



UNIVERSIDAD DE SONORA

**DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD
DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS Y
TECNOLÓGICAS**

POSGRADO EN BIOCENCIAS

**CARACTERIZACIÓN CITOGENÉTICA Y
ANÁLISIS DE CODIGO DE BARRAS DE ADN
DE *Gossypium turneri* (Fryxell, 1978).**

TESIS

que para obtener el grado de:

MAESTRA EN BIOCENCIAS

presenta:

KARLA FABIOLA YESCAS ROMO

Hermosillo, Sonora, México

08 de julio de 2020

Universidad de Sonora

Repositorio Institucional UNISON



**"El saber de mis hijos
hará mi grandeza"**



Excepto si se señala otra cosa, la licencia del ítem se describe como openAccess

Hermosillo, Sonora a 30 de junio del 2020.

Asunto: Cesión de derechos

**UNIVERSIDAD DE SONORA
P R E S E N T E.**

Por este conducto hago constar que soy autor y titular de la obra denominada Caracterización citogenética y análisis de código de barras de ADN de *Gossypium turneri* (Fryxell, 1978), en los sucesivo LA OBRA, realizada como trabajo terminal con el propósito de obtener el Grado de Maestría en Biociencias, en virtud de lo cual autorizo a la Universidad de Sonora (UNISON) para que efectúe la divulgación, publicación, comunicación pública, distribución, distribución pública, distribución electrónica y reproducción, así como la digitalización de la misma, con fines académicos o propios de la institución y se integren a los repositorios de la universidad, estatales, regionales, nacionales e internacionales.

La UNISON se compromete a respetar en todo momento mi autoría y a otorgarme el crédito correspondiente en todas las actividades mencionadas anteriormente.

De la misma manera, manifiesto que el contenido académico, literario, la edición y en general cualquier parte de LA OBRA son de mi entera responsabilidad, por lo que deslindo a la UNISON por cualquier violación a los derechos de autor y/o propiedad intelectual y/o cualquier responsabilidad relacionada con la OBRA que cometa el suscrito frente a terceros.

ATENTAMENTE



Karla Fabiola Yescas Romo

Hermosillo, Sonora, México

Junio, 2020.



CARACTERIZACIÓN CITOGÉNÉTICA Y ANÁLISIS DE CODIGO DE BARRAS DE
ADN DE *Gossypium turneri* (Fryxell, 1978)

T E S I S

que para obtener el grado de:
MAESTRA EN BIOCENCIAS

presenta:

KARLA FABIOLA YESCAS ROMO

Hermosillo, Sonora, México.

08 de julio del 2020

APROBACIÓN

Los miembros del Comité designado para revisar la tesis intitulada Caracterización citogenética y análisis de código de barras de ADN de *Gossypium turneri* (Fryxell, 1978) presentada por la Biol. Karla Fabiola Yescas Romo, la han encontrado satisfactoria y recomiendan que sea aceptada como requisito parcial para obtener el grado de Maestría en Biociencias.



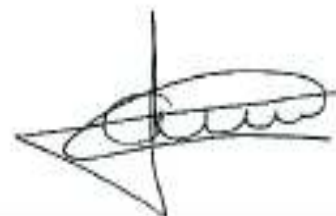
Dra. Ángela Corina Hayano Kanashiro
Director y Presidente



Dr. Octavio Martínez De La Vega
Co-director



Dr. Luis Ángel Medina Juárez
Sinodal interno y Secretario



Dr. Alejandro Varela Romero
Sinodal interno



Dr. Francisco Elizandro Molina Freaner
Sinodal externo



Dra. June Kilpatrick Simpson Williamson
Sinodal externo

DEDICATORIA

A mis padres, por estar siempre a mi lado brindándome su apoyo incondicional. Por todo el cariño y confianza que me brindan a cada momento. Muchos de mis logros se los debo a ustedes y no me alcanzan las palabras para agradecerles todo lo que han hecho por mí.

A mis hermanas, por brindarme todo su apoyo y cariño en las buenas y en las malas. Por tenerme paciencia y escucharme cuando más lo necesitaba. A toda mi familia, muchas gracias por todo.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad de Sonora, al Posgrado en Biociencias del Departamento de Investigaciones Científicas y Tecnológicas y al Concejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por darme la oportunidad de aprender y desarrollarme en mi área de interés dentro de la investigación científica, así como el apoyo y facilidades brindadas para el desarrollo y termino de este proyecto de tesis.

Un enorme agradecimiento a la Dra. Ángela Corina Hayano Kanashiro por estar presente en cada momento durante el desarrollo de este proyecto de tesis brindándome todo su apoyo, enseñanzas y consejos para mejorar tanto personal como profesionalmente. Gracias no darse por vencida conmigo y tener la confianza en que podía terminar este proyecto a pesar de todas las dificultades en el camino. Por toda su dedicación en este tiempo y por su paciencia. ¡Muchas gracias por todo!

Un gran agradecimiento a mi comité de tesis integrado por el Dr. Octavio Martínez De La Vega, la Dra. June Kilpatrick Simpson Williamson, el Dr. Francisco Molina Frenner, el Dr. Alejandro Varela Romero y el Dr. Luis Ángel Medina Juárez por todo su apoyo, por sus enseñanzas y consejos en todo momento. Muchas gracias por su disposición para ayudar en la realización de este trabajo y por sus recomendaciones para mejorarlo.

Gracias al Biól. Fernando Hernández del Laboratorio Nacional de Genómica para la Biodiversidad (LANGEBIO)-Cinvestav (Unidad Irapuato) y a la M.C. Katia del Carmen Gil Vega de Cinvestav-Unidad Irapuato por toda su ayuda, por brindarme su amistad, por sus consejos y estar al pendiente en todo momento.

Al Dr. José Raúl Romo y al Dr. Luis Fernando García por brindarme todo su apoyo, asesorías y consejos en el desarrollo de este proyecto. Por su paciencia y mejor disposición para resolver dudas por mínimas que sean, mil gracias.

Gracias a Abelardo Martínez por toda su ayuda en cada salida de campo a pesar de las dificultades para llegar a los sitios de colecta y estar al pendiente en todo momento ¡Muchas gracias!

Le agradezco al Dr. M. Humberto Reyes Valdez y a la Dra. Francisca Ramírez Godina del Departamento de Fitomejoramiento de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN) por todo su apoyo, sus enseñanzas y una grata experiencia en la UAAAN ¡Muchas gracias!

A la A.C. Mariela Villela Órejon, A.M. Leticia De León, Dra. Areli González Cortés y a la Dra. Adriana Antonio Bautista por todo su apoyo en el trabajo de laboratorio y por sus enseñanzas. Gracias por brindarme su amistad, consejos y ánimos en los momentos difíciles.

Gracias a Ana Gómez por brindarme su amistad, por apoyarme y estar al pendiente en todo instante. Muchas gracias amiga por todos los buenos momentos compartidos.

A Karen Jiménez y José Silvas por brindarme todo su apoyo y amistad en todo momento. Por darme ánimos cuando lo necesitaba, por sus consejos y acompañarme en las buenas y en las malas. Gracias por estar conmigo.

A mis queridos amigos y compañeros Pablo Lovio, Fernando Razo, Marielena Clark, Yeimi Vega, Damaristelma De Jesús y Genesis Valenzuela por brindarme su entera amistad y apoyo incondicional en los buenos y malos momentos en el proceso de este trabajo. Mil gracias por estar siempre conmigo no solo en el ámbito de trabajo, por compartir risas, frustraciones, enojos, por animarme cada vez que lo necesitaba y por sus consejos ¡Muchas gracias por todo!

RESUMEN

El algodón (género *Gossypium*) es uno de los recursos agrícolas económicamente más importantes en todo el mundo. Las especies silvestres de algodón son consideradas una importante reserva de rasgos genéticos transferibles para el mejoramiento del algodón cultivado. A pesar de su importancia, algunas especies de algodón silvestre han sido poco estudiadas como es *G. turneri*, un algodón que posee características valiosas no disponibles en el acervo genético del algodón cultivado. Este algodón silvestre ha sido recientemente identificado como una especie en peligro de extinción en México, por lo que se trata de un recurso único y una especie valiosa para el país. Por lo cual, el objetivo del presente estudio fue evaluar el cariotipo y analizar el código de barras de ADN de *G. turneri*. El tamaño de las semillas de *G. turneri* observado fue mayor que el descrito previamente para esta especie. El análisis citogenético reveló un total de 26 cromosomas ($2n=2x=26$) en células mitóticas de *G. turneri*. Los cromosomas analizados fueron principalmente cromosomas metacéntricos, submetacéntricos y subtelocéntricos. Los resultados del análisis de código de barras de ADN mostraron que el gen *rbcL* tiene la capacidad de discriminar a la especie *G. turneri* de los grupos externos (*G. hirsutum*, *G. arboreum* y *Durio zibethinus*). En cambio, el gen *ycfl* no logró diferenciar a *G. turneri* por lo que posiblemente no sería un buen marcador para código de barras de ADN en esta especie de algodón silvestre. Dado al estatus de conservación de la especie, se realizó el modelo de distribución potencial en el litoral del estado de Sonora. Los resultados muestran áreas idóneas donde pudiera distribuirse la especie *G. turneri* al sur del litoral del estado de Sonora. Los resultados obtenidos en el presente trabajo son de gran importancia para la biología y conservación de *G. turneri*.

ABSTRACT

Cotton (*Gossypium* genus) is one of the most economically important agricultural resources in the world. Wild cotton species are considered an important reserve of transferable genetic traits for the improvement of cultivated cotton. Despite its importance, some wild cotton species have been poorly studied, such as *G. turneri*, a cotton that has valuable traits not available in the cultivated cotton gene pool. This wild cotton was recently identified as an endangered species in Mexico, so it is a unique resource and a valuable species for the country. Therefore, the objective of the present study was to evaluate the karyotype and analyze DNA barcode of *G. turneri*. The size of the *G. turneri* seeds observed was greater than that previously described for this species. Cytogenetic analysis revealed 26 chromosomes ($2n=2x=26$) in mitotic cells of *G. turneri*. The karyotype analysis showed mainly metacentric, submetacentric and subtelocentric chromosomes. The results of the DNA barcode analysis showed that the *rbcL* gene can discriminate *G. turneri* species from external groups (*G. hirsutum*, *G. arboreum* and *Durio zibethinus*). In contrast, the *ycf1* gene failed to differentiate *G. turneri* so it suggests that possibly is not a good marker for DNA barcoding in this wild cotton species. Given the conservation status of the species, a potential distribution model was carried out for the coastline of the state of Sonora. The results showed ideal areas where the *G. turneri* species could be distributed along the southern coastline of the state of Sonora. The results obtained in the present work are of great importance for the biology and conservation of *G. turneri*.

ÍNDICE GENERAL

	Página
APROBACIÓN	<i>i</i>
DEDICATORIA	<i>ii</i>
AGRADECIMIENTOS	<i>iii</i>
RESUMEN	<i>v</i>
ABSTRACT	<i>vi</i>
INDICE DE FIGURAS	<i>x</i>
INDICE DE TABLAS	<i>xii</i>
INTRODUCCIÓN	1
I. ANTECEDENTES	3
I.1 Género <i>Gossypium</i>	3
I.1.1 Clasificación sistemática del género	3
I.1.2 Especies de <i>Gossypium</i>	3
I.1.3 Características generales de <i>Gossypium</i>	5
I.2 Importancia y usos del algodón	6
I.3 Especies domesticadas de <i>Gossypium</i>	7
I.3.1 Producción y consumo de algodón en el mundo	8
I.4 Consecuencias de la domesticación en <i>Gossypium</i>	9
I.5 Importancia de las especies silvestres de <i>Gossypium</i>	10
I.6 Especies de <i>Gossypium</i> en México	11
I.6.1 Especies de <i>Gossypium</i> en el noroeste de México	12
I.6.2 Especies de <i>Gossypium</i> en el estado de Sonora	12
I.7 <i>Gossypium turneri</i>	12
I.7.1 Estatus de conservación de <i>G. turneri</i>	13
I.7.1.1 Estatus en la Norma Oficial Mexicana NOM-059- SEMARNAT-2010	13
I.7.1.2 Estatus en la Lista Roja de Especies Amenazadas de la UICN (Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza)	14
I.8 Morfología de semillas y estudios realizados en <i>Gossypium</i>	14
I.9 Citogenética y estudios citogenéticos en <i>Gossypium</i>	15
I.10 Código de barras de ADN y estudios realizados en <i>Gossypium</i>	17
I.11 Modelos de distribución potencial de especies	20
I.11.1 Sistema de información geográfica (SIG)	20
I.11.2 Distribución potencial de especies	21
I.11.3 Estudios de distribución potencial de <i>Gossypium</i>	22
II. HIPÓTESIS	24
III. OBJETIVOS	25
III.1 Objetivo general	25
III.2 Objetivos específicos	25
IV. MATERIALES Y MÉTODOS	26
IV.1 Sitio de colecta y material biológico	26
IV.1.1 Colecta de hojas de <i>G. davidsonii</i> y <i>G. turneri</i>	26
IV.1.2 Colecta de botones florales y semillas de <i>G. turneri</i>	27

