Solano & García-Mend. como un taxón endémico de Puebla. Consecutivamente, Solano & García-Mendoza (2013) neotipificaron a *P. geminiflora* y discutieron las diferencias morfológicas entre *P. geminiflora* var. *clivicola*, *P. geminiflora* var. *geminiflora* y *P. geminiflora* var. *pueblensis*.

El complejo *Polianthes geminiflora* incluye a *P. cernua*, *P. geminiflora* var. *clivicola*, *P. geminiflora* var. *geminiflora*, *P. geminiflora* var. *pueblensis*, *P. graminifolia*, *P. multicolor*, *P. quillae* y *P. zapopanensis*. Castro-Castro *et al.* (2015) describieron a *P. cernua* como una especie endémica del municipio de Mixtlán en el estado de Jalisco. Castro-Castro *et al.* (2016) registraron a *P. geminiflora* en la Ciudad de México y los estados de Durango, Guerrero, Hidalgo, Jalisco, México, Michoacán, Morelos, Nayarit, Puebla, Querétaro y Tlaxcala. Además, durante el presente

estudio, *P. geminiflora* var. *geminiflora* fue encontrado en el estado de Zacatecas. Según Castro-Castro *et al.* (2016), *P. graminifolia* crece en los estados de Aguascalientes, Guanajuato, Jalisco y Zacatecas. *Polianthes multicolor* es endémico de Guanajuato (Solano & Dávila 2003). La distribución de *P. quilaie* está restringida a la Sierra de Quila en los municipios de Tecolotlán y Tenamaxtlán, Jalisco (Castro-Castro *et al.* 2016). Por último, Solano & Ríos-Gómez (2011) publicaron que *P. zapopanensis* es endémico de Jalisco.

Los estados de Aguascalientes, Colima, Jalisco y Nayarit, y algunas porciones de Guanajuato, Michoacán y Zacatecas formaron parte de la Nueva Galicia (Lázaro de Arregui 1946). *Polianthes zapopanensis*, *P. cernua* y *P. quilaie* fueron considerados como *P. geminiflora* en la Flora Novo-Galiciana (McVaugh 1989). Howard (1986) describió algunas poblaciones del norte de la ciudad de Guanajuato que sin duda pertenecen a *P. multicolor*. Aunque *P. multicolor* crece en Guanajuato, McVaugh (1989) no analizó ningún espécimen que pueda ser referido a este taxón (Solano & Dávila 2003). En todos los casos, los autores discutieron la similitud morfológica con *P. geminiflora* (Figura 1). Pérez-Álvarez (2016) analizó los límites intra e interespecíficos del complejo *P. geminiflora* utilizando caracteres morfológicos y solo reconoció a *P. zapopanensis*.

Los análisis filogeográficos han permitido analizar la diversificación, la dispersión y la disyunción de taxones con un rango geográfico similar al complejo *Polianthes geminiflora* o en áreas con historias geológicas y climáticas parecidas (Sosa *et al.* 2009, Ruiz-Sanchez & Specht 2013, Scheinvar *et al.* 2016, Aguirre-Planter *et al.* 2020, Anguiano-Constante *et al.* 2021, Kahl *et al.* 2021, López-Pérez *et al.* 2022, Romero-Soler *et al.* 2022). Un análisis filogeográfico podría identificar los linajes genéticos del complejo *P. geminiflora* y revelar parte de su historia evolutiva.

Materiales y métodos

Muestreo taxonómico. Se consultaron los protólogos y localidades tipo para elegir las poblaciones muestreadas. Las poblaciones tipo (topotipos y toponeotipos) de *Polianthes cernua*, *P. geminiflora* var. *clivicola*, *P. geminiflora* var. *geminiflora*, *P. geminiflora* var. *pueblensis*, *P. quilaie* y *P. zapopanensis* fueron incluidas. También, se muestrearon poblaciones adicionales de *P. geminiflora* var. *geminiflora*, *P. geminiflora* var. *clivicola*, *P. geminiflora* var. *pueblensis*, *P. graminifolia*, *P. zapopanensis* y *P. multicolor* para representar el rango geográfico del complejo de especies. Por último, una población de *P. howardii* fue incluida como referencia para contrastar la variación genética entre especies con variación morfológica evidente (Tabla S1, Figura 1). El muestreo incluyó 4-10 individuos por población.

Extracción de ADN. Las hojas para la extracción de ADN se preservaron en gel de sílice y fueron preparados ejemplares de herbario de cada población como respaldo (Funk *et al.* 2017). Después, se generó un mapa de distribución de las poblaciones muestreadas con el programa QGIS v. 3.36 (qgis.org).

Para la extracción de ADN, seguimos el protocolo de Doyle & Doyle (1987). La calidad y concentración del ADN fueron verificadas utilizando un espectrofotómetro de micro volumen y geles de agarosa al 1 %. Por último, se prepararon diluciones a 40 ng/μL y se almacenaron a -20 °C.

Amplificación y secuenciación de ADN. Las regiones intergénicas de ADN del cloroplasto (ADNcp) empleadas para el análisis fueron *ndhF-rpl32*, *rpl32-trnL* y *3'rps16-5'trnK* (Shaw *et al.* 2007, Shaw *et al.* 2014). Para la reacción en cadena de la polimerasa fueron utilizados 3 μL de Green *taq* DNA Polimerasa, 3.5 μL de agua libre de nucleasas, 0.5 μL de cada cebador y 1 μL de ADN. Los parámetros utilizados para *ndhF-rpl32* fueron: cinco minutos de desnaturalización inicial a 80 °C; seguido de 30 ciclos con un minuto de desnaturalización a 95 °C, un minuto de alineamiento a 47 °C y cuatro minutos de extensión a 65 °C. Por último, cinco minutos de extensión final a 65 °C concluyeron el proceso. Los parámetros ingresados para *rpl32-trnL* fueron: dos minutos de desnaturalización inicial a 94 °C; seguido de 35 ciclos con un minuto de desnaturalización a 94 °C, dos minutos de alineamiento a 60 °C y dos minutos y medio de extensión a 72 °C. Cinco minutos de extensión final a 72 °C terminaron la amplificación. Los parámetros empleados para *3'rps16-5'trnK* fueron: 10 minutos de desnaturalización inicial a 94 °C; seguido de 35 ciclos con