IV.2 Técnicas moleculares para análisis de microsátélites en <i>G. davidsonii</i> y <i>G. turneri</i> : extracción de ADN, cuantificación de ADN, integridad de ADN y Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR)	27
IV.2.1 Extracción de ADN de tejido vegetal	27
IV.2.1.1 Protocolo de extracción de ADN vegetal de <i>G. davidsonii</i> con DNeasy Plant Mini Kit (QIAGEN™) usando proteinasa K	27
IV.2.1.2 Protocolo de extracción de ADN vegetal de <i>G. turneri</i> con DNeasy Plant Mini Kit (QIAGEN™) usando proteinasa K	29
IV.2.2 Cuantificación del ADN	31
IV.2.3 Integridad del ADN	31
IV.2.4 Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR)	32
IV.2.4.1 Estandarización de microsátélites	32
IV.2.4.1 Condiciones de PCR para los microsátélites utilizando ADN de <i>G. davidsonii</i>	33
IV.2.4.2 Condiciones de PCR para los microsátélites utilizando ADN de <i>G. turneri</i>	34
IV.3 Morfología de semillas de <i>G. turneri</i>	34
IV.3.1 Características externas de las semillas	34
IV.3.2 Características internas de las semillas	35
IV.4 Análisis del cariotipo (número y morfología de cromosomas) de <i>G. turneri</i>	35
IV.4.1 Germinación de semillas y tratamiento de raíces para la observación de los cromosomas mitóticos	35
IV.4.1.1 Germinación de semillas	35
IV.4.2 Aislamiento y observación de cromosomas en raíces (Jewell y Islam-Faridi, 1994)	36
IV.4.3 Análisis de cromosomas mitóticos	37
IV.5 Código de barras de ADN de <i>G. turneri</i>	38
IV.5.1 Análisis de las secuencias de código de barras de ADN	38
IV.5.1.1 Edición, alineamiento de secuencias (forward y reverse) y orientación de las secuencias	38
IV.5.1.2 Alineamiento múltiple de secuencias de <i>G. turneri</i> con grupos externos y concatenado de genes	39
IV.5.1.3 Análisis de distancias genéticas, sitios polimórficos y construcción de árboles de distancias genéticas	39
IV.6 Modelo de distribución potencial de <i>G. turneri</i>	40
IV.6.1 Área de estudio	40
IV.6.2 Datos de ocurrencia	41
IV.6.3 Modelo de elevación potencial y variables climáticas	41
IV.6.4 Modelo de distribución potencial	42
V. RESULTADOS	43
V.1 Sitio de colecta y material biológico	43
V.1.1 Colecta de hojas de <i>G. davidsonii</i> y <i>G. turneri</i>	43
V.1.2 Colecta de botones florales y semillas de <i>G. turneri</i>	45
V.2 Técnicas moleculares para análisis de microsátélites: extracción de ADN, cuantificación de ADN, integridad de ADN y Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR)	46

V.2.1 Extracción de ADN	46
V.2.2 Cuantificación de ADN	47
V.2.3 Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR)	48
V.2.3.1 Estandarización de microsatélites	48
V.2.3.2 Condiciones de PCR	48
V.3 Morfología de semillas de <i>G. turneri</i>	49
V.3.1 Características externas de las semillas	49
V.3.2 Características internas de las semillas	52
V.4 Cariotipo (número y morfología de cromosomas) de <i>G. turneri</i>	54
V.5 Código de barras de ADN de <i>G. turneri</i>	55
V.5.1 Análisis de secuencias de código de barras de ADN	56
V.5.2 Distancias genéticas y sitios polimórficos	57
V.5.3 Árboles de distancias genéticas	61
V.6 Modelo de distribución potencial de <i>G. turneri</i>	68
V.6.1 Descripción de tipo de clima y suelo de la distribución geográfica actual de <i>G. turneri</i>	68
V.6.2 Distribución potencial de <i>G. turneri</i>	68
V.6.3 Distribución potencial con datos de clima y suelo de la distribución geográfica actual de <i>G. turneri</i>	71
VI. DISCUSIÓN	77
VII. CONCLUSIONES	87
VIII. RECOMENDACIONES	89
IX. LITERATURA CITADA	90
X. APÉNDICES	98

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA		PÁGINA
1	<i>Gossypium turneri</i> : A) flor de <i>G. turneri</i> , B) hoja de <i>G. turneri</i> , C) fruto de <i>G. turneri</i> y D) semillas de <i>G. turneri</i> .	13
2	Área de estudio (litoral del estado de Sonora) con los datos de ocurrencia (puntos rojos) de <i>G. turneri</i> .	41
3	<i>Gossypium davidsonii</i> : A) individuo de <i>G. davidsonii</i> , B) flor de <i>G. davidsonii</i> , C) hoja de <i>G. davidsonii</i> , D) etapa post-antesis de la flor de <i>G. davidsonii</i> y E) fruto con semillas de <i>G. davidsonii</i> .	43
4	Localidades de colecta de tejido foliar de <i>G. davidsonii</i> en el estado de Baja California Sur.	44
5	Localidad (Roca El Choyudo) de colecta de hojas de <i>G. turneri</i> en el municipio de Guaymas, Sonora.	45
6	Localidades de colecta de botones florales y semillas de <i>G. turneri</i> en el municipio de Guaymas, Sonora.	46
7	Electroforesis en gel de agarosa al 1% con muestras de ADN que fueron extraídas usando el kit DNeasy Plant Mini Kit (QIAGEN™). A) Individuos de <i>G. turneri</i> . Carril 1: Marcador de peso molecular. Carril 2 al 6: Diferentes individuos de <i>G. turneri</i> . B) Individuos de <i>G. davidsonii</i> . Carril 1. Marcador de peso molecular. Carril 2 al 5: Diferentes individuos de <i>G. davidsonii</i> .	47
8	Semilla de <i>G. turneri</i> . A) Vista anterior de la semilla, B) vista posterior de la semilla, C) vista de la superficie y D) vista de la fibra. Barra de referencia: 1,0 mm (A y B) y 0,2 mm (C y D).	49
9	Características externas evaluadas en semillas de <i>G. turneri</i> : A) longitud de la semilla (L) y ancho (A), B) longitud del rafe (LR) y ancho (AR) y C) longitud de la fibra (LF). Barra de referencia: 1,0 mm (A y B) y 0,2 mm (C).	51
10	Características internas evaluadas en semillas de <i>G. turneri</i> : A) longitud del embrión (LE) y grosor de la testa (GT), B) radio de las glándulas de gosipol (RG) y C) ancho del embrión (AE). Barra de referencia: 1,0 mm (A, B y C).	53
11	Placa metafásica de <i>G. turneri</i> .	54
12	Idiograma de <i>G. turneri</i> .	55
13	Árbol de distancias genéticas obtenido por UPGMA usando secuencias del gen <i>rbcL</i> de <i>G. turneri</i> , <i>G. hirsutum</i> , <i>G. arboreum</i> y <i>D. zibethinus</i> .	61

14	Árbol de distancias genéticas obtenido por UPGMA usando secuencias del gen matK de <i>G. turneri</i> , <i>G. hirsutum</i> , <i>G. arboreum</i> y <i>D. zibethinus</i> .	62
15	Árbol de distancias genéticas obtenido por UPGMA usando secuencias del gen ycf1 de <i>G. turneri</i> , <i>G. hirsutum</i> , <i>G. arboreum</i> y <i>D. zibethinus</i> .	63
16	Árbol de distancias genéticas obtenido por UPGMA usando secuencias de los genes rbcL y matK de <i>G. turneri</i> , <i>G. hirsutum</i> , <i>G. arboreum</i> y <i>D. zibethinus</i> .	64
17	Árbol de distancias genéticas obtenido por UPGMA usando secuencias de los genes rbcL y ycf1 de <i>G. turneri</i> , <i>G. hirsutum</i> , <i>G. arboreum</i> y <i>D. zibethinus</i> .	65
18	Árbol de distancias genéticas obtenido por UPGMA usando secuencias de los genes matK y ycf1 de <i>G. turneri</i> , <i>G. hirsutum</i> , <i>G. arboreum</i> y <i>D. zibethinus</i> .	66
19	Árbol de distancias genéticas obtenido por UPGMA usando secuencias de los genes rbcL, matK y ycf1 de <i>G. turneri</i> , <i>G. hirsutum</i> , <i>G. arboreum</i> y <i>D. zibethinus</i> .	67
20	Mapa de distribución potencial de <i>G. turneri</i> en el litoral del estado de Sonora.	69
21	Mapa de distribución potencial de <i>G. turneri</i> en el litoral del estado de Sonora. Vista en el municipio de Guaymas.	70
22	Prueba de Jackknife. A) Prueba con datos de entrenamiento, b) prueba con datos de prueba (datos del modelo) y c) prueba con AUC.	72
23	Mapa de distribución potencial de <i>G. turneri</i> y datos de clima y suelo en el litoral del estado de Sonora.	73
24	Mapa de distribución potencial de <i>G. turneri</i> y datos de clima y suelo en el litoral del estado de Sonora. Vista en áreas donde concuerdan los datos.	74
25	Mapa de distribución potencial de <i>G. turneri</i> con datos de ocurrencia, clima y suelo en el litoral del estado de Sonora.	75
26	Mapa de distribución potencial de <i>G. turneri</i> con datos de ocurrencia, clima y suelo en el litoral del estado de Sonora. Vista en el municipio de Guaymas.	76

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA		PÁGINA
1	Especies, distribución geográfica y grupos genómicos de las especies del género <i>Gossypium</i> (Wendel <i>et al.</i> , 2010; Shim <i>et al.</i> , 2018).	4
2	Especies de algodón silvestre y cultivadas con características de interés agronómico para el mejoramiento del algodón cultivado (Ulloa <i>et al.</i> , 2014; Shim <i>et al.</i> , 2018).	10
3	Información de los microsatélites estandarizados en <i>G. davidsonii</i> y <i>G. turneri</i> (Kuester y Nason, 2012).	33
4	Descripción de oligonucleótidos utilizados para código de barras ADN (Bafeel <i>et al.</i> 2011; Dong <i>et al.</i> , 2015).	38
5	Localidades de colecta, coordenadas y número de individuos colectados de <i>G. davidsonii</i> en el estado de Baja California Sur.	44
6	Localidades de colecta de botones florales y semillas de <i>G. turneri</i> en el municipio de Guaymas, Sonora.	46
7	Descripción de microsatélites estandarizados para los ADNs de los individuos de <i>G. turneri</i> .	48
8	Descripción de los microsatélites que amplificaron para los ADNs de los individuos de <i>G. davidsonii</i> .	48
9	Características externas evaluadas en las semillas de <i>G. turneri</i> .	50
10	Características internas evaluadas en las semillas de <i>G. turneri</i> .	52
11	Características cariotípicas de <i>G. turneri</i> .	54
12	Porcentaje de amplificación de PCR, secuenciación y longitud de productos de PCR (después del alineamiento y edición de secuencias forward y reverse) de <i>rbcL</i> , <i>matK</i> y <i>ycf1</i> para <i>G. turneri</i> .	56
13	Secuencias de especies utilizadas en el análisis de código de barras de ADN.	56
14	Longitud de secuencias de <i>rbcL</i> , <i>matK</i> y <i>ycf1</i> de <i>G. turneri</i> para análisis de código de barras de ADN (distancias genéticas, diferencias nucleotídicas, sitios polimórficos y árboles de distancias genéticas).	57
15	Distancias genéticas entre <i>G. turneri</i> y grupos externos usando secuencias del gen <i>rbcL</i> . Número en la parte inferior izquierda representan las distancias genéticas y números en la parte superior derecha el error estándar.	57

16	Distancias genéticas entre <i>G. turneri</i> y grupos externos usando secuencias del gen matK. Número en la parte inferior izquierda representan las distancias genéticas y números en la parte superior derecha el error estándar.	58
17	Distancias genéticas entre <i>G. turneri</i> y grupos externos usando secuencias del gen ycf1. Número en la parte inferior izquierda representan las distancias genéticas y números en la parte superior derecha el error estándar.	58
18	Distancias genéticas entre <i>G. turneri</i> y grupos externos usando secuencias del gen rbcL y matK. Número en la parte inferior izquierda representan las distancias genéticas y números en la parte superior derecha el error estándar.	59
19	Distancias genéticas entre <i>G. turneri</i> y grupos externos usando secuencias del gen rbcL y ycf1. Número en la parte inferior izquierda representan las distancias genéticas y números en la parte superior derecha el error estándar.	59
20	Distancias genéticas entre <i>G. turneri</i> y grupos externos usando secuencias del gen matK y ycf1. Número en la parte inferior izquierda representan las distancias genéticas y números en la parte superior derecha el error estándar.	60
21	Distancias genéticas entre <i>G. turneri</i> y grupos externos usando secuencias del gen rbcL, matK y ycf1. Número en la parte inferior izquierda representan las distancias genéticas y números en la parte superior derecha el error estándar.	60
22	Porcentaje de contribución de las variables en el modelo de distribución potencial de <i>G. turneri</i> .	71

INTRODUCCIÓN

El algodón (género *Gossypium*) es un recurso agrícola significativo por ser la fibra textil natural más importante en el mundo y fuente, cada vez mayor, en la producción de alimento y aceites (Shim *et al.*, 2018). El género está constituido por 46 especies diploides ($2n=2x=26$ y siete alotetraploides ($2n=4x=52$) distribuidos alrededor de las regiones tropicales y subtropicales del mundo (Cai *et al.*, 2015; Shim *et al.*, 2018). Basado en el apareamiento cromosómico y la distribución geográfica, las especies diploides se agrupan en ocho grupos genómicos: AA, BB, CC, DD, EE, FF, GG y KK; mientras que, las especies alotetraploides presentan el grupo genómico AADD (Chen *et al.*, 2018; Shim *et al.*, 2018). De las especies que constituyen el género, cuatro especies son cultivadas (*G. hirsutum*, *G. barbadense*, *G. herbaceum* y *G. arboreum*) y las demás son silvestres (Cai *et al.*, 2015).

De las especies cultivadas de *Gossypium*, los algodones *G. hirsutum* y *G. barbadense* comprenden más del 90% del área total de cultivo de algodón en el mundo. La base genética del cultivo de algodón se ha reducido debido al uso extensivo de solo unos pocos genotipos y la adopción generalizada de cultivares transgénicos (Shim *et al.*, 2018). Dicha reducción en la base genética provoca que el algodón sea altamente vulnerable a factores bióticos y abióticos por lo que, como futuros objetivos de la reproducción de algodón cultivado, se debe considerar introducir nueva variación genética en el acervo genético del algodón cultivado (Shim *et al.*, 2018).

Las especies silvestres de algodón contienen una gran variabilidad genética sin explotar que puede ser utilizada para ampliar el acervo genético del algodón cultivado. Por lo tanto, las especies silvestres son consideradas como una reserva de rasgos genéticos transferibles a los cultivos para su mejoramiento (Yang *et al.*, 2007; Shim *et al.*, 2018).

En México se reportan 11 especies diploides con el genoma D (*G. armourianum*, *G. lobatum*, *G. gossypoides*, *G. aridum*, *G. laxum*, *G. shwendimani*, *G. thurberi*, *G. trilobum*, *G. davidsonii*, *G. turneri* y *G. harknesii*) y una especie tetraploide (*G. hirsutum*) (Abdurakhmonov

et al., 2012; Pérez-Mendoza, 2016), las cuales, en conjunto constituyen un acervo genético útil para el mejoramiento de este género (Pérez-Mendoza *et al.*, 2016).

A pesar de su importancia, algunas especies de algodón silvestres han sido poco estudiadas, como es *Gossypium turneri*, una especie que posee características valiosas no disponibles en el acervo genético del algodón cultivado. Algunos de estos caracteres valiosos incluyen involucelos caducifolios (o brácteas) en la antesis (es decir, brácteas que no permanecen en las fibras cuando se cosecha, lo que lleva a un menor contenido de impurezas de la fibra), mecanismos de resistencia a la salinidad y la sequía (lo que le permite sobrevivir a largos periodos sin lluvias) y resistencia a insectos (Ulloa, 2014; Shim *et al.*, 2018). Además de sus características invaluable, *G. turneri* es una especie nativa del estado de Sonora, México. De acuerdo con la base de datos SEINet (<http://swbiodiversity.org/seinet/>), únicamente existen registros de *G. turneri* en el municipio de Guaymas, Sonora, lo que vuelve aún más valiosa esta especie puesto que es un recurso único en México. Este algodón silvestre se encuentra actualmente en la categoría de peligro crítico (CR, critically endangered) en la Lista Roja de Especies Amenazadas de la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (UICN) y que recientemente entró en la categoría de peligro de extinción (P) en la NOM-059-SEMARNAT-2010 (Wegier *et al.*, 2018; DOF, 2019). Por lo tanto, el presente trabajo propone realizar la caracterización citogenética y análisis de código de barras de ADN de la especie silvestre *G. turneri*. Para ello, se pretende evaluar la morfología de las semillas, el cariotipo (número y morfología de cromosomas), analizar el código de barras de ADN y modelar la distribución potencial en el litoral del estado de Sonora de *G. turneri*.

I. ANTECEDENTES

I.1 Género *Gossypium*

I.1.1 Clasificación sistemática del género

Se utilizó la información de la sistemática del género de acuerdo con los criterios de APG (2016; <https://plants.usda.gov>).

Reino: Plantae

Subreino: Tracheobionta

Superdivisión: Spermatophyta

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Subclase: Dilleniidae

Orden: Malvales

Familia: Malvaceae

Género: *Gossypium*

I.1.2 Especies de *Gossypium*

El género *Gossypium* está constituido por 46 especies diploides ($2n = 2x = 26$) y siete alotetraploides ($2n = 2x = 52$) distribuidos en las regiones tropicales y subtropicales del mundo (Tabla 1) (Cai *et al.*, 2015; Shim *et al.*, 2018). Basado en el apareamiento cromosómico y la distribución geográfica, las especies diploides se agrupan en ocho grupos genómicos: AA, BB, CC, DD, EE, FF, GG y KK; mientras que, las especies alotetraploides presentan el grupo genómico AADD (Chen *et al.*, 2018; Shim *et al.*, 2018).

Tabla 1. Especies, distribución geográfica y grupos genómicos de las especies del género *Gossypium* (Wendel *et al.*, 2010; Shim *et al.*, 2018).

Especie	Origen	Genoma
<i>G. hirsutum</i>	América Central	AD
<i>G. barbadense</i>	América del Sur	AD
<i>G. tomentosum</i>	Archipiélago de Hawái	AD
<i>G. mustelinum</i>	Noreste de Brasil	AD
<i>G. darwinii</i>	Islas Galápagos	AD
<i>G. ekmanianum</i>	República Dominicana	AD
<i>G. stephensii</i>	Isla Wake	AD
<i>G. africanum</i>	África del Sur	A
<i>G. herbaceum</i>	África del Sur	A
<i>G. arboreum</i>	Valle del Indo (Madagascar)	A
<i>G. anomalum</i>	África (Angola, Namibia)	B
<i>G. triphyllum</i>	Namibia (África)	B
<i>G. capitis-viridis</i>	Islas de Cabo Verde	B
<i>G. trifurcatum</i>	Somalia	B
<i>G. sturtianum</i>	Australia	C
<i>G. nandewareense</i>	Australia	C
<i>G. robinsonii</i>	Australia Occidental	C
<i>G. thurberi</i>	México	D
<i>G. armourianum</i>	México	D
<i>G. harknessii</i>	México	D
<i>G. davidsonii</i>	México	D
<i>G. klotzschianum</i>	Islas Galapagos	D
<i>G. aridum</i>	México	D
<i>G. raimondii</i>	Peru	D
<i>G. gossypioides</i>	México	D
<i>G. lobatum</i>	México	D
<i>G. trilobum</i>	Occidente de México	D
<i>G. laxum</i>	México	D
<i>G. turneri</i>	México	D
<i>G. schwendimanii</i>	México	D
<i>G. stocksii</i>	Este de África, Arabia	E
<i>G. somalense</i>	Noreste de África	E
<i>G. areysianum</i>	Arabia	E
<i>G. incanum</i>	Arabia	E
<i>G. benadireense</i>	Somalia, Etiopia, Kenia	E
<i>G. bricchettii</i>	Somalia	E
<i>G. vollesenii</i>	Somalia	E
<i>G. longicalyx</i>	África	F
<i>G. bickii</i>	Australia Central	G
<i>G. australe</i>	Australia	G
<i>G. nelsonii</i>	Australia	G

<i>G. costulatum</i>	Australia	K
<i>G. populifolium</i>	Australia Occidental	K
<i>G. cunninghamii</i>	Norte del Territorio Norte (Australia)	K
<i>G. pulchellum</i>	Australia Occidental	K
<i>G. pilosum</i>	Australia Occidental	K
<i>G. anapoides</i>	Australia	K
<i>G. exiguum</i>	Australia	K
<i>G. rotundifolium</i>	Australia	K
<i>G. enthyle</i>	Australia	K
<i>G. nobile</i>	Australia	K
<i>G. londonderriense</i>	Australia	K
<i>G. populifolium</i>	Australia	K

I.1.3 Características generales de *Gossypium*

Las especies del género *Gossypium* presentan forma de vida arbórea o arbustiva. Presentan pubescencia estrellada o son glabras (sin vellosidades). Las hojas son pecioladas con forma ovada, margen ligera o profundamente lobulado o estera, con uno o más nectarios foliares en envés (raramente ausente) y presentan estipulas subyacentes o falcadas caducas o persistentes las cuales a veces son prominentes (Fryxell, 1988). Las flores son solitarias, raramente varias, en las axilas de las hojas o se encuentran en inflorescencias simpodiales. Presentan tres brácteas que suelen ser cordadas, foliáceas, laciniadas o dentadas, las cuales encierran la yema y persiste en el fruto. Las brácteas algunas veces son reducidas a tiras, a pequeñas escamas o son deciduas en la antesis (Fryxell, 1988). Su cáliz es truncado o penta-dentado, raramente penta-lobado; la corola tiene forma de campana o embudo es generalmente grande con pétalos de color crema, amarillo o rosa, a veces presentan una mancha oscura en la base y a menudo con glándulas circulares (Fryxell, 1988). El androceo presenta numerosas anteras; el gineceo presenta un único estilo con 3-5 lóbulos estigmáticos el cual más o menos sobresale el androceo. Los frutos se encuentran en cápsulas lisas, raramente pubescentes, de forma ovoide, es dehiscente y con 3 a 5 lóculos. Las semillas presentan células epidérmicas alargadas que se asemejan a pelos cilíndricos cortos de 1-3 mm de longitud. El número cromosómico base es $x=13$ (Fryxell, 1988; Wieger *et al.*, 2016).

Las especies de algodón sintetizan un grupo de aldehídos sesquiterpénicos de tipo cadineno (fitoalexinas), como compuestos de defensa contra herbívoros, representados por el gopipol (Tian *et al.*, 2018). El gopipol. es un compuesto fenólico producido por glándulas

pigmentarias en los tallos, hojas, capullos de flores y semillas de algodón. Las glándulas pigmentarias son pequeñas manchas de color negro distribuidas por toda la planta de algodón, aunque su mayor concentración se encuentra en las semillas (Gadelha *et al.*, 2014). De las especies que constituyen el género *Gossypium*, *G. davidsonii* es la especie que presenta mayor concentración de gospol en las semillas y tejido foliar (Kuester, 2012).

Las semillas de las especies domesticadas presentan una segunda capa de pelos de 10 a 25 mm de longitud, con paredes celulares secundarias más delgadas que presenta filamentos de celulosa que se depositan en espirales que se revierten periódicamente (Wegier *et al.*, 2016).

I.2 Importancia y usos del algodón

El algodón ejerce una gran influencia en la economía de muchos países agrícolas debido a que es el cultivo de fibra textil natural más importante en el mundo (Zaidi *et al.*, 2018). La fibra de algodón se utiliza, principalmente, como materia prima para la fabricación de tejidos y prendas de vestir. Una vez removida la totalidad de la fibra de las semillas, las fibras que quedan son procesadas para obtener productos dietéticos con alto contenido en fibra, forros para embutidos y para mejorar la viscosidad de productos como pasta dental, helados, entre otros (Silva-Castro, 2005).

Las semillas de algodón se han vuelto un recurso alimenticio valioso debido a que son buenas fuentes de proteínas (~23%) y aceite (~21%). Las semillas de algodón son procesadas para obtener harina, usada ampliamente como alimento para ganado y aceite de algodón siendo este último el principal aceite de cocina en algunos países en desarrollo como Pakistán (Tian *et al.*, 2018).

Aunque el principal uso del algodón es la producción de fibra para la fabricación de textiles, la planta también se utiliza en la medicina tradicional. Los mayas de la península de Yucatán, México, empleaban el algodón de tierras altas (*G. hirsutum*) para usos medicinales: las plántulas trituradas se utilizaban para tratar el asma, las flores para curar el dolor de oídos, las semillas trituradas para los huesos doloridos y tenesmo, entre otros (Wegier *et al.*, 2016).

I.3 Especies domesticadas de *Gossypium*

El género *Gossypium* está constituido por más de 50 especies bien establecidas, de las cuales solamente cuatro son cultivadas: los algodones asiáticos o del Viejo Mundo, *G. herbaceum* y *G. arboreum* y los algodones tetraploides del Nuevo Mundo, *G. hirsutum* y *G. barbadense* (Cai *et al.*, 2015; Shim *et al.*, 2018, Wolchafo, 2019).