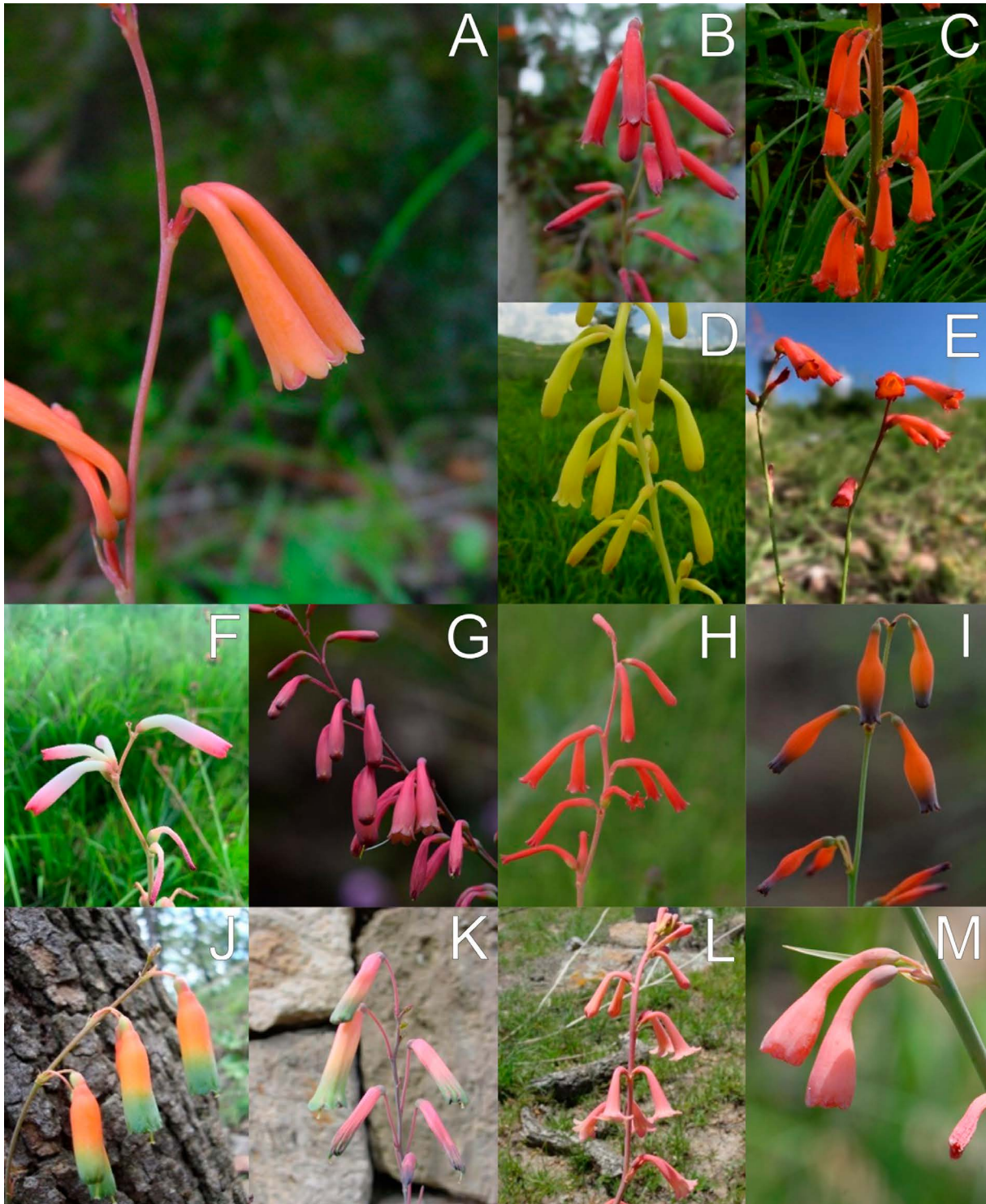


Figura 1. Morfología floral de las especies utilizadas en el análisis. A. *Polianthes geminiflora* var. *geminiflora*, Jesús del Monte. B. *P. geminiflora* var. *clivicola*, Los Mazos. C. *P. geminiflora* var. *clivicola*, Atemajac de Brizuela. D. *P. geminiflora* var. *geminiflora*, Los Ayones. E. *P. geminiflora* var. *pueblensis*, Tlaxcolpan. F. *P. geminiflora* var. *geminiflora*, Teúl de González Ortega. G. *P. geminiflora* var. *geminiflora*, Mascota. H. *P. graminifolia*. I. *P. quillae*. J. *P. cernua*. K. *P. howardii*. L. *P. multicolor*. M. *P. zapopenensis*. Fotografías de A. Rodríguez (A, B, D, F, H-L); F. J. Ramirez-Maravillas (C, G) y P. D. Rivas-Salazar (E).

45 segundos de desnaturalización a 94 °C, un minuto de alineamiento a 50 °C y un minuto de extensión a 72 °C. El protocolo incluyó 10 minutos de extensión final a 72 °C. La calidad de las amplificaciones fue verificada con geles de agarosa al 1 %.

Los productos de PCR fueron purificados utilizando 1 µL de ExoSAP-IT™ (PCR Product Clean-up Reagent) y 5 µL de producto de PCR. Las condiciones fueron: un ciclo con 15 minutos a 37 °C y 15 minutos a 80 °C. Luego, fueron almacenados a 4 °C. Para la reacción de secuenciación se preparó una mezcla con 0.5 µL de BigDye™ Terminator v. 3.1 (Ready Reaction Mix), 1 µL BigDye Terminator v. 1.1 5x Sequencing Buffer, 1.5 µL de agua libre de nucleasas, 1 µL de cada cebador y 1 µL de producto de PCR purificado. Las condiciones utilizadas fueron: un minuto de desnaturalización inicial a 96 °C; 25 ciclos con diez segundos de desnaturalización a 96 °C, cinco segundos de alineamiento a 50 °C y cuatro minutos de extensión a 60 °C.

Análisis de diversidad genética. La identidad de las secuencias obtenidas se verificó con la herramienta BLAST (Boratyn *et al.* 2013) del NCBI (blast.ncbi.nlm.nih.gov). Las secuencias fueron ensambladas con el programa Sequencher v. 4.1.4 (www.genecodes.com). El algoritmo MUSCLE v. 3.8.31 (Edgar 2004), en el programa PHYDE (www.phyde.de), ejecutó un alineamiento inicial, seguido de un alineamiento manual. Los indels e inversiones fueron codificadas como mutaciones simples (Simmons & Ochoterena 2000). El número de sitios polimórficos (S), el número de haplotipos (h), la diversidad nucleotídica (π) y la diversidad haplotípica (H_d) fueron calculadas en DnaSP v. 6.12.03 (Rozas *et al.* 2017). Se construyó una red de haplotipos con el algoritmo Median Joining Network utilizando PopArt (Bandelt *et al.* 1999).

Estructura genética y filogeográfica. Para inferir la estructura genética, se ejecutó un análisis de varianza molecular (AMOVA) sin grupos a priori en el programa Arlequin v. 3.5 (Excoffier & Lischer 2010). También, se realizó un análisis espacial de varianza molecular (SAMOVA) para estimar la diferenciación genética dentro de las poblaciones (F_{ST}), entre poblaciones dentro de los grupos (F_{SC}), entre grupos (F_{CT}) y el número de grupos geográficamente homogéneos y genéticamente diferenciados más probable (K , Dunpaloup *et al.* 2002). El valor más probable de K fue estimado con las 22 poblaciones colectadas del complejo *Polianthes geminiflora*, 2-19 particiones, 100 permutaciones y eligiendo la partición con el valor F_{CT} más alto (Dunpaloup *et al.* 2002). Análisis filogeográficos previos indican que los grupos K pueden considerarse como linajes genéticos (Godbout *et al.* 2010, Zhang & Zhang 2012, Chiarini *et al.* 2018). Se obtuvieron los parámetros N_{ST} y G_{ST} con una prueba de permutación con 10,000 permutaciones realizada en Permut CpSRR v. 2.0 (Pons & Petit 1996) para inferir la estructura filogeográfica.

Historia poblacional. Los índices F_s (Fu 1997) y D (Tajima 1989) fueron calculados con Arlequin v. 3.5 (Excoffier & Lischer 2010) para poner a prueba la hipótesis de neutralidad. Además, se realizó un análisis de distribución de diferencias pareadas (ADDP) en el programa DnaSP v. 6.12.03 (Rozas *et al.* 2017). Los modelos evolutivos de cada región fueron inferidos en jModeltest v. 2.1.6 (Darriba *et al.* 2012), en la plataforma CIPRES (Miller *et al.* 2015). El tamaño efectivo poblacional (N_e) a través del tiempo fue evaluado con un análisis de gráficos de líneas de cielo bayesianas en BEAST v. 2.7.6 (Drummond *et al.* 2005, Suchard & Rambaut 2009). Utilizamos un reloj molecular relajado optimizado y tasas de sustitución 1.1×10^{-9} y 1.6×10^{-9} sitios/sustitución/año (Wolfe *et al.* 1987). Finalmente, los gráficos de líneas de cielo bayesianas fueron reconstruidas con el programa Tracer v. 1.7.2 (Rambaut *et al.* 2018).

Resultados

Análisis de secuencias y diversidad genética. Se incluyeron ocho taxones, 22 poblaciones y 185 individuos del complejo *Polianthes geminiflora* y una población de 10 individuos de *P. howardii* (Tabla S1, Figura 1). Se obtuvieron secuencias de cuatro a diez individuos por población. En la región *ndhF-rpl32*, la sección *ndhF* fue descartada debido a su baja calidad, el resto midió 436 pb. La región *rpl32-trnL* tuvo una longitud de 583 pb. Finalmente, la longitud de *3' rps16-5' trnK* fue de 533 pb (Tabla S2). La base de datos concatenada incluyó 195 secuencias con una longitud de 1,552 pb cada una.

La red de haplotipos mostró 28 haplotipos, de los cuales 25 fueron encontrados en el complejo *Polianthes geminiflora* y tres en *P. howardii* (Figura 2A). El número de pasos mutacionales entre haplotipos osciló entre uno y cuatro. El H8 tuvo más conexiones. El H1 fue el más frecuente y más ampliamente distribuido. En el complejo, el número de sitios polimórficos fue $S = 32$ y la diversidad haplotípica y nucleotídica fue $Hd = 0.9416$ y $\pi = 0.0040$, respectivamente.