G. hirsutum es el algodón más cultivado y con mayor importancia industrial de entre todas las especies que constituyen el género *Gossypium*. Es conocido también como Acala o algodón de tierras altas, algodón con grapas cortas, Mocó y Camboya y; representa el 90% de la producción mundial de fibra de algodón (Ditta *et al.*, 2018; Wolchafo, 2019). *G. hirsutum* está ampliamente distribuida en América Central y el norte de América del Sur, el Caribe y las islas Salomón y Marquesas en el Pacífico (Wendel y Grover, 2015). Existen dos centros de diversidad genética de *G. hirsutum*: el sur de México-Guatemala (Mesoamérica) y el Caribe, y se considera que el área de México-Guatemala es el sitio de domesticación original y el centro primario de diversidad genética (Wolchafo, 2019).

G. barbadense es un algodón cultivado que produce aproximadamente el 9% de la producción mundial de algodón. Es llamado algodón de fibra larga, algodón de fibra larga de Pima, algodón de Sea Island y algodón egipcio. Esta especie originalmente se cultivó en las islas costeras y tierras bajas de Estados Unidos y luego fue introducida en el Valle del Nilo (Egipto) donde fue ampliamente cultivada. Su amplia distribución incluye principalmente Sudamérica, el sur de Mesoamérica y la cuenca del Caribe (Wolchafo, 2019). El sitio probable de domesticación de esta especie es el noroeste de América del Sur a lo largo de la costa o tierra adentro cerca de los cursos de agua (Wendel *et al.*, 2010).

Los algodones asiáticos, *G. arboreum* y *G. herbaceum*, proveen solamente cerca del 4% de la producción mundial de algodón. La especie *G. arboreum* es principalmente cultivada en el este de Asia desde India hasta Corea (Wolchafo, 2019). Existen dos regiones geográficas que han sido denominadas las posibles regiones de localización del progenitor silvestre y las primeras formas domesticadas de *G. arboreum*, siendo estas regiones Madagascar y el Valle del Indo (Wendel *et al.*, 2010). El algodón egipcio, *G. herbaceum*, se cultiva principalmente desde Etiopía hasta Asia Central, el noroeste de China e India. El sitio de domesticación de esta especie

se cree que es posiblemente África debido a que, en dicho lugar, se encuentra una forma endémica, *G. herbaceum* ssp. *africanum*, que sugiere ser una planta silvestre (Wendel *et al.*, 2010, Wulchafo, 2019).

I.3.1 Producción y consumo de algodón en el mundo

En el periodo 2016/2017, el 76.5% de la producción mundial de algodón se concentró en cinco países: India (25.4%), China (21.4%), Estados Unidos de Norteamérica (16.1%), Paquistán (7.2%) y Brasil (6.4%). En la campaña de comercialización del año 2018 la producción mundial de algodón disminuyó un 3% a 25.8 millones de toneladas (Mt) de algodón, observando descensos en los países de India, China y Estados Unidos. Entre los factores que contribuyeron el descenso en la producción se encuentra la disponibilidad de agua, problemas de plagas y el mal tiempo (FIRA, 2017, OECD-FAO, 2019). Por otro lado, el consumo mundial de algodón durante el 2018 aumentó un 2% a 27.3 Mt siendo China el mayor consumidor de algodón crudo y en el mismo año los países de Bangladesh, Turquía y Vietnam han impulsado el procesamiento de algodón crudo (OECD-FAO, 2019).

La exportación mundial de algodón aumentó un 7% a 9.5 Mt, siendo Estados Unidos de Norteamérica el país que registro un mayor crecimiento de exportaciones seguido de Brasil que suministra cada vez una mayor cantidad de algodón al sur y este de Asia. Por otra parte, las importaciones aumentaron en los países de China, Vietnam y Bangladesh (OECD-FAO, 2019). De acuerdo con el índice Cotlook A (índice principal de referencia de precios de algodón a nivel mundial), el precio del algodón aumentó de 1 750 dólares por tonelada (t) en agosto del 2017 a 2 220 dólares por t en agosto del 2018 (OECD-FAO, 2019).

De acuerdo con la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico (OCDE) y la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (conocida como FAO) se espera que la producción mundial de algodón aumente un 16%, alcanzando los 29.2 Mt en el año 2028. Dicho crecimiento se espera principalmente por la expansión del área de cultivo de algodón (9%), esperando un aumento en el rendimiento global promedio del 6% (OECD-FAO, 2019). En cuanto a las exportaciones mundiales de algodón crudo se espera que alcancen los 12 Mt en el 2028, siendo Estados Unidos de Norteamérica el

mayor exportador del mundo (31% de las exportaciones mundiales) y se espera que Brasil emerja como un importante exportador en la próxima década. Respecto a las importaciones, Bangladesh y Vietnam continuaran creciendo y se espera que China se mantenga estable en los primeros años (OECD-FAO, 2019).

I.4 Consecuencias de la domesticación en *Gossypium*

La domesticación se puede definir como la selección artificial de especies silvestres para criar y obtener variantes que prosperen y cumplan con los requisitos humanos o industriales (Steensels *et al.*, 2019).

Los principales cultivos del mundo fueron resultado de la domesticación de especies silvestres. Durante dicho proceso, las especies son sometidas a múltiples rondas de domesticación y fitomejoramiento dando como resultado variedades o cultivares. Debido a los diversos pasos que implica la domesticación de una especie, las variedades o cultivares creados presentan un rango reducido de diversidad genotípica y variación genética debido al efecto de cuello de botella (Flint-García, 2013).

De las especies cultivadas del género *Gossypium*, *G. hirsutum* y *G. barbadense* son los algodones que dominan la producción de fibra natural a nivel mundial. A pesar de esto *G. hirsutum* presenta baja diversidad genética en países como Estados Unidos de Norteamérica, China, Australia, Pakistán y Grecia, como resultado de la domesticación humana y la reproducción constante de los principales cultivos de esta especie (Ulloa *et al.*, 2013) Una solución a la pérdida de diversidad genética de las plantas cultivadas es la recolección, evaluación y utilización del germoplasma de algodón, en especial las especies diploides de algodón silvestre. El conocimiento sobre la diversidad genética y la estructura de poblaciones de especies de algodón son el primer paso para entender cómo preservar y utilizar los recursos genéticos para la mejora del algodón cultivado (Ulloa *et al.*, 2013).

I.5 Importancia de las especies silvestres de *Gossypium*

Las especies silvestres de algodón, en términos de producción y calidad de fibra, son relativamente inferiores en comparación con las especies domesticadas del género. Sin embargo, el germoplasma de las especies silvestres de *Gossypium* sirven como un rico depósito de alelos novedosos que pueden utilizarse para mejorar el rendimiento de los rasgos en el algodón cultivado (Tabla 2). La hibridación interespecífica para ampliar la base genética de los cultivares existentes sería un primer paso importante para utilizar la abundante variación genética de los algodones silvestres (Shim *et al.*, 2018).

A pesar de la importancia de algunas especies silvestres de algodón, éstas han sido poco estudiadas; por lo que es necesario conocer la diversidad genética de las especies que tienen potencial para el mejoramiento del algodón cultivado.

Tabla 2. Especies de algodón silvestre y cultivadas con características de interés agronómico para el mejoramiento del algodón cultivado (Ulloa *et al.*, 2014; Shim *et al.*, 2018).

Especie	Característica de interés agronómico	Genoma
<i>G. hirsutum</i>	Ampliamente cultivada	AD
<i>G. barbadense</i>	Ampliamente cultivada, fibras largas y de alta calidad y resistente al marchitamiento causado por <i>Verticillium</i>	AD
<i>G. tomentosum</i>	Tolerancia al calor y sin nectarios para la resistencia contra las chinches, pulgones y gusanos Resistencia a las chicharritas y trips y alta calidad de fibra (longitud y finura)	AD
<i>G. mustelinum</i>	Fibras largas	AD
<i>G. darwinii</i>	Fibras finas, tolerancia a la sequía y resistencia al marchitamiento causado por <i>Fusarium</i> y <i>Verticillium</i>	AD
<i>G. africanum</i>	Fibras fuertes	A
<i>G. herbaceum</i>	Resistencia a saltamontes, moscas blancas, trips, áfidos y al virus del enrollamiento de la hoja	A
<i>G. arboreum</i>	Resistencia a saltamontes, moscas blancas, áfidos, virus del enrollamiento de las hojas y trips Tolerancia a la sequía, resistencia a la pudrición negra, nematodos reniformes y ácaros	A
<i>G. anomalum</i>	Resistencia al marchitamiento del algodón, mancha angular de la hoja, colémbolos y áfidos Tolerancia a la sequía, fibra de alta calidad y esterilidad citoplasmática masculina	B
<i>G. triphyllum</i>	Flores de color azul a morado	B
<i>G. capitiviridis</i>	Fibra de alta calidad y resistencia al marchitamiento causado	B

	por <i>Fusarium</i> y <i>Verticillium</i>	
<i>G. sturtianum</i>	Semillas sin glándulas y alta resistencia al marchitamiento por <i>Fusarium</i>	C
<i>G. thurberi</i>	Tolerancia a las heladas leves (debido a la defoliación) y alta resistencia a <i>Verticillium dahliae</i>	D
<i>G. armourianum</i>	Resistencia a la mosca blanca, tizón bacteriano y chicharritas	D
<i>G. harknessii</i>	Esterilidad citoplasmática masculina y restaurador de fertilidad masculina	D
<i>G. davidsonii</i>	Tolerancia a la salinidad	D
<i>G. klotzschianum</i>	Tolerancia a la salinidad	D
<i>G. aridum</i>	Tolerancia a la salinidad y resistencia al nematodo reniforme	D
<i>G. raimondii</i>	Resistencia a las chicharritas	D
<i>G. gossypoides</i>	Resistencia a la enfermedad del enrollamiento de la hoja de algodón	D
<i>G. lobatum</i>	Resistencia al marchitamiento causado por <i>Verticillium</i>	D
<i>G. trilobum</i>	Esterilidad citoplasmática masculina, tolerancia a la sequía, resistencia al gusano de la cápsula, gusano rosado, podredumbre de la capsula y al marchitamiento por <i>Verticillium</i> y <i>Fusarium</i>	D
<i>G. turneri</i>	Involucelos caducifolios, resistencia a insectos, resistencia a la salinidad y la sequía	D
<i>G. stocksii</i>	Fibras fuertes, resistencia al virus del enrollamiento de la hoja y al nematodo reniforme	E
<i>G. somalense</i>	Resistencia al nematodo reniforme, gusano egipcio y rosado. Tolerancia a la aridez y fibra resistente	E
<i>G. longicalyx</i>	Resistencia al nematodo reniforme	F
<i>G. bickii</i>	Semillas sin glándulas	G
<i>G. australe</i>	Semillas sin glándulas, resistencia a los áfidos y ácaros, a la sequía y marchitamiento por <i>Fusarium</i> y <i>Verticillium</i>	G

I.6 Especies de *Gossypium* en México

En México se reportan 11 especies diploides con el genoma D (*G. armourianum*, *G. lobatum*, *G. gossypoides*, *G. aridum*, *G. laxum*, *G. shwendimanii*, *G. thurberi*, *G. trilobum*, *G. davidsonii*, *G. turneri* y *G. harknesii*) y una especie tetraploide (*G. hirsutum*) (Abdurakhmonov *et al.*, 2012; Pérez-Mendoza, 2016), las cuales, en conjunto constituyen un acervo genético útil para el mejoramiento de este género (Pérez-Mendoza *et al.*, 2016).

I.6.1 Especies de *Gossypium* en el noroeste de México

En el noroeste de México (Estados de Sonora, Baja California y Sinaloa) se distribuyen cinco especies de *Gossypium*: *G. aridum*, en Sinaloa; *G. turneri* y *G. thurberi*, en Sonora, *G. harknessii*, en Baja California Sur y *G. davidsonii*, en Baja California Sur y Sonora (Pérez-Mendoza *et al.*, 2016).

I.6.2 Especies de *Gossypium* en el Estado de Sonora

En el Estado de Sonora se encuentran tres especies diploides: *G. davidsonii*, *G. turneri* y *G. thurberi*, de las cuáles, *G. turneri* y *G. davidsonii* se localizan en la Bahía de San Carlos en el municipio de Guaymas y *G. thurberi* se distribuye desde el Estado de Arizona en Estados Unidos de Norteamérica hasta el Estado de Sonora en México (Ulloa, 2014; Pérez-Mendoza *et al.*, 2016).

I.7 *Gossypium turneri*

Gossypium turneri (Figura 1) es un arbusto de 1 m de altura con tallos jóvenes con pubescencia estrellada a tomentosa, tallos viejos con corteza de color rojo-marrón y prominentes lenticelas. Las hojas son gruesas de 2-4 cm de largo e igual de ancho, tienen base cordada, ápice con 3 lóbulos de forma aguda a obtusa (Figura 1), subglabras y presentan nectario foliar cerca de la base de la nervadura central. Los peciolos son de tamaño igual o superior a las hojas y las estipulas son de 3-7 mm de largo con forma subulada (Fryxell, 1988). Las flores son solitarias en las axilas de las hojas y los pedicelos de 2 cm de largo. Las brácteas del involucreo son de 9-36 mm de largo y de 7 a 9 mm de ancho, se encuentran insertadas sobre nectarios, son de forma ovada con margen laciniado y caducas en la antesis. El cáliz mide de 5-8 mm de largo y es subglabro. La corola es amarilla con el centro rojo (Figura 1) y presenta pétalos que miden de 4 a 4.5 cm de largo (Fryxell, 1988). La columna estaminal se forma alrededor del estilo y es de 16-17 mm de largo, glabra, pálida y con filamentos de 5-6 mm de largo. El estilo es más corto que los pétalos. El fruto es una capsula de 1-1.5 cm de largo de forma globosa a ovoide con 3-5 lóculos es externamente glabro e internamente cubierto de pelo a lo largo de la sutura de

dehiscencia y los pelos son de 2 mm de largo. La semilla es de 7-8 mm de largo (Figura 1) (Fryxell, 1988).

Esta especie se encuentra en la costa del municipio de Guaymas en el Estado de Sonora y se encuentra asociada con suelos derivados de rocas ígneas (Ulloa, 2014).

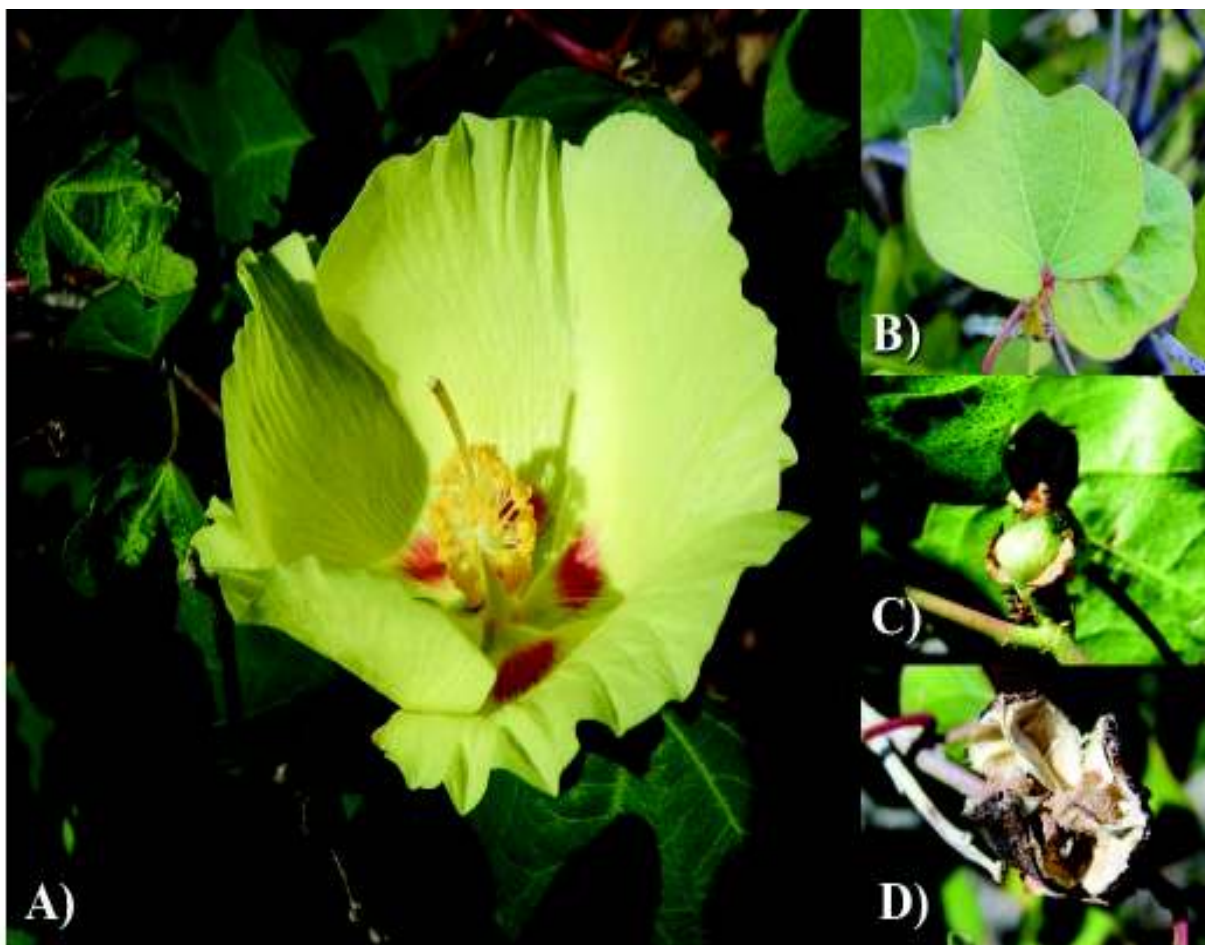


Figura 1. *Gossypium turneri*: A) flor de *G. turneri*, B) hoja de *G. turneri*, C) fruto de *G. turneri* y D) semillas de *G. turneri*.

I.7.1 Estatus de conservación de *G. turneri*

I.7.1.1 Estatus en la Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010

La especie *G. turneri* se anexó recientemente en la lista de especies en riesgo de la NOM-059-SEMARNAT-2010 por medio del Diario Oficial de la Federación en la categoría de especie en peligro de extinción(P) (DOF, 2019).

I.7.1.2 Estatus en la Lista Roja de Especies Amenazadas de la UICN (Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza)

De acuerdo con la Lista Roja de Especies Amenazadas de la UICN, *G. turneri* se encuentra en categoría de peligro crítico (CR, critically endangered). Su distribución es restringida a áreas costeras con alta salinidad y la calidad de su hábitat está disminuyendo. La población de *G. turneri* está severamente fragmentada y el número de individuos (alrededor de 50 individuos maduros) está disminuyendo según lo reportado por Wegier *et al.* (2018).

I.8 Morfología de semillas y estudios realizados en *Gossypium*

Las plantas con semillas (división Spermatophyta) constituyen el grupo más exitoso y diverso de las plantas superiores. Este grupo se compone por las gimnospermas (coníferas y sus parientes) y las angiospermas (plantas con flores). Las plantas con semillas se distinguen de otras plantas al presentar una cubierta en las semillas (testa) que protege al embrión (Barclay, 2015). Las semillas de las plantas están formadas por tres componentes principales: el embrión, (compuesto por uno o varios cotiledones, hipocótilo y radícula), el endospermo y la cubierta de la semilla (testa) (Hu *et al.*, 2013). Cada uno de los componentes de las semillas tiene una función biológica importante: el embrión es la estructura que dará origen a la nueva plántula, el endospermo proporciona alimento y nutrientes para el desarrollo del embrión y la cubierta de la semilla (testa) rodea y protege el embrión y el endospermo (Hu *et al.*, 2013; Sliwinska y Bewley, 2014; Barclay, 2015).

El tamaño y la forma de las semillas pueden variar enormemente entre las especies, es por ello que son considerados rasgos importantes para la identificación y clasificación de plantas (Cervantes *et al.*, 2016).

En el género *Gossypium*, son escasos los estudios realizados sobre la morfología de las semillas o aspectos relacionados. Gil y López (2015) evaluaron las características germinativas de semillas del algodón nativo de fibra verde, lila y marrón proveniente de Perú. En su trabajo mencionan un poco sobre la presencia de pilosidad en las semillas analizadas (Gil y López, 2015). Ulloa (2014) describió a las especies diploides de algodón con el genoma D del Nuevo Mundo, incluyendo a *G. turneri*. En la descripción de las especies incluyó mediciones de largo

y ancho de las semillas, siendo de 3.88 mm y 1.8 mm respectivamente para *G. turneri* (Ulloa, 2014). López *et al.* (2018) caracterizaron frutos, semillas y fibra del algodón tetraploide *G. barbadense*. En lo referente a las semillas, reportaron un promedio de 0.784 cm de largo, 0.488 cm de ancho y un peso de 2.105 gr (López *et al.*, 2018).

I.9 Citogenética y estudios citogenéticos en *Gossypium*

La citogenética es la disciplina que estudia la estructura y propiedades de los cromosomas, incluyendo el número de cromosomas, su comportamiento durante la división celular somática (mitosis) y la división de células germinales (meiosis). También estudia los factores que causan cambios cromosómicos, así como su influencia en el fenotipo (Herrera, 2007; Silva *et al.*, 2008; Kannan y Zilfalil, 2009).

La observación y estudio de los cromosomas se realiza, generalmente, durante la metafase en el ciclo celular debido a que los cromosomas se encuentran más condensados y visibles (Konan *et al.*, 2009). Con base en la metodología utilizada para la observación y estudio de los cromosomas, la citogenética se divide en dos ramas: citogenética clásica y citogenética molecular.

La citogenética clásica es la disciplina que, por medio de técnicas de tinción y bandeo, estudia los cromosomas mitóticos o meióticos a través de un microscopio óptico (Konan *et al.*, 2009). Las técnicas de tinción utilizan colorantes como hematoxilina férrica, orceína acética y ácido carmínico para una tinción uniforme de los cromosomas y realizar estudios de recuento de cromosomas, morfología de cromosomas, detección de modificaciones y apareamiento cromosómicos (Konan *et al.*, 2009). Por otro lado, las técnicas de bandeo utilizan el colorante Giemsa para teñir los cromosomas con una sucesión de bandas característico de cada par de cromosomas y realizar estudios de identificación de cromosomas completos y detectar reordenamientos cromosómicos. Existen diversas técnicas de bandeo siendo las más importantes: el bando G (Giemsa), R (reverso), BrdU (5-Bromodeoxiridina), C (centromérico) y T (telomérico) (Konan *et al.*, 2009).

La citogenética molecular es el resultado del acoplamiento de las técnicas moleculares con la citogenética. La citogenética molecular consiste en la utilización de sondas moleculares

y técnicas de hibridación *in situ* (ISH) en vez de colorantes químicos (Konan *et al.*, 2009). El FISH (hibridación fluorescente *in situ*) es una técnica utilizada en la citogenética molecular; dicha técnica se basa en la propiedad de una secuencia de ADN (sonda) para hibridarse con un ADN complementario. El FISH implica marcar las sondas con fluorocromos e hibridar estas sondas marcadas a una secuencia de ADN única *in situ* (Konan *et al.*, 2009). La citogenética molecular permite asignar secuencias de ADN repetitivas y únicas a posiciones en los cromosomas, asignar marcadores moleculares a cromosomas, detectar cromosomas extraños en híbridos, entre otros (Konan *et al.*, 2009).

Los estudios citogenéticos son de gran importancia debido a que los datos obtenidos pueden usarse para inferencias filogenéticas y para resolver problemas de identificación de especies, brindando así valiosos aportes a la resolución de problemas taxonómicos y evolutivos (Cardoso *et al.*, 2012; Poggio y Narajngo, 2018). Por lo que, la citogenética es una parte fundamental en el estudio de las especies.

Los estudios moleculares sobre el origen del género *Gossypium* sugieren que se formó aproximadamente entre 5 y 10 millones de años. A medida que el género se diversificó y expandió, sufrió una extensa evolución cromosómica que ha sido ampliamente estudiada (Wendel y Cronn, 2003, Shim *et al.*, 2018).

La citogenética ha contribuido en gran medida al conocimiento actual sobre la taxonomía y filogenia del género *Gossypium* (Konan *et al.*, 2009). Entre las contribuciones aportadas por estudios citogenéticos se encuentra el descubrimiento de dos números de cromosomas en el algodón, siendo dicho hallazgo la base para dividir a las especies de *Gossypium* en diploides ($2n=26$) y tetraploides ($2n=52$). Otra contribución ha sido la clasificación de las especies diploides en grupos genómicos con base a estudios meióticos, que los cromosomas de algodón varían ampliamente en el tamaño, entre otros (Konan *et al.*, 2009).

Se han realizado diversos estudios sobre citogenética en las especies de algodón como en *G. hirsutum* (Shedai *et al.*, 2008; Shan, *et al.*, 2016), *G. herbaceum* (Edwards, 1977; Shedai *et al.*, 1996), *G. arboreum* (Wang *et al.*, 2008), *G. davidsonii* (Nie y Mao-xue, 1985) entre otros. Sin embargo, hasta el momento no se han realizado estudios de cariotipo en la especie *G. turneri*.