Estructura genética y filogeográfica. El resultado de la prueba de AMOVA sin grupos a priori del complejo *Polianthes geminiflora* mostró un valor $F_{ST} = 0.812$ (Tabla 1). Los resultados del análisis con SAMOVA mostraron un valor de $K = 19$ (Tabla 1). El análisis de permutación estimó valores para los índices de diferenciación $G_{ST} = 0.320$ y $N_{ST} = 0.402$ ($P < 0.05$).

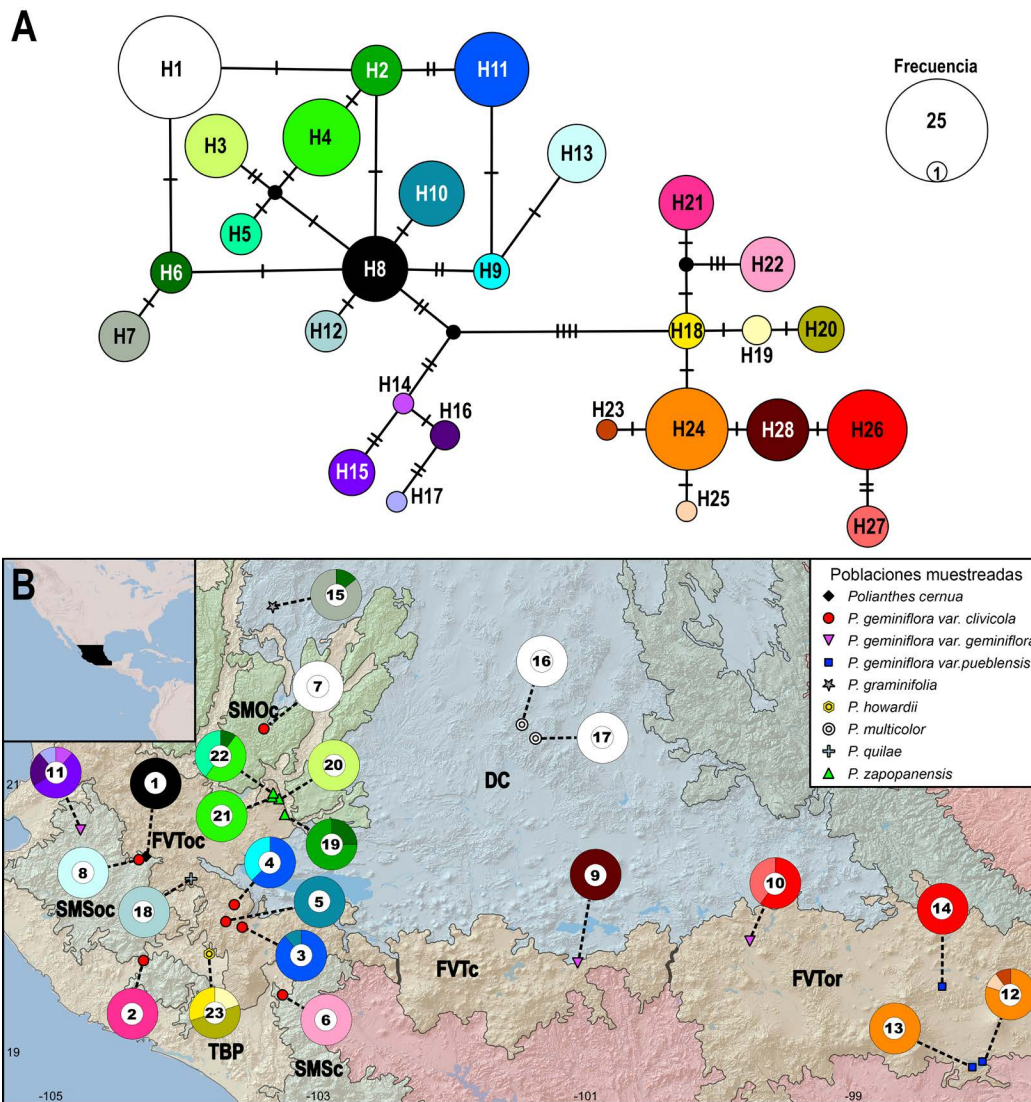


Figura 2. Red de haplotipos y mapa de distribución del complejo *Polianthes geminiflora*. A. Cada color representa un haplotipo en la red y en el mapa de distribución. Red de haplotipos, el tamaño de los círculos indica la frecuencia de los haplotipos. Las líneas negras perpendiculares a las conexiones entre haplotipos indican pasos mutacionales. Los círculos negros son haplotipos hipotéticos. B. Distribución geográfica de las poblaciones muestreadas y sus haplotipos, los números dentro de los círculos representan el número de población. DC. Desierto Chihuahuense. FVToc. sector occidental de la Faja Volcánica Transmexicana. FVTc. sector central de la Faja Volcánica Transmexicana. FVTor. sector oriental de la Faja Volcánica Transmexicana. SMOc. Sierra Madre Occidental. SMSc. Sierra Madre del Sur central. SMSoc. Sierra Madre del Sur occidental.

Historia poblacional. En el complejo *Polianthes geminiflora*, las pruebas de neutralidad arrojaron valores para $D = 0.3714$ ($P = 0.665$) y de $F_s = -1.1320$ ($P = 0.453$). El ADDP tuvo una distribución multimodal (Figura 3). Los análisis de gráficos de líneas de cielo bayesianas indicaron una disminución en el N_e hace ~ 100 mil años (Figura 4).

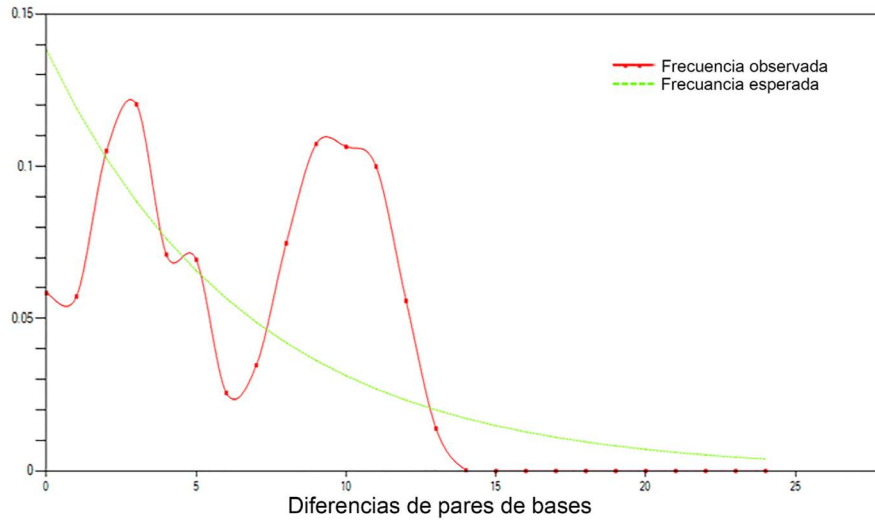


Figura 3. Distribución de diferencias pareadas en el complejo *Polianthes geminiflora*.

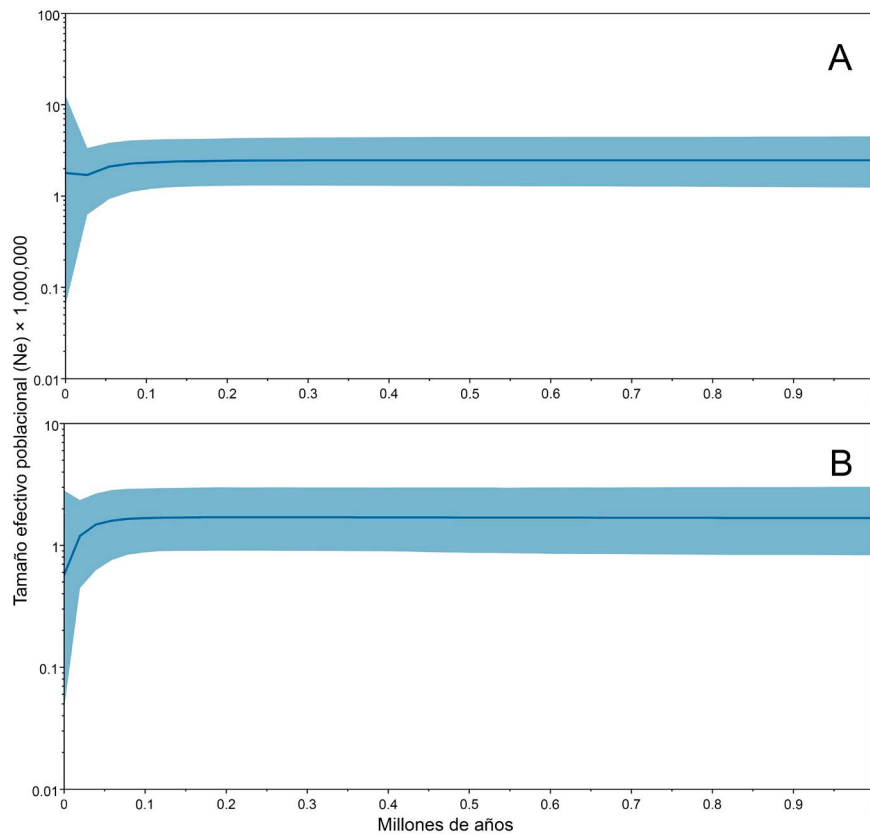


Figura 4. Gráficos de líneas de cielo bayesianas. A. tasa de sustitución de 1.1×10^{-9} sitios/sustitución/año. B. tasa de sustitución 1.6×10^{-9} sitios/sustitución/año.