I.10 Código de barras de ADN y estudios realizados en *Gossypium*

Actualmente el conocimiento taxonómico reconoce 1.8 millones de especies de 3-100 millones de especies estimadas en el mundo, esta cifra no es exacta debido a que continuamente se están descubriendo y describiendo nuevas especies. Esto se debe en parte a la falta de información consecuencia de la falta de exploración de ciertas áreas en el planeta, la escasez de estudios taxonómicos en grupos biológicos y la dificultad de identificación morfológica de organismos (Mora *et al.*, 2011; Paz, *et al.*, 2011). La identificación de especies a partir de su morfología es una tarea difícil para los investigadores, debido a los problemas que pueden presentar ciertos grupos como son la plasticidad fenotípica, diferencias ontogénicas, dimorfismo sexual, entre otros; además de encontrarse situaciones donde los caracteres morfológicos no pueden ser aplicados, por ejemplo: estadios larvales, fragmentos de tejidos como restos de hojas, semillas, sangre, plumas, pieles, los cuales no presentan caracteres diagnósticos suficientes para una identificación acertada (Paz, *et al.*, 2011). Desde hace más de 30 años, la biología molecular se ha convertido en una herramienta muy valiosa en la identificación de individuos y especies usando la información genética, la cual, puede ser obtenida a partir de un pequeño fragmento del organismo. Un método, dentro de las metodologías de la biología molecular, que permite la identificación y reconocimiento de especies es el código de barras de ADN. Dicho método no excluye a la taxonomía, por el contrario, se presenta como una herramienta complementaria para la correcta identificación de especies (Paz, *et al.*, 2011).

Los códigos de barras de ADN consisten en una secuencia corta y estandarizada de ADN, de 400-800 pares de bases (pb), que primeramente debe generarse y caracterizarse fácilmente para todas las especies del mundo (Krees y Erickson, 2008; Paz *et al.*, 2011). Su objetivo es encontrar regiones de ADN que permitan distinguir entre las especies y secuenciarlas de diversos conjuntos de muestras para producir una biblioteca de referencia a gran escala (Hollingsworth, 2011). Para que una región del genoma pueda ser utilizada como código de barras debe satisfacer tres criterios: 1) contener variabilidad genética significativa a nivel de especie, 2) poseer sitios flanqueantes conservados para el desarrollo de primers universales de PCR y 3) debe ser una secuencia de longitud corta para facilitar la extracción y amplificación (Krees y Erickson, 2008).

El primer estudio de códigos de barras se realizó para identificar animales a partir de un fragmento del gen mitocondrial citocromo c oxidasa subunidad 1 (COI), el cual, está formado por aproximadamente 648 pb. Dicha región presenta una alta tasa de sustitución, obteniendo una alta variación de la secuencia entre las especies. El gen COI es apropiado para la mayoría de los grupos de animales; sin embargo, existen dificultades en usarlo para ciertos grupos (cnidarios y esponjas) debido a que en algunos organismos parece evolucionar lentamente por lo cual se recomiendan otros genes (Internal Transcribed Spacer (ITS), por sus siglas en inglés y el gen mitocondrial (16S) (Paz, *et al.*, 2011).

En plantas, el gen COI presenta una muy baja tasa de sustitución, por lo tanto, hay ausencia de variación a nivel de la secuencia entre especies. Se han sugerido varias regiones del genoma como posibles códigos de barras para las plantas, pero ninguna ha sido completamente aceptada por los taxónomos. En la selección de códigos de barras para plantas se debe considerar y ponderar varios factores: amplificación universal, rango de diversidad taxonómica, capacidad de diferenciación de especies y análisis bioinformático y aplicación (Paz, *et al.*, 2011; Krees y Erickson, 2008). En las primeras investigaciones de códigos de barras para plantas se consideraron siete regiones del cloroplasto, cuatro de genes codificantes: *matK* (mutarasa K), *rbcL* (subunidad larga de la Rubisco), *rpoB* (subunidad β de la ARN polimerasa) y *rpoC1* (subunidad β' de la ARN polimerasa) (Yu *et al.*, 2011; Ashfaq *et al.* 2013, Mondal *et al.*, 2013; Gallego-Zaragoza, 2017) y; tres espaciadores intergénicos: *atpF-atpH* (ATP sintasa subunidades CFO I Y CFO III), *trnH-psbA* (RNA de transferencia de la Histidina-proteína D1 del centro de reacción del fotosistema II) y *psbK-psbl* (Polipéptidos K y I del fotosistema II), antes de que el Consortium for the Barcode of Life (CBOL) aprobara en 2009 la combinación de dos loci, *matK + rbcL*, como códigos de barras para plantas (Lehaye *et al.*, 2008; Paz, *et al.*, 2011; Degtjareva *et al.*, 2012; Ashfaq, *et al.*, 2013; Sánchez-Callejas, 2016). Sin embargo, estudios posteriores han mostrado que dichas regiones, aun combinados, no presentan variación suficiente para diferenciar especies cercanas en algunas familias de angiospermas; por lo cual se han propuesto otras regiones como *trnH-psbA*, el intrón *trnL* (ARN de transferencia de la Leucina) y la región nuclear ITS para aquellos casos (Paz, *et al.*, 2011; Gallegos-Zaragoza, 2017).

El gen *rbcL* codifica para la subunidad larga de la ribulosa-1,5-bifosfato carboxilasa/oxigenasa (Rubisco), la cual, juega un papel importante en la fijación del carbono (CO₂). La ribulosa-1,5-bifosfato carboxilasa/oxigenasa, localizada en el cloroplasto, es la enzima más abundante en la naturaleza y responsable de la autotrofia (Sen, *et al.*, 2011; Mondal, *et al.*, 2013). La Rubisco es la responsable de catalizar la asimilación del CO₂ al carbono orgánico en el ciclo de Calvin en la mayoría de las proteobacterias, cianobacterias, algas y plantas superiores (Mondal, *et al.*, 2013). Dicho gen consiste en una región de 599 pb en la secuencia del genoma del plástido de *Arabidopsis thaliana* (Hollingsworth, *et al.*, 2011).

El gen de la maturasa K del cloroplasto, también conocido como *matK*, es uno de los genes más variables en las angiospermas, por lo cual, se ha sugerido como un código de barras para las plantas terrestres. El gen *matK* tiene una longitud de aproximadamente 1570 pb y codifica para una proteína maturasa. Se localiza en el intrón que separa las regiones codificantes del gen *trnK* del cloroplasto, el cual, codifica para la tRNALys (Yu, *et al.*, 2011). El uso de *rbcL+matK* como códigos de barra se basó principalmente por la facilidad de recuperación de la región *rbcL* y el poder discriminatorio de *matK* (Hollingsworth, *et al.*, 2011).

Recientemente se encontró que dos regiones del gen *ycf1* eran muy variables en angiospermas. El gen *ycf1* codifica una proteína de aproximadamente 1800 aminoácidos y abarca las regiones de copia única pequeña (Small-Single Copy, SSC) y las regiones de repetición invertidas en el cloroplasto (Inverted Repeat, IR) (Dong, *et al.*, 2015; Yu *et al.*, 2017). La sección del gen *ycf1* que se ubica en la región IR es corta y conservada, mientras que, la sección del gen *ycf1* que se localiza en la región SSC tiene una alta variabilidad siendo más variable que *matK* en la mayoría de los taxones investigados hasta el momento (Dong, *et al.*, 2015). El gen *ycf1* ha recibido poca atención para los códigos de barras de ADN debido a que es demasiado largo, 5709 pb en *Nicotiana tabacum* y, muy variable para permitir el diseño de primers universales. Sin embargo, su alta variabilidad muestra su valor potencial en la codificación de ADN en plantas terrestres (Dong, *et al.*, 2015). Se ha predicho que dos regiones dentro del gen, *ycf1a* y *ycf1b*, tienen alta diversidad de nucleótido a nivel de especie dentro del genoma cloroplástico de las angiospermas. Estudios recientes indican que el gen *ycf1* muestra mayor poder discriminatorio que *matK*, *rbcL* y *trnH-psbA* por lo tanto, puede servir como código de barras de ADN para plantas terrestres (Dong, *et al.*, 2015).

En el género *Gossypium* se ha probado la efectividad de tres marcadores ampliamente utilizados: matK, rbcL e ITS2 (Internal Transcribed Spacer) por separado y en combinaciones para la discriminación de 20 especies diploides y cinco alotetraploides (Ashfaq, *et al.*, 2013). De los tres marcadores probados, el que mostró mejores resultados en cuanto al poder de discriminación considerando la variación intra e interespecificas fue ITS2 seguido de matK y rbcL, mientras que, la combinación de matK+ITS2 mostró mejor poder de discriminación. Aunque los tres códigos de barras pudieron separar las especies con respecto a su tipo de genoma, ninguna pudo diferenciar todas las especies de *Gossypium*, incluso usando las combinaciones, siendo las especies aloploides las más difíciles (Ashfaq, *et al.*, 2013).

En la especie *G. turneri* no se ha realizado estudios de códigos de barras de ADN. Sin embargo, en el Barcode of Life Data Systems (BOLD) se tiene reportado un registro publicado para la región de matK (<http://www.boldsystems.org>).

I.11 Modelos de distribución potencial de especies

Los modelos de distribución de especies son representaciones cartográficas que reflejan si un determinado espacio es idóneo para la presencia de la especie (Mateo *et al.*, 2011).

I.11.1 Sistema de información geográfica (SIG)

Los sistemas de información geográfica (SIG) se pueden definir como una colección integrada de software y datos geográficos usados para capturar, almacenar, manipular, analizar y presentar la información geográfica de manera eficiente (Pshenichny, 2014; Selvam *et al.*, 2019). El principal objetivo de los SIG es eficientizar la toma de decisiones y planificación al proporcionar un medio para el manejo de datos e información geográfica y generar información nueva (Pandey *et al.*, 2013).

Los componentes que constituyen los SIG son: hardware, software, datos, personas y métodos. El hardware consiste en el sistema informático, compuesto principalmente por la computadora, en el cual se ejecutará el software. El software es el programa o conjunto de programas que proporcionan las funciones y herramientas necesarias para almacenar, analizar y

presentar la información geográfica (Reddy, 2018). Los datos (imágenes, mapas vinculados a hojas de cálculo, tablas entre otros) que utiliza el SIG se integran en forma de capas utilizando la ubicación espacial, para ello la mayoría de los datos deben contener un componente geográfico (<https://www.esri.com/en-us/what-is-gis/overview>). Las personas con capacitación en el manejo de SIG pueden diseñar, manipular y analizar datos para realizar diferentes tareas. Los métodos de SIG corresponden a los modelos y prácticas operativas que se realizarán de acuerdo con el trabajo a realizar (Reddy, 2018).

Los SIG se han convertido en una herramienta extremadamente poderosa y versátil que ha permitido resolver problemas del mundo real. Los SIG pueden responder preguntas relacionadas con la ubicación (¿Qué existen en un lugar específico?), una condición o característica (¿Dónde encontrar una característica específica?), tendencias (¿Qué ha cambiado a través del tiempo?), patrones (¿Cuáles son los patrones espaciales que existen?) y modelos (Reddy, 2018; Selvam *et al.*, 2019). Entre las aplicaciones de los SIG se encuentra el mapeo, monitoreo y manejo de recursos naturales, planificación de uso de tierra, gestión de recursos genéticos, manejo de cuencas hidrográficas, inventarios de recursos, evaluación de áreas de cultivos y pronóstico de rendimiento, entre otros (Reddy, 2018; Selvam *et al.*, 2019)

I.11.2 Distribución potencial de especies

En los últimos años, el uso de los SIG y las técnicas estadísticas aplicadas han permitido el desarrollo de herramientas para el análisis de patrones de presencia y ausencia de especies, dando origen a los modelos de distribución de especies. En función de la interpretación, los modelos de distribución de especies han sido denominados de diferentes maneras: modelos de nicho, modelos de idoneidad o modelos predictivos de hábitat (Mateo *et al.*, 2011). En el presente estudio consideraremos los modelos de distribución de especie como modelos de distribución potencial.

Los modelos de distribución de especies son representaciones cartográficas que reflejan si un determinado espacio es idóneo para la presencia de la especie. Para determinar la idoneidad de dicho espacio, los modelos de distribución de especies utilizan registros de presencia de la

especie e información sobre las condiciones ambientales para predecir su distribución (Mateo *et al.*, 2011; Sofaer *et al.*, 2019).

En la construcción de modelos de distribución, los datos de la distribución actual de la especie se asocian estadísticamente a variables que describen condiciones ambientales (Mateo *et al.*, 2011). En caso de existir una relación entre los datos y las variables, esta se extrapola al resto del área de estudio y se obtiene un valor en cada punto que se puede interpretar como la probabilidad de presencia (Mateo *et al.*, 2011). De esta manera es posible que el modelo delimite potenciales zonas de distribución, alejadas de la distribución geográfica actual de la especie. La probabilidad de encontrar individuos de la especie en las potenciales zonas de distribución no es seguro, aunque las condiciones ambientales sean favorables (Mateo *et al.*, 2011).