Discusión

Según Freeland (2005), valores de $F_{ST} > 0.25$ indican diferenciación genética y sugieren estructura genética. Además, si $N_{ST} > G_{ST}$ entonces hay estructura filogeográfica (Pons & Petit 1996). En el complejo *Polianthes geminiflora*, el AMOVA no jerárquico indicó estructura genética (Tabla 1). Mientras que, el análisis de permutación sugirió estructura filogeográfica. Por lo cual, las poblaciones son genéticamente diferentes, posiblemente como resultado de la diversidad topográfica de su distribución geográfica.

Un linaje genético es la agrupación de haplotipos, alelos o genes con una línea de ascendencia y descendencia directa (De Queiroz 1999). La red de haplotipos permite identificar linajes en un gráfico (Lanteri & Confalonieri 2003). En nuestro análisis, la diversidad nucleotídica y el número de pasos mutacionales entre haplotipos fueron bajos (Figura 2A). Sin embargo, la diversidad haplotípica fue alta. La red mostró dos haplogrupos principales (Figura 2A). El primero formado por los haplotipos H1 a H17, mientras que el segundo incluyó del H18 al H28. Avise (2000) propone cinco patrones filogeográficos. El primero refleja redes profundas con haplotipos alopatricos. El segundo engloba redes profundas con haplotipos simpátricos. El tercero alude a redes someras con haplotipos alopatricos. El cuarto incluye redes poco profundas con haplotipos simpátricos. Por último, en el quinto patrón los haplotipos estrechamente relacionados están confinados a localidades cercanas y los haplotipos más frecuentes tienen distribución geográfica amplia. El primer haplogrupo del complejo *Polianthes geminiflora* es congruente con el quinto patrón (Figura 2). Los haplotipos de este se encuentran distribuidos en el sector occidental de la Faja Volcánica Transmexicana (FVToc, Gómez-Tuena *et al.* 2005), la subprovincia biogeográfica Sierra Madre del Sur occidental (SMSoc, Morrone 2019) y las provincias biogeográficas Sierra Madre Occidental (SMOc) y Desierto Chihuahuense (DC, Morrone *et al.* 2017). Los haplotipos del segundo haplogrupo, localizados en las subprovincias biogeográficas SMSoc, Sierra Madre del Sur central (SMSc), los sectores central y oriental de la Faja Volcánica Transmexicana (FVTc, FVTor) y la provincia biogeográfica Tierras Bajas del Pacífico (TBP), siguen el tercer patrón. En el primer haplogrupo, los múltiples haplotipos conectados por pocos pasos mutacionales sugieren una dispersión reciente y repentina (Avise 2000, Freeland 2005). Mientras que, el arreglo de los haplotipos dentro del segundo haplogrupo pudo ser ocasionado por el efecto de ciclos de aislamiento prolongado seguidos de introgresión genética (Avise 2000).

El SAMOVA indicó que cada población representa un linaje, pero con dos excepciones. *Polianthes geminiflora* var. *geminiflora* (7, Tabla S1, Figura 2B) y *P. multicolor* forman el linaje K14 (16, 17, Tabla S1, Figura 2B). En lo sucesivo, toda referencia a cualquier taxón será acompañada por su número de población de acuerdo con la Tabla S1 y la Figura 2). Por su parte, las poblaciones de *P. geminiflora* var. *pueblensis* (12, 13) formaron el linaje K11. Sosa

Tabla 1. Resultados del análisis de varianza molecular (AMOVA) y análisis espacial de varianza molecular (SAMOVA) del complejo *Polianthes geminiflora*. gd) grados de libertad; *) $P < 0.05$; **) $P < 0.01$; ***) $P < 0.001$.

Fuente de variación	gd	Suma de cuadrados	Componentes de la varianza	Porcentaje de variación	Índice de fijación
AMOVA sin grupos <i>a priori</i>					
Entre poblaciones	21	71.728	0.3958 Va	81.24	$F_{ST} = 0.812^{***}$
Dentro de las poblaciones	163	14.899	0.0914 Vb	18.76	
Total	184	86.627	0.4872		
SAMOVA $K=19$					
Entre grupos	18	542.842	3.1299 Va	94.85	$F_{CT} = 0.948^{***}$
Entre poblaciones dentro de los grupos	3	0.089	-0.0189 Vb	-0.57	$F_{SC} = -0.111^{***}$
Dentro de las poblaciones	163	30.810	0.1890 Vc	5.73	$F_{ST} = 0.942^{***}$
Total	184	513.741	3.2999		

et al. (2009) y Martínez-Poiré (2024) obtuvieron resultados similares con poblaciones de *Hunnemannia fumariifolia* Sweet (Papaveraceae) y *Mimophytum cardiophyllum* (A. Gray ex Hemsl.) R. R. Mill ex Holstein & Weigend (Boraginaceae) respectivamente, distribuidas a lo largo de la Sierra Madre Oriental (SMO, Morrone *et al.* 2017). Estos casos apoyan el efecto de la irregularidad topográfica y la formación de refugios pleistocénicos en la diferenciación genética de las poblaciones.

Datos diferentes generan propuestas taxonómicas contrastantes. Nuestros resultados discrepan de las hipótesis de Solano (2000), Solano & García-Mendoza (2013) y Pérez-Álvarez (2016). Dufresnes *et al.* (2023) y Burbrink *et al.* (2024) sugieren que, erróneamente se proponen linajes genéticos como especies nuevas, a pesar de la evidencia de una especiación incompleta. No obstante, si la diferenciación de linajes es congruente con la variación morfológica, anatómica y el rango geográfico, entonces podrían tratarse de especies diferentes (Lanteri & Confalonieri 2003, Dufresnes *et al.* 2023). *Polianthes graminifolia* (15) y *P. zapopanensis* (19, 22) comparten un haplotipo entre sí (Figura 2A), pero son alopátricas y están morfológicamente diferenciadas. Lo mismo ocurre con *P. geminiflora* var. *geminiflora* (7) y *P. multicolor* (16, 17) que forman el linaje K14 (Tabla S1). Según Freeland (2005), haplotipos compartidos entre especies morfológicamente distintas y aisladas geográficamente indican flujo genético reciente o la coexistencia de haplotipos ancestrales y descendientes. Burbrink *et al.* (2024) sugieren que el flujo entre linajes no indica por sí solo la ausencia de aislamiento reproductivo ya que aun podrían existir límites fuertes pero permeables. La permeabilidad en las barreras reproductivas suele ser producto de una diversificación reciente (Garrick *et al.* 2019, Dufresnes *et al.* 2023). Jiménez-Barron *et al.* (2020) estimaron la diversificación del clado *Manfreda-Polianthes-Prochnyanthes* en ~1.2 Ma. Nuestros resultados sugieren la convivencia de un haplotipo ancestral entre *P. graminifolia* (15) y *P. zapopanensis* (19, 22). Por otro lado, la evidencia sugiere flujo genético entre *P. geminiflora* var. *geminiflora* (7) y *P. multicolor* (16, 17). Esta observación es congruente con la hipótesis del origen híbrido de *P. multicolor* propuesta por Solano & Dávila (2003).

Polianthes cernua (1), *P. howardii* (23), *P. multicolor* (16, 17) y *P. quilae* (18) son alopátricas y morfológicamente diferentes. Nuestros resultados muestran que éstas son parte de linajes distintos. En otro caso, *P. geminiflora* var. *pueblensis* (14) y *P. geminiflora* var. *geminiflora* (10) comparten el haplotipo H26. Por lo tanto, es posible suponer que las diferencias discutidas por García-Mendoza & Solano (2007) y Solano & García-Mendoza (2013) entre *P. geminiflora* var. *geminiflora* y *P. geminiflora* var. *pueblensis* se traten de adaptaciones a las diferentes condiciones climáticas que existen a lo largo de la FVT. De acuerdo con el flujo de trabajo para el reconocimiento de linajes como especies y subespecies propuesto por Dufresnes *et al.* (2023), *P. geminiflora* var. *geminiflora* y *P. geminiflora* var. *pueblensis* son la misma entidad taxonómica. Por el contrario, las poblaciones de *P. geminiflora* var. *clivicola* (2, 6) no comparten haplotipos y tienen un número mayor de pasos mutacionales entre haplotipos en comparación a otras especies del complejo (Figura 2). Además, SAMOVA los identificó como linajes genéticos distintos al resto del complejo (Tabla S1). Sin embargo, la variación morfológica y el rango geográfico no ayudan a su reconocimiento como especies diferentes.

La red de haplotipos mostró un mayor número de pasos mutacionales entre *P. geminiflora* var. *clivicola* (3-5) y *P. geminiflora* var. *geminiflora* (9, 10), que entre *P. geminiflora* var. *geminiflora* (9, 10) y *P. howardii* (23). Lo mismo ocurre entre *P. geminiflora* var. *geminiflora* (9, 10) y *P. geminiflora* var. *geminiflora* (7, 8, 11). Verhoek-Williams (1975) y Hernández-Maldonado (2019) generaron híbridos fértiles cruzando especies y géneros diferentes de *Poliantheae*. Solano & Dávila (2003) sugirieron el origen híbrido de *P. multicolor*. Además, García-Mendoza & Solano (2007) describen a *P. oaxacana* García-Mend. & E. Solano como especie con morfología intermedia entre *Polianthes* y *Prochnyanthes*. Un caso similar ocurre con *P. geminiflora* var. *geminiflora* (11) que presenta similitudes foliares y florales con *Prochnyanthes mexicana* (Zucc.) Rose (Figura 1). Por lo anterior, proponemos que dentro del complejo *P. geminiflora*, la variación morfológica no refleja el grado de variación genética.

En el complejo *Polianthes geminiflora*, el número de mutaciones entre linajes varía entre uno y cuatro (Figura 2A). Los análisis filogeográficos realizados en *Bakerantha caerulea* (Matuda) I. Ramírez & K.J. Romero (Bromeliaceae, Romero-Soler *et al.* 2022), *Nolina parviflora* Hemsl. (Asparagaceae, Ruiz-Sánchez & Specht 2013) y *Tigridia durangensis* Molseed ex Cruden (Iridaceae, López-Pérez *et al.* 2022), codistribuidas con el complejo *P. geminiflora*,

mostraron 5-26 pasos mutacionales entre linajes. Avise (2000) sugiere que eventos de separación históricos producen niveles altos de diferenciación genética. Por lo cual, los tiempos de divergencia podrían explicar el bajo número de pasos mutacionales entre los haplotipos de *P. geminiflora*. La diversificación en *Polianthes* ocurrió hace ~0.5 Ma, durante el Pleistoceno (Jiménez-Barron *et al.* 2020). En contraste, la diversificación de *Bakerantha* L. B. Sm., *Nolina* Michx. y *Tigridia* Juss. sucedió hace 9.05-41.1 Ma que incluye el Mioceno y el Eoceno (Goldblatt *et al.* 2008, Ferrari *et al.* 2012, Chen *et al.* 2013, Rivera-Martínez *et al.* 2022). Es decir, el grado de variación genética puede ser explicado por la formación de la FVT, que según Ferrari *et al.* (2012) es un proceso que tiene entre 20-19 Ma. Por otro lado, la diferenciación de los linajes de *Polianthes* podría ser consecuencia de la actividad volcánica y las oscilaciones climáticas del Pleistoceno (Lüthi *et al.* 2008, Ferrari *et al.* 2012, Lunt *et al.* 2013, Jiménez-Barron *et al.* 2020, Eguiarte *et al.* 2021). Adicionalmente, la disminución de la temperatura posterior a la última inter-glaciación (UIG, 0.13-0.116 Ma, Lüthi *et al.* 2008, Lunt *et al.* 2013) pudo disminuir el N_e y acentuar la diferenciación entre las poblaciones.

Los valores no significativos en las pruebas de neutralidad indican un N_e constante. La distribución multimodal del gráfico ADDP en el complejo *Polianthes geminiflora* (Figura 3) sugiere estabilidad poblacional. No obstante, Scaldaferrero *et al.* (2023) sugieren que puede ser indicio de la formación de linajes. Los análisis de gráficos de líneas de cielo bayesianas muestran un N_e constante en el complejo *P. geminiflora* hace entre 1-0.01 Ma (Figura 4), seguido de una reducción del N_e a partir de la UIG (Lunt *et al.* 2013). Loveless & Hamrich (1984) indican que estrategias de dispersión limitadas por gravedad (por ejemplo, autocoria) aumentan la estructura genética entre poblaciones y la reducen dentro de cada población. Así, debido a la limitada dispersión de las semillas, su estructura genética refleja la estructura espacial o la distribución actual de los individuos. Cortés-Flores *et al.* (2013) reportaron autocoria en *Echeandia durangensis* (Greenm.) Cruden (Asparagaceae) y *E. mexicana* Cruden. Las plantas de *Polianthes* desarrollan una cápsula loculicida y semillas planas cubiertas por una exotesta negra similares a las de *Echeandia* Ortega (McVaugh 1989, Solano 2000). Según Whitlock (2000), la probabilidad de fijación de mutaciones nuevas es inversamente proporcional al N_e . Por lo cual, el equilibrio poblacional pudo favorecer la acumulación de variación genética entre los linajes del complejo.

Las especies del complejo *Polianthes geminiflora* desarrollan un perigonio tubular, rojo, amarillo, verde o una combinación de todos (Figura 1). En el campo, es frecuente observar colibríes visitando las flores (MacNeill *et al.* 2023). Los linajes pudieron haber llegado a la misma presentación floral a través de evolución repetida (Cerca 2023). Esto representaría un paralelismo evolutivo hacia el síndrome de polinización por colibríes. Por lo cual, de acuerdo con Rocha *et al.* (2006), Dellinger (2020), MacNeill *et al.* (2023), Peralta *et al.* (2024) y Wessinger (2024) es posible asegurar que se trata de flores adaptadas a la polinización por estas aves. Dos hipótesis predicen la especiación en clados con este síndrome de polinización. La primera sugiere que la interacción planta-colibríes promueve la especiación (Cronk & Ojeda 2008, Ornelas *et al.* 2015, Wessinger 2024). En Norte América, los colibríes se originaron hace 12 Ma. Después, tuvieron un periodo de diversificación hacia los 5 Ma (Bleiwiss 1998, McGuire *et al.* 2014). *Poliantheae* se separó de su grupo hermano hace ~3.55 Ma y diversificó hace ~1.2 Ma (Jiménez-Barron *et al.* 2020). La diversificación del complejo *P. geminiflora* fue facilitada por la diversidad preexistente de colibríes (Muchhala *et al.* 2014). En contraste, la hipótesis propuesta por Abrahamczyk & Renner (2015) sugiere una asimetría en el número de especies de colibríes (361) y el número de especies de plantas con este síndrome de polinización (7,000). Los autores sugieren que la diversificación de clados vegetales es el resultado del gradual, continuo e independiente cambio de polinización por insectos a colibríes. De ser así, el complejo *P. geminiflora* podría ser un grupo polifilético (MacNeill *et al.* 2023).

El complejo *Polianthes geminiflora* tiene estructura genética y filogeográfica. La variación nucleotídica fue baja pero la diversidad haplotípica fue alta. La red de haplotipos mostró dos haplogrupos. En el primero, múltiples haplotipos conectados por pocos pasos mutacionales sugieren una dispersión reciente y repentina. Ciclos de aislamiento prolongado seguidos de introgresión genética describen al segundo haplogrupo. SAMOVA identificó 19 linajes que pueden ser explicados por el efecto de la irregularidad topográfica, la baja capacidad de dispersión y la formación de refugios pleistocénicos. Nuestros resultados no reflejan una congruencia entre la variación genética y

morfológica. La evidencia sugiere la existencia de linajes con poca variación genotípica, resultado de una diversificación reciente o flujo genético entre poblaciones divergentes.