Los modelos de distribución de especie son de gran importancia y han sido ampliamente utilizados en el manejo ambiental, manejo de especies en peligro de extinción, estudios de idoneidad de hábitat, impactos del cambio ambiental, en planes de conservación de especies, estudios de distribución de especies (cuando no se conoce bien), entre otros (Hannah, 2015; Ghanbarian *et al.*, 2019).

I.11.3 Estudios de distribución potencial de *Gossypium*

Hasta el momento no se ha modelado la distribución potencial de *G. turneri* en el estado de Sonora. Sin embargo, se ha estudiado la distribución potencial en otras especies del género *Gossypium*. En el trabajo realizado por Wegier-Briuolo (2013) se analizó la distribución actual y áreas de distribución potencial de las especies de algodón diploide que habitan en México. Para ello, se utilizaron datos de CONABIO, ejemplares de herbario y la herramienta GARP (Genetic Algorithm for Rule-set Production). Como resultados obtuvieron los mapas de distribución potencial de 9 de las once especies diploides del país. No se obtuvieron los mapas de distribución potencial de *G. turneri* y *G. trilobum* debido a la insuficiencia de registros puntuales de las especies, por lo que solo se diseñó el mapa de distribución actual. Se concluyó que, dado los registros de herbarios y la descripción de los ejemplares, las especies pueden ser poco abundantes además de restringidas y por las fechas de colecta registradas resulta necesario llevar a cabo nuevas búsquedas de las especies en campo (Wegier-Briuolo, 2013).

En el estudio realizado por Ramírez-Ojeda *et al.* (2014) se determinó el impacto potencial del cambio climático sobre los nichos de distribución geográfica de *G. hirsutum* bajo un escenario de referencia y de cambio climático con tres modelos de circulación general (MCG), bajo el escenario de emisiones de gases de efecto invernadero A2. Para ello se utilizaron 387 accesiones geo-referenciadas de *G. hirsutum* de varias instituciones, datos climatológicos de WorldClim y el programa Maxent. Los resultados de la modelación muestran que en los tres modelos de circulación general se verá favorecida la distribución de *G. hirsutum* debido al cambio climático previsto para el periodo 2040-2069, aumentando considerablemente las zonas en las que aparece actualmente dicha especie. Por lo que se concluye que para los escenarios climáticos futuros se espera que la distribución de *G. hirsutum* se vea favorecida puesto que el cambio climático aumentara las zonas con mayor aptitud ambiental para la especie (Ramírez-Ojeda *et al.*, 2014).

En el trabajo de Wegier *et al.* (2011) se estudió la distribución puntual y potencial de las poblaciones silvestres de *G. hirsutum* así como la contribución del flujo genético en la configuración de la diversidad y estructura genética de esta especie. Para la evaluación de la estructura geográfica se realizó un análisis espacial bayesiano y el GARP (Genetic Algorithm for Rule-set Production) y se obtuvo que las poblaciones silvestres de *G. hirsutum* parecen ajustarse a un esquema de metapoblación, con ocho metapoblaciones distintas. El análisis de distribución potencial mostró la existencia de ocho metapoblaciones de la especie *G. hirsutum* (Wegier *et al.*, 2011).

G. turneri es un recurso único y una especie valiosa para México. Recientemente fue identificada como una especie en peligro de extinción en el país. Por lo anterior, en el trabajo se construyó el modelo de distribución potencial de *G. turneri* en el litoral del estado de Sonora.

II. HIPÓTESIS

Dada la estabilidad citogenética entre las especies diploides, se espera que el número y morfología de cromosomas de *Gossypium turneri* sea similar al de otras especies silvestres de algodón, mientras que, el análisis de las secuencias de *rbcL*, *matK* y *ycfl* discriminará a la especie *Gossypium turneri* de otros algodones.

III. OBJETIVOS

III.1 Objetivo general

Evaluar el cariotipo y analizar el código de barras de ADN de la especie silvestre *Gossypium turneri*.

III.2 Objetivos particulares

- I. Evaluar la morfología de las semillas de la especie *Gossypium turneri*.
- II. Evaluar el cariotipo (número y morfología de cromosomas) de la especie *Gossypium turneri*.
- III. Describir el código de barras de ADN de la especie *Gossypium turneri* en base a las secuencias *rbcL*, *matK* y *ycfl*.
- IV. Modelar la distribución potencial de la especie *Gossypium turneri* en el litoral del estado de Sonora.

IV. MATERIALES Y METÓDOS

En el presente trabajo se consideró inicialmente estudiar a las especies *G. davidsonii* y *G. turneri*. Sin embargo, por circunstancias externas (Apéndice A) se trabajó únicamente con la especie *G. turneri* no obstante se incluyó los avances obtenidos de *G. davidsonii* en el trabajo.

IV.1 Sitio de colecta y material biológico

IV.1.1 Colecta de hojas de *G. davidsonii* y *G. turneri*

Se colectaron hojas de individuos de la especie *G. davidsonii* en 8 zonas diferentes en el estado de Baja California Sur (25°50' N, 111°58' O). De cada zona se obtuvieron hojas de 20 individuos excepto de las localidades 7 y 8, donde se obtuvo muestras de 4 y 24 individuos respectivamente.

Los sitios de colecta fueron los siguientes:

- 1) San Pedro (Carretera La Paz - Todos Santos) (23°57' N, 110°16' O)
- 2) Carretera Todos Santos - Cabo San Lucas (22°56' N, 109°59' O)
- 3) Cabos San Lucas (22°54' N, 109°57' O)
- 4) San José del Cabo (23°00' N, 109°43' O)
- 5) Carretera Las Cuevas - La Laguna hacia Cabo Pulmo (23°32' N, 109°40' O)
- 6) Carretera Los Barriles - San Bartolo (23°43' N, 109°48' O)
- 7) Carretera Los Planes - La Paz (24°05' N, 110°15' O)
- 8) La Paz (carretera hacia Puerto de Pichilingue) (24°11' N, 110°15' O)

Además, se colectaron hojas de 20 individuos de *G. turneri* en la localidad Roca El Choyudo (27°59' N, 111°09' O) en el municipio de Guaymas, Sonora. Durante la colecta se tomaron las coordenadas de cada individuo muestreado y las hojas colectadas de cada especie se guardaron en bolsas rotuladas por número de individuo y por población. Las bolsas rotuladas con las muestras se colocaron en una bolsa con silica gel (Fisher Scientific) para su preservación en campo. Posteriormente se colocaron las bolsas con las hojas en un horno de laboratorio a una temperatura de 40 a 45°C durante tres días y después se almacenaron a -80°C hasta su uso.

IV.1.2 Colecta de botones florales y semillas de *G. turneri*

Se realizó la colecta de botones florales y semillas de la especie *G. turneri* en 3 zonas diferentes en el municipio de Guaymas, Sonora: 1) El Mirador de San Carlos (27°56' N, 111°05' O), 2) En el pueblo pesquero La Manga (27°58' N, 111°05' O). 3) La Roca El Choyudo (27°59' N, 111°09' O).

Los botones florales se colocaron en tubos cónicos Falcon® con solución Farmer (etanol: ácido acético glacial en proporción 3:1) para su preservación hasta su uso, cada tubo se rotuló con los datos del individuo colectado. Las semillas se guardaron en bolsas de papel rotuladas con información del individuo colectado.

IV.2 Técnicas moleculares para análisis de microsatélites en *G. davidsonii* y *G. turneri*: extracción de ADN, cuantificación de ADN, integridad de ADN y Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR)

IV.2.1 Extracción de ADN de tejido vegetal

La extracción de ADN vegetal de tejido foliar de *G. davidsonii* y *G. turneri* se realizó en el Laboratorio de Cultivo de Tejidos y Biología Molecular de Plantas en el Departamento de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de la Universidad de Sonora (DICTUS) y en el Laboratorio de Biología Computacional en la Unidad de Genómica Avanzada (UGA) del Laboratorio Nacional de Genómica para la Biodiversidad (LANGEBIO) CINVESTAV- Unidad Irapuato utilizando el kit DNeasy Plant Mini Kit (QIAGEN™).

IV.2.1.1 Protocolo de extracción de ADN vegetal de *G. davidsonii* con DNeasy Plant Mini Kit (QIAGEN™) usando proteinasa K

1. Primero, se molió el tejido foliar de *G. davidsonii* (≤ 30 mg de tejido previamente congelado a -80°C) utilizando el TissueLyser II (QIAGEN™, Hilden, Alemania) a una velocidad de 30 Hz durante 30 segundos (dos veces), teniendo cuidado de no descongelar la muestra antes de la molienda. Para ello, el tejido foliar se pasó del ultracongelador de -80°C a un tubo de

plástico de 2 ml con una perla de acero inoxidable y se colocó rápidamente en el TissueLyser II (QIAGEN™, Hilden, Alemania).

2. Posteriormente se adicionó 600 µl de Buffer AP1 más 30 µl de proteinasa K al tejido molido y se incubó a 42 °C en el equipo Eppendorf Thermomixer Compact (EPPENDORF, Hamburgo, Alemania) a 1000 rpm durante toda la noche.
3. Después de la incubación se adicionó 8 µl de RNasa A a la muestra, se mezcló en vórtex y se incubó por 5 min en el equipo Eppendorf Thermomixer Compact (EPPENDORF, Hamburgo, Alemania) a 1000 rpm a 65 °C.
4. Se adicionó 200 µl de Buffer P3 a la muestra, se agitó suavemente y se incubó en hielo por 5 min. Seguido de la incubación se procedió a centrifugar en el equipo Biofuge Pico (Heraeus, Osterode am Harz, Alemania) el lisado por 5 min a 13,000 rpm.
5. Posteriormente se pasó la fase acuosa, evitando tomar el precipitado, al QIAshredder spin column y se centrifugó en el equipo Biofuge Pico (Heraeus, Osterode am Harz, Alemania) por 2 min.
6. Se transfirió el filtrado a un tubo eppendorf nuevo de 2 ml sin mover el pellet, después, se adicionó 1.5 volúmenes de Buffer AW1 y se mezcló usando la pipeta.
7. Se procedió a transferir 500 µl de la mezcla en el DNeasy Mini spin column. Se centrifugó en el equipo Biofuge Pico (Heraeus, Osterode am Harz, Alemania) por 1 min a 9,000 rpm y se descartó el filtrado. Este paso se repitió con el resto de la mezcla, evitando que la DNeasy Mini spin column entre en contacto con el filtrado.
8. Se colocó el DNeasy mini spin column en un tubo colector, se adicionó 500 µl de Buffer AW2 y se centrifugó en el equipo Biofuge Pico (Heraeus, Osterode am Harz, Alemania) por 1 min a 9,000 rpm.
9. Se descartó el filtrado del tubo colector y se adicionó 500 µl de Buffer AW2. Después se centrifugó en el equipo Biofuge Pico (Heraeus, Osterode am Harz, Alemania) por 2 minutos a 13,000 rpm.

10. Se transfirió la DNeasy Mini spin column, cuidando que la columna no entre en contacto con el filtrado, a un tubo eppendorf de 1.5 ml rotulado con la información del individuo.
11. Posteriormente se adicionó 50 µl de Buffer AE para la elución, se incubó por 5 min a temperatura ambiente (15-25 °C) y se procedió a centrifugar por 1 min a 9,000 rpm.
12. Finalmente, se adicionó 20 µl de Buffer AE, se incubó por 2 min a temperatura ambiente y se centrifugó en el equipo Biofuge Pico (Heraeus, Osterode am Harz, Alemania) por 1 min a 9,000 rpm. Después, se removió el DNeasy Mini spin column del tubo eppendorf de 1.5 ml y se guardó la muestra a -20 °C.

IV.2.1.2 Protocolo de extracción de ADN vegetal de *G. turneri* con DNeasy Plant Mini Kit (QIAGEN™) usando proteinasa K

1. Primero, se molió el tejido foliar de *G. turneri* (≤ 20 mg de tejido previamente congelado a -80°C) utilizando un mortero, teniendo cuidado de no descongelar la muestra antes de la molienda. Para ello se utilizó nitrógeno líquido para transportar y moler el tejido foliar de ambas especies.
2. Posteriormente se adicionó 600 µl de Buffer AP1 más 30 µl de proteinasa K al tejido molido y se incubó a 42 °C en el termobloque Block Heater Analogue (VWR, Estados Unidos) durante toda la noche.
3. Después de la incubación se centrifugo en el equipo Fisherbran accuSpin Micro 17 (Thermo Fisher Scientific, Pittsburg, Estados Unidos) la muestra por 5 min a 13,000 rpm y se pasó la fase acuosa a un tubo eppendorf nuevo.
4. Se adicionó 8 µl de RNasa A a la fase acuosa extraída, se mezcló en vórtex y se incubó por 5 min en el termobloque Block Heater Analogue (VWR, Estados Unidos) a 65 °C
5. Se adicionó 200 µl de Buffer P3 a la muestra, se agitó suavemente y se incubó en hielo por 5 min. Seguido de la incubación se procedió a centrifugar en el equipo Fisherbran accuSpin Micro 17 (Thermo Fisher Scientific, Pittsburg, Estados Unidos) el lisado por 5 min a 13,000 rpm.