Material suplementario

El material suplementario de este trabajo puede ser consultado aquí: <https://doi.org/10.17129/botsci.3748>

Agradecimientos

Agradecemos a Pilar Zamora-Tavares, Azul Martínez-Poiré, Omar Enriquez Antonio, María de la Luz Pérez-García, Marco Antonio Anguiano-Constante, Eduardo Ruiz-Sanchez y a los estudiantes y miembros del Laboratorio Nacional de Identificación y Caracterización Vegetal (LaniVeg) por su ayuda en el trabajo de laboratorio y análisis bioinformáticos. Gracias a Guadalupe Munguía-Lino y Francisco Javier Ramirez-Maravillas por su ayuda en el trabajo de campo.

Literatura citada

- Abrahamczyk S, Renner SS. 2015. The temporal build-up of hummingbird/plant mutualisms in North America and temperate South America. *BMC Evolutionary Biology* **15**: 104. <https://doi.org/10.1186/s12862-015-0388-z>
- Adams M, Raadik TA, BurrIDGE CP, Georges A. 2014. Global biodiversity assessment and hyper-cryptic species complexes: more than one species of elephant in the room? *Systematic Biology* **63**: 518-533. DOI: <https://doi.org/10.1093/sysbio/syu017>
- Aguirre-Planter E, Parra-Leyva JG, Ramírez-Barahona S, Scheinvar E, Lira-Saade R, Eguiarte LE. 2020. Phylogeography and genetic diversity in a southern North American desert: *Agave kerchovei* from the Tehuacán-Cuicatlán Valley, Mexico. *Frontiers in Plant Science* **11**: 863. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00863>
- Anguiano-Constante MA, Zamora-Tavares P, Ruiz-Sanchez E, Dean D, Rodríguez A, Munguía-Lino G. 2021. Population differentiation and phylogeography in *Lycianthes moziniana* (Solanaceae: Capsiceae) a perennial herb endemic to the Mexican Transition Zone. *Biological Journal of the Linnean Society* **132**: 359-373. DOI: <https://doi.org/10.1093/biolinnean/blaa198>
- Avice JC. 2000. *Phylogeography: the history and formation of species*. Londres, Inglaterra: President and Fellows of Harvard College. ISBN: 0-674-66638-0
- Bandelt HJ, Forster P, Röhl A. 1999. Median-Joining Networks for Inferring Intra-specific Phylogenies. *Molecular Biology and Evolution* **16**: 37-48. DOI: <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a026036>
- Bleiwiss R. 1998. Origin of hummingbird faunas. *Biological Journal of the Linnean Society* **65**: 77-97. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1095-8312.1998.tb00352.x>
- Boratyn GM, Camacho C, Cooper PS, Coulouris G, Fong A, Ma N, Madden TL, Matten WT, McGinnis SD, Merezhuik Y, Raytselis Y, Sayers EW, Tao T, Ye J, Zaretskaya I. 2013. BLAST: a more efficient report with usability improvements. *Nucleic Acids Research* **41**: W29-W33. DOI: <https://doi.org/10.1093/nar/gkt282>
- Burbrink FT, Myers EA, Pyron RA. 2024. Understanding species limits through the formation of phylogeographic lineages. *Ecology and Evolution* **14**: e70263. DOI: <https://doi.org/10.1002/ece3.70263>
- Cain AJ. 1954. *Animal species and their evolution*. New York: Princeton University Press. ISBN: 0-691-02098-1.
- Castro-Castro A, Flores-Argüelles A, Hernández-López L, Rodríguez A. 2016. *Polianthes quila* (Poliantheae, Agavaceae), a new and endemic species to western Mexico. *Systematic Botany* **41**: 720-726. DOI: <https://doi.org/10.1600/036364416X692316>
- Castro-Castro A, González-Gallegos JG, Rodríguez A. 2015. A new species of *Polianthes* subgenus *Bravo* (Asparagaceae, Agavoideae) from Jalisco, Mexico. *Phytotaxa* **201**: 140-148. DOI: <http://dx.doi.org/10.11646/phytotaxa.201.2.4>

- Cerca J. 2023. Understanding natural selection and similarity: convergent, parallel and repeated evolution. *Molecular Ecology* **32**: 5451-5462. DOI: <https://doi.org/10.1111/mec.17132>
- Chen S, Kim DK, Chase MW, Kim JH. 2013. Networks in a large-scale phylogenetic analysis: reconstruction evolutionary history of Asparagales (Liliane) based on four plastid genes. *Plos One* **8**: e59472. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0059472>
- Chiarini FE, Scaldaferrero MA, Bernardello G, Acosta MC. 2018. Cryptic genetic diversity in *Solanum elaeagnifolium* (Solanaceae) from South America. *Australian Journal of Botany* **66**: 531-540. DOI: <https://doi.org/10.1071/BT17245>
- Cortés-Flores J, Andresen E, Cornejo-Tenorio G, Ibarra-Manríquez G. 2013. Fruiting phenology of seed dispersal syndromes in a Mexican Neotropical temperate forest. *Forest Ecology and Management* **289**: 445-454. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2012.10.038>
- Cronk Q, Ojeda I. 2008. Bird-pollinated flower in an evolutionary and molecular context. *Journal of Experimental Botany* **59**: 715-727. DOI: <https://doi.org/10.1093/jxb/ern009>
- Darriba D, Taboada GL, Doallo R, Posada D. 2012. JModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nature Methods* **9**: 772. DOI: <https://doi.org/10.1038/nmeth.2109>
- Dellinger AS. 2020. Pollination syndromes in the 21st century: where do we stand and where may we go? *New Phytologist* **228**: 1193-1213. DOI: <https://doi.org/10.1111/nph.16793>
- De Queiroz K. 1999. The General Lineage Concept of Species and the Defining Proprieties of the Species Category. In: Wilson RA, ed. *Species: New Interdisciplinary Essays*. Massachusetts: The MIT Press, pp: 49-89. ISBN: 9780262286350
- Doyle JJ, Doyle LJ. 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin* **19**: 11-15.
- Drummond AJ, Rambaut A, Shapiro B, Pybus OG. 2005. Bayesian coalescent inference of past population dynamics from molecular sequences. *Molecular Biology and Evolution* **22**: 1185-1192. DOI: <https://doi.org/10.1093/molbev/msi103>
- Dufresnes C, Berroneau M, Dubey S, Litvinchuk SN, Perrin N. 2020. The effect of phylogeographic history on species boundaries: a comparative framework in *Hyla* tree frogs. *Scientific Reports* **10**: 5502. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-62382-4>
- Dufresnes C, Poyarkov N, Jablonski D. 2023. Acknowledging more biodiversity without more species. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **120**: e2302424120. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.2302424120>
- Dunpaloup I, Schneider S, Excoffier L. 2002. A simulated annealing approach to define the genetic structure of populations. *Molecular Ecology* **11**: 2571-2581. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1365-294X.2002.01650.x>
- Edgar RC. 2004. MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. *Nucleic Acids Research* **32**: 1792-1797. DOI: <https://doi.org/10.1093/nar/gkh340>
- Eguiarte LE, Jiménez-Barrón OA, Aguirre-Planter E, Scheinvar E, Gámez N, Gasca-Pineda J, Castellanos-Morales G, Moreno-Letelier A, Souza V. 2021. Evolutionary ecology of *Agave*: distribution patterns, phylogeny, and coevolution (an homage to Howard S. Gentry). *American Journal of Botany* **108**: 1-20. DOI: <https://doi.org/10.1002/ajb2.1609>
- Excoffier L, Lischer HEL. 2010. Arlequin suite v 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources* **10**: 564-567. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2010.02847.x>
- Ferrari L, Orozco-Esquivel T, Manea V, Manea M. 2012. The dynamic history of the Trans-Mexican Volcanic Belt and the Mexico subduction zone. *Tectonophysics* **522-523**: 122-149. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tecto.2011.09.018>
- Freeland JR. 2005. Genetic Analysis of Multiple Populations. In: *Molecular Ecology*. West Sussex: John Wiley & Sons, Ltd, pp: 109-154. ISBN: 0-470-09061-8
- Funk VA, Gostel M, Devine A, Kelloff CL, Wurdack K, Tuccinardi C, Radosavljevic A, Peters M, Coddington J. 2017. Guidelines for collection vouchers and tissues intended for genomic work (Smithsonian Institution): Botany Best Practices. *Biodiversity Data Journal* **5**: e11625. DOI: <https://doi.org/10.3897/BDJ.5.e11625>

- Fu YX. 1997. Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection. *Genetics* **147**: 915-925. DOI: <https://doi.org/10.1093/genetics/147.2.915>
- García-Mendoza A, Solano E. 2007. *Polianthes oaxacana* y *P. geminiflora* var. *pueblensis* (Agavaceae), taxa nuevos de México. *Acta Botanica Mexicana* **78**: 111-123. DOI: <https://doi.org/10.21829/abm78.2007.1034>
- Garrick RC, Banusiewicz JD, Burgess S, Hyseni C, Symula RE. 2019. Extending phylogeography to account for lineage fusion. *Journal of Biogeography* **46**: 268-278. DOI: <https://doi.org/10.1111/jbi.13503>
- Givnish TJ. 2010. Ecology of plant speciation. *Taxon* **59**: 1326-1366. DOI: <https://doi.org/10.1002/tax.595003>
- Godbout J, Beaulieu J, Bousquet J. 2010. Phylogeographic structure of Jack Pine (*Pinus banksiana*; Pinaceae) supports the existence of a coastal glacial refugium in northeastern North America. *American Journal of Botany* **97**: 1903-1912. DOI: <https://doi.org/10.3732/ajb.1000148>
- Goldblatt P, Rodríguez A, Powell MP, Davies TJ, Manning JC, van der Bank M, V. Savolainen V. 2008. Iridaceae 'out of Australasia'? Phylogeny, biogeography, and divergence time based on plastid DNA sequences. *Systematic Botany* **33**: 495-508. DOI: <https://doi.org/10.1600/036364408785679806>
- Gómez-Tuena A, Orozco-Esquivel TM, Ferrari L. 2005. Petrogénesis ígnea de la Faja Volcánica Transmexicana. *Boletín de la Sociedad Geológica Mexicana* **57**: 227-283. DOI: <https://doi.org/10.18268/bsgm2005v57n3a2>
- Hernández-Maldonado G. 2019. *Caracterización morfológica, citogenética y molecular de híbridos intergenéricos e interespecíficos de Polianthes spp.* MSc Thesis. Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco.
- Howard TM. 1986. Stalking the *Polianthes* of Mexico -Part two, 1985. *Herbertia* **42**: 84-86.
- Jiménez-Barron O, García-Sandoval R, Magallón S, García-Mendoza A, Nieto-Sotelo J, Aguirre-Planter E, Eguiarte LE. 2020. Phylogeny, diversification rate, and divergence time of *Agave sensu lato* (Asparagaceae), a group of recent origin in the process of diversification. *Frontiers in Plant Science* **11**: 536135. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.536135>
- Kahl SM, Kappel C, Joshi J, Lenhard M. 2021. Phylogeography of a widely distributed plant species reveals cryptic genetic lineages with parallel phenotypic responses to warming and drought conditions. *Ecology and Evolution* **11**: 13986-14002. DOI: <https://doi.org/10.1002/ece3.8103>
- Lanteri AA, Confalonieri VA. 2003. Filogeografía: objetivos, métodos y ejemplos. In: Morrone JJ, Lorente-Bousquets J, eds. *Una Perspectiva Latinoamericana de la Biogeografía*. México: Las Prensas de Ciencias, pp. 185-194. ISBN: 970-32-0498-8
- Lázaro de Arregui D. 1946. *Descripción de la Nueva Galicia*. Sevilla: Escuela de estudios hispano-americanos.
- Lexarza JJM. 1824. Bravao. In: La Llave P, Lexarza JJM, eds. *Novorum Vegetabilium Descriptiones. Fasciculus I*. México: Apud Martinum Riveram, pp. 6.
- López-Pérez JD, Rodríguez A, Ruiz-Sanchez E, Zamora-Tavares P, Munguía-Lino G. 2022. Filogeografía de *Tigridia durangensis* (Tigridieae: Iridaceae), una especie endémica de la Zona de Transición Mexicana. *Botanical Sciences* **100**: 1040-1057. DOI: <https://doi.org/10.17129/botsci.3003>
- Loveless MD, Hamrick JL. 1984. Ecological determinants of genetic structure in plant populations. *Annual Review of Ecology and Systematics* **15**: 65-95.
- Lunt DJ, Abe-Ouchi A, Bakker P, Berger A, Braconnot P, Charbit S, Fischer N, Herold N, Jungclaus JH, Khon VC, Krebs-Kanzow U, Langebroek PM, Lohmann G, Nisancioglu KH, Otto-Bliesner BL, Park W, Pfeiffer M, Phipps SJ, Prange M, Rachmayani R, Renssen H, Rosenbloom N, Schneider B, Stone EJ, Takahashi K, Wei W, Yin Q, Zhang ZS. 2013. A multi-model assessment of last interglacial temperatures. *Climate of the Past* **9**: 699-717. DOI: <https://doi.org/10.5194/cp-9-699-2013>
- Lüthi D, Floch ML, Bereiter B, Blunier T, Barnola JM, Siegenthaler U, Raynaud D, Jouzel J, Fischer H, Kawamura K, Stocker TF. 2008. High-resolution carbon dioxide concentration record 650,000-800,000 years before present. *Nature* **453**: 379-382. DOI: <https://doi.org/10.1038/nature06949>
- MacNeill BN, Ortiz-Brunel JP, Rodríguez A, Ruiz-Sanchez E, Navarro-Moreno J, Hofford NP, McKain MR. 2023. Floral diversity and pollination syndromes in *Agave* subgenus *Manfreda*. *Integrative and Comparative Biology* **63**: 1376-1390. DOI: <https://doi.org/10.1093/icb/icad118>

- Martínez-Poiré AS. 2024. Filogeografía de *Mimophytum cardiophyllum* (Omphalodeae, Boraginaceae). MSc Thesis. Universidad de Guadalajara.
- Mayr E. 1969. The biological meaning of species. *Biological Journal of the Linnean Society* **1**: 311-320. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1095-8312.1969.tb00123.x>
- McGuire JA, Witt CC, Remsen Jr JV, Corl A, Rabosky DL, Altshuler DL, Dudley R. 2014. Molecular phylogenetics and the diversification of hummingbirds. *Current Biology* **24**: 910-916. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cub.2014.03.016>
- McVaugh R. 1989. Liliaceae. In: *Flora novo-galiciana: a descriptive account of the vascular plants of Mexico Vol. 15 Bromeliaceae to Dioscoriaceae*. United States of America: The University of Michigan Herbarium Press, pp: 120-296. ISBN: 0-472-04814-7
- Miller MA, Schwartz T, Pickett BE, HE S, Klem EB, Sheuermann RH, Passarotti M, Kaufman S, O'Leary MA. 2015. A RESTful API for Access to Phylogenetic Tools via the CIPRES Science Gateway. *Evolutionary Bioinformatics* **11**: 43-48. DOI: <https://doi.org/10.4137/EBO.S21501>
- Morrone JJ. 2019. Regionalización biogeográfica y evolución biótica de México: encrucijada de la biodiversidad del Nuevo Mundo. *Revista Mexicana de Biodiversidad* **90**: e902980. DOI: <https://doi.org/10.22201/ib.20078706e.2019.90.2980>
- Morrone JJ, Escalante T, Rodríguez-Tapia G. 2017. Mexican biogeographic provinces: map and shapefiles. *Zootaxa* **4277**: 277-279. DOI: <https://doi.org/10.11646/zootaxa.4277.2.8>
- Muchhala N, Johnsen S, Smith SD. 2014. Competition for hummingbird pollination shapes flower color variation in Andean Solanaceae. *Evolution* **68**: 2275-2286. DOI: <https://doi.org/10.1111/evo.12441>
- Ornelas JF, González de León S, González C, Licona-Vera Y, Ortiz-Rodríguez AE, Rodríguez-Gómez F. 2015. Comparative paleodistribution of eight hummingbird species reveal a link between genetic diversity and Quaternary habitat and climate stability in Mexico. *Folia Zoologica* **64**: 245-258. DOI: <https://doi.org/10.25225/fozo.v64.i3.a6.2015>
- Peralta G, CaraDonna PJ, Rakosy D, Fründ J, Pascual-Tudanca MP, Dormann CF, Burkle LA, Kaiser-Bunbury CN, Knight TM, Resasco J, Winfree R, Blüthden N, Castillo WJ, Vázquez DP. 2024. Predicting plant-pollinator interactions: concepts, methods, and challenges. *Trends in Ecology & Evolution* **39**: 494-505. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tree.2023.12.005>
- Pérez-Álvarez LF. 2016. *Variación morfológica de cinco especies de Polianthes subgénero Bravoa (Agavaceae)*. BSc Thesis. Universidad de Guadalajara.
- Pons O, Petit RJ. 1996. Measuring and testing genetic differentiation with ordered versus unordered alleles. *Genetics* **144**: 1237-1245. DOI: <https://doi.org/10.1093/genetics/144.3.1237>
- Rambaut A, Drummond AJ, Xie D, Baele G, Suchard A. 2018. Posterior summarization in Bayesian phylogenetics using Tracer 1.7. *Systematic Biology* **67**: 901-904. DOI: <https://doi.org/10.1093/sysbio/syy032>
- Rivera-Martínez R, Ramírez-Morillo IM, De-Nova JA, Carnevali G, Pinzón JP, Romero-Soler KJ, Raigoza N. 2022. Spatial phylogenetics in Hechtioideae (Bromeliaceae) reveals recent diversification and dispersal. *Botanical Sciences* **100**: 692-709. DOI: <https://doi.org/10.17129/botsci.2975>
- Rocha M, Good-Ávila SV, Molina-Freaner F, Arita HT, Castillo A, García-Mendoza A, Silva-Montellano A, Gaut BS, Souza V, Eguiarte LE. 2006. Pollination biology and adaptive radiation of Agavaceae, with special emphasis on the genus *Agave*. *Aliso* **22**: 329-344.
- Romero-Soler KJ, Ramírez-Morillo IM, Ruiz-Sanchez E, Hornung-Leoni CT, Carnevali G. 2022. Historical biogeography and comparative phylogeography of the Mexican genus *Bakerantha* (Bromeliaceae): insight into evolution and diversification. *Botanical Journal of the Linnean Society* **199**: 109-127. DOI: <https://doi.org/10.1093/botlinnean/boab084>
- Rose JN. 1903. Revision of *Polianthes* with new species. *Contributions from the United States National Herbarium* **8**: 8-13.
- Rozas J, Ferrer-Mata A, Sánchez-Del Barrio JC, Guirao-Rico S, Librado P, Ramos-Onsins SE, Sánchez-Gracia A. 2017. DnaSP 6: DNA sequence polymorphism analysis of large data sets. *Molecular Biology and Evolution* **34**: 3299-3302. DOI: <https://doi.org/10.1093/molbev/msx248>

- Ruiz-Sanchez E, Specht CD. 2013. Influence of the geological history of the Trans-Mexican Volcanic Belt on the diversification of *Nolina parviflora* (Asparagaceae: Nolinoideae). *Journal of Biogeography* **40**: 1336-1347. DOI: <https://doi.org/10.1111/jbi.12073>
- Schaal BA, Hayworth DA, Olsen KM, Rauscher JT, Smith WA. 1998. Phylogeographic studies in plants: problems and prospects. *Molecular Ecology* **7**: 465-474. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1365-294x.1998.00318.x>
- Scaldfarfero MA, Sérsic A, Romanutti AA, Acosta MC. 2023. Mountains as refugia in the Dry Chaco: phylogeography and species distribution modelling of the southernmost chilli pepper, *Capsicum chacoense* Hunz. (Solanaceae). *Biological Journal of the Linnean Society* **140**: 130-148. DOI: <https://doi.org/10.1093/biolinnean/blad045>
- Scheinvar E, Gámez N, Castellanos-Morales G, Aguirre-Planter E, Eguiarte LE. 2016. Neogene and Pleistocene history of *Agave lechuguilla* in the Chihuahuan Desert. *Journal of Biogeography* **44**: 322-334. DOI: <https://doi.org/10.1111/jbi.12851>
- Shaw J, Lickey EB, Schilling EE, Small RL. 2007. Comparison of whole chloroplast genome sequences to choose noncoding regions for phylogenetic studies in angiosperms: the tortoise and the hare III. *American Journal of Botany* **94**: 275-288. DOI: <https://doi.org/10.3732/ajb.94.3.275>
- Shaw J, Shafer HL, Leonard OR, Kovach MJ, Schorr M, Morris AB. 2014. Chloroplast DNA sequence utility for the lowest phylogenetic and phylogeographic inferences in angiosperms: the tortoise and the hare IV. *American Journal of Botany* **101**: 1987-2004. DOI: <https://doi.org/10.3732/ajb.1400398>
- Simmons MP, Ochoterena H. 2000. Gaps as characters in sequence-based phylogenetic analyses. *Systematic Biology* **49**: 369-381. DOI: <https://doi.org/10.1093/sysbio/49.2.369>
- Solano E. 2000. *Sistemática del género Polianthes L. (Agavaceae)*. PhD Thesis. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Solano E, Dávila PD. 2003. *Polianthes multicolor* (Agavaceae), especie nueva de Guanajuato, México. *Novon* **13**: 119-122. DOI: <https://doi.org/10.2307/3393576>
- Solano E, Ríos-Gómez R. 2011. *Polianthes zapopanensis* (Agavaceae), una especie nueva de Jalisco, México. *Brittonia* **63**: 70-74. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12228-010-9132-6>
- Solano E, García-Mendoza A. 2013. Neotypification and recognition of *Polianthes geminiflora* (Lex.) Rose (Agavaceae). *Acta Botanica Mexicana* **104**: 1-18. DOI: <https://doi.org/10.21829/abm104.2013.54>
- Solano E, García-Mendoza A, Ríos-Gómez R. 2019. *Polianthes venustuliflora* (Asparagaceae, Agavoideae), una especie nueva endémica de Michoacán, México. *Acta Botanica Mexicana* **126**: e1441. DOI: <https://doi.org/10.21829/abm126.2019.1441>
- Sosa V, Ruiz-Sanchez E, Rodriguez-Gomez FC. 2009. Hidden phylogeographic complexity in the Sierra Madre Oriental: the case of the Mexican tulip poppy *Hunnemannia fumariifolia* (Papaveraceae). *Journal of Biogeography* **36**: 18-27. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2699.2008.01957.x>
- Suchard MA, Rambaut A. 2009. Many-core algorithms for statistical phylogenetics. *Bioinformatics* **25**: 1370-1376. DOI: <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btp244>
- Tajima F. 1989. Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics* **123**: 585-595. DOI: <https://doi.org/10.1093/genetics/123.3.585>
- Thiede J, Smith GF, Eggli U. 2019. Infrageneric classification of *Agave* L. (Asparagaceae: Agavoideae / Agavaceae): a nomenclatural assessment and updated classification at the rank of section, with new combinations. *Bradleya* **37**: 240-264. DOI: <https://doi.org/10.25223/b-rad.n37.2019.a22>
- Vázquez-García JA, Rosales-Martínez CS, Padilla-Lepe J, Hernandez-Vera G, García-Morales LJ. 2024. New genera and new combinations in Agavaceae (Asparagales). *Phytoneuron* **2**: 1-14.
- Verhoek-Williams SE. 1975. A study of the tribe Poliantheae (including *Manfreda*) and revision of *Manfreda* and *Prochnyanthes* (Agavaceae). PhD Thesis. Cornell University.
- Wessinger CA. 2024. How the switch to hummingbird pollination has greatly contributed to our understanding of evolutionary processes. *New Phytologist* **241**: 59-64. DOI: <https://doi.org/10.1111/nph.19335>

- Whitlock MC. 2000. Fixation of new alleles and the extinction of small populations: drift load, beneficial alleles, and sexual selection. *Evolution* **54**: 1855-1861. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.0014-3820.2000.tb01232.x>
- Wolfe KH, Li WH, Sharp PM. 1987. Rates of nucleotide substitution vary greatly among plant mitochondrial, chloroplast, and nuclear DNAs. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **84**: 9054-9058. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.84.24.9054>
- Zhang HX, Zhang ML. 2012. Identifying a contact zone between two phylogeographic lineages of *Clematis sibirica* (Ranunculaceae) in the Tianshan and Altai Mountains. *Journal of Systematics and Evolution* **50**: 295-304. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1759-6831.2012.00198.x>

Entidades Financiadoras: Laboratorio Nacional de Identificación y Caracterización Vegetal (LaniVeg), Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI).

Editor de sección: Maria Silvia Ferrucci

Contribución de autores: PDRS y AR diseñaron el proyecto y realizaron trabajo de campo; PDRS ejecutó el trabajo de laboratorio y análisis de datos; JDLP realizó trabajo de campo. Todos redactaron y revisaron el escrito. Los autores declaran que no existe conflicto de intereses, financieros o personales en la información presentada en los resultados de este artículo.