6. Posteriormente se pasó la fase acuosa, evitando tomar el precipitado, al QIAshredder spin column y se centrifugó en el equipo Fisherbran accuSpin Micro 17 (Thermo Fisher Scientific, Pittsburg, Estados Unidos) por 2 min.
7. Se transfirió el filtrado a un nuevo tubo eppendorf de 2 ml sin mover el pellet, después, se adicionó 1.5 volúmenes de Buffer AW1 y se mezcló usando la pipeta.
8. Se procedió a transferir 500 µl de la mezcla en el DNeasy Mini spin column. Se centrifugó en el equipo Fisherbran accuSpin Micro 17 (Thermo Fisher Scientific, Pittsburg, Estados Unidos) por 1 min a 9,000 rpm y se descartó el filtrado. Este paso se repitió con el resto de la mezcla, evitando que la DNeasy Mini spin column entre en contacto con el filtrado.
9. Se colocó la DNeasy mini spin column en un tubo colector, se adiciono 500 µl de Buffer AW2 y se centrifugó en el equipo Fisherbran accuSpin Micro 17 (Thermo Fisher Scientific, Pittsburg, Estados Unidos) por 1 min a 9,000 rpm.
10. Se descartó el filtrado del tubo colector y se adicionó 500 µl de Buffer AW2. Después se centrifugó en el equipo Fisherbran accuSpin Micro 17 (Thermo Fisher Scientific, Pittsburg, Estados Unidos) por 2 min a 13,000 rpm.
11. Se transfirió el DNeasy Mini spin column, cuidando que la columna no entre en contacto con el filtrado, a un tubo eppendorf de 1.5 ml rotulado con la información del individuo.
12. Posteriormente se adicionó 50 µl de Buffer AE para la elución, se incubó por 5 min a temperatura ambiente (15-25 °C) y se procedió a centrifugar en el equipo Fisherbran accuSpin Micro 17 (Thermo Fisher Scientific, Pittsburg, Estados Unidos) por 1 min a 9,000 rpm.
13. Finalmente, se adicionó 20 µl de Buffer AE, se incubo por 2 min a temperatura ambiente y se centrifugó por 1 min a 9,000 rpm. Después, se removió el DNeasy Mini spin column del tubo eppendorf de 1.5 ml y se guardó la muestra a -20 °C.

IV.2.2 Cuantificación del ADN

Se llevó a cabo la cuantificación de las muestras de ADN de *G. davidsonii* y *G. turneri* en el espectrofotómetro NanoDrop 1000 (Thermo Fisher Scientific, Wilginton, Estados Unidos) y NanoDrop Lite (Thermo Fisher Scientific, Wilginton, Estados Unidos), respectivamente. Para la cuantificación se tomó 1 µl de cada muestra y se cuantificó. Se consideró que la relación de absorbancia de 260/280 fuera de 1.80-1.90 y se anotaron las lecturas en la bitácora.

IV.2.3 Integridad del ADN

La integridad del ADN se observó por medio de un gel de electroforesis, por lo tanto, se preparó un gel de agarosa al 1%.

1. Se pesó 0.50 g de agarosa y se depositó en un Matraz Erlenmeyer de 250 ml.
2. Posteriormente se agregaron 50 ml de TAE 1X estéril y se agitó.
3. En el Matraz Erlenmeyer se calentó la mezcla en un microondas durante 1.30 min con agitaciones parciales hasta que la agarosa quedara completamente disuelta en el TAE 1X estéril.
4. Se dejó enfriar la muestra hasta que la temperatura sea soportable a la palma de la mano.
5. Posteriormente se agregó 2 µl GelRed y se agitó repetidamente con la mano.
6. Después se vació la mezcla en la placa de electroforesis previamente preparada y se colocaron los peines de separación y se dejó solidificar.
7. Una vez solidificado el gel, se acomodó la placa dentro del tanque de la cámara de electroforesis y se vertió la cantidad necesaria de buffer TAE 1X, cubriendo los pozos del gel.
8. Se retiraron los peines del gel de manera cuidadosa.
9. Posteriormente en el primer pozo se cargó 2 µl de marcador de peso molecular y en los pozos restantes se cargaron 4-5 µl de la extracción de ADN con 2 µl de buffer de carga.
10. Se procedió a cerrar la unidad electroforética ENDURO™ Horizontal Gel Box (Labnet,

Woodbridge, Estados Unidos) y se realizó la electroforesis conectando la cámara de electroforesis a la fuente de poder ENDURO™ Power Supply (Labnet, Woodbridge, Estados Unidos) a 90 V durante 90 min.

11. Una vez terminada la electroforesis, se visualizó el gel en el fotodocumentador MiniBIS Pro (DNR Bio-Imaging Systems, Jerusalén, Israel) y se guardó la imagen.
12. Finalmente, se desechó el buffer de electroforesis y se procedió a enjuagar todos los componentes de la cámara de electroforesis con agua estéril.

IV.2.4 Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR)

La estandarización de los microsátélites por medio de la reacción en cadena de la polimerasa o mejor conocido como PCR se realizó en el Laboratorio de Biología Computacional en la Unidad de Genómica Avanzada (UGA) del Laboratorio Nacional de Genómica para la Biodiversidad (LANGEBIO) CINVESTAV- Unidad Irapuato.

IV.2.4.1 Estandarización de microsátélites

Una vez obtenido el ADN vegetal se procedió a realizar la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) usando la GoTaq Colorless Master Mix (PROMEGA, Southampton, Inglaterra) para ambas especies. Los oligos utilizados son los analizados por Kuester y Nason (2012). En la Tabla 3 se muestran los oligos que se estandarizaron para *G. davidsonii* y *G. turneri*.

Tabla 3. Información de los microsatélites estandarizados en *G. davidsonii* y *G. turneri* (Kuester y Nason, 2012).

Locus ID	Nombre del locus	Primer (5'-3')	Ta (°C)	Longitud del fragmento (pb)	Repeticiones
GD1	DPL0262	F: TTCTCCATCTCTATCGACTTCCTC R:TGTCCGTCTTCAAGTTGTCCTAA	50	130-148	(ATG)13
GD2	DPL0529	F: ACTCTCAGGATCTGAGTACAACCC R: GTTAAAGGATCCTAGTGCTCATGG	50	176-200	(CATA)7
GD3	SPL0242	F: CTCAGAATTTGGTTCCTGTCTCT R:AATATAAGGATGTAGCTGATGCCG	50	224-242	(ATC)7
GD4	DPL0511	F: TACATGCAGTGCTACAGAAGAACA R:CTTGTATGCCATCATTAAACCC TTC	50	167-183	(ATGT)7
GD6	DPL0541	F: GAAATGCTTGTGGGA ACTGAAT R: GCTTCCTCCCTTACAATCAAATCT	50	224-244	(TATG)11
GD7	MUCS094	F: CTAACAAGAGTCGTTGGAGCC R: AGCATCTCATCTTTCTTTTCGC	50	167-191	(ACC)2(AGC)5
GD8	Gh537	F: GTTGGGTGGCAATTCCTTTTAGATC R:AAAGCTAATCCCTATACCTTTTCTTCG	50	197-221	(AGA)8
GD10	MUCS586	F: ATCCAGCCAAACCAAAAGC R: TTCCAATGCATAGCGAAGG	50	370-394	(TTGG)2(CTG)3

pb: Pares de bases. Ta: Temperatura de alineación

IV.2.4.1 Condiciones de PCR para los microsatélites utilizando ADN de *G. davidsonii*

Se llevó a cabo la estandarización de 6 microsatélites por medio del método de touchdown PCR. Cada reacción se llevó a cabo con un volumen total de 12.5 µl que contenía 6.20 µl de GoTaq Colorless Master Mix (PROMEGA, Southampton, Inglaterra), 0.5 µl de cada primer, 0.5 µl de ADN y 4.80 µl de agua destilada estéril. Para el PCR se utilizó el termociclador Palm-Cycler (Corbett, Mortlake, Australia)

Las condiciones del termociclador para la fase de touchdown consistieron en una temperatura de desnaturalización inicial de 95 °C por 3 min y 10 ciclos de una desnaturalización a 94 °C por 30 s, un alineamiento a 60 °C por 30 s y extensión a 72 °C por 30 s; la temperatura de alineación disminuyó 1 °C por cada ciclo. Las condiciones de la fase de PCR estándar fueron 25 ciclos de 94 °C por 30 s, 50 °C por 1:30 min, 72 °C por 30 s y una extensión final de 72 °C por 10 min.

IV.2.4.2 Condiciones de PCR para los microsatélites utilizando ADN de *G. turneri*

Se llevó a cabo la estandarización de 8 microsatélites por medio del método de PCR estándar y touchdown PCR. Cada reacción se llevó a cabo con un volumen total de 12.5 µl que contenía 6.20 µl de GoTaq Colorless Master Mix (PROMEGA, Southampton, Inglaterra), 0.5 µl de cada primer, 0.5 µl de ADN y 4.80 µl de agua destilada estéril. Para el PCR se utilizó el termociclador Palm-Cycler (Corbett, Mortlake, Australia).

Con el método de PCR estándar, las condiciones del termociclador consistieron en una temperatura de desnaturalización inicial de 95 °C por 3 min, 35 ciclos de una desnaturalización a 94 °C por 30 s, un alineamiento de 48-52.2 °C por 1:30 min, extensión a 72 °C por 1:00 min; y una extensión final de 72 °C por 10 min.

Con el método de touchdown PCR, las condiciones del termociclador para la fase de touchdown consistieron en una temperatura de desnaturalización inicial de 95 °C por 3 min y 10 ciclos de una desnaturalización a 94 °C por 30 s, un alineamiento a 60 °C por 30 s y extensión a 72 °C por 30 s; la temperatura de alineación disminuyó 1-2 °C por cada ciclo. Las condiciones de la fase de PCR estándar fueron 25 ciclos de 94 °C por 30 s, 50 °C por 1:30 min, 72 °C por 30 s y una extensión final de 72 °C por 10 min.

IV.3 Morfología de semillas de *G. turneri*

La morfología de las semillas de *G. turneri* se realizó en el Laboratorio de citogenética de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN) en Saltillo, Coahuila.

IV.3.1 Características externas de las semillas

Las características externas evaluadas fueron: longitud de semilla (L) [mm], ancho de semilla (A) [mm], longitud de rafe (LR) [mm], ancho de rafe (AR) [mm], relación longitud / ancho de semilla (L / A), longitud de fibra (LF) [mm] (dos fibras por semilla) y peso de semilla (P) [g]. Estas características se midieron en una muestra aleatoria de 30 semillas de dos poblaciones utilizando la cámara de microscopio digital Dino-Lite Premier AM4113T (Dino-Lite, Nuevo Taipéi, China),

que incluye un sistema de medición a través del programa DinoCapture 2.0 versión 1.5.33 (www.dinolite.us) y la Analytical Balance (Ohaus Adventurer® Parsippany-Troy Hills, Estados Unidos). Además, para la morfología de la semilla se registraron las siguientes características: color de la semilla, forma de la semilla y superficie de la semilla.

IV.3.2 Características internas de las semillas

Las características internas de la semilla se midieron usando cinco semillas que se lijaron longitudinalmente y cinco semillas de manera transversal con una hoja de lijado Fandeli C-99 150. Las semillas lijadas se fijaron con yoduro de potasio para diferenciar las estructuras internas y se evaluaron las siguientes características: longitud del embrión (LE) [mm], ancho del embrión (AE) [mm], grosor de la testa (GT) [mm] (diez mediciones por semilla) y radio de glándulas de gosispol (RG) [mm] (tres glándulas de gosispol por semilla). Las mediciones se realizaron con la cámara de microscopio digital Dino-Lite Premier AM4113T (Dino-Lite, Nuevo Taipéi, China).

IV.4 Análisis del cariotipo (número y morfología de cromosomas) de *G. turneri*

IV.4.1 Germinación de semillas y tratamiento de raíces para la observación de los cromosomas mitóticos

La germinación de semillas y observación de cromosomas mitóticos se realizó en el Laboratorio de Producción de Semillas y en el Laboratorio de Citogenética de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN) en Saltillo, Coahuila.

IV.4.1.1 Germinación de semillas

Se germinó una muestra aleatoria de 77 semillas provenientes de la localidad El Mirador y el pueblo pesquero La Manga.

1. Primeramente, se dejaron las semillas remojando en agua destilada durante 3 h a temperatura ambiente.
2. Posteriormente se realizó un corte a la testa de la semilla cerca del rafe utilizando un bisturí.
3. Se colocaron las semillas en placas de Petri con dos hojas de papel filtro húmedas con agua destilada.
4. Las placas Petri se colocaron en la incubadora Biotronette® Mark III Environmental Chamber (Lab-Line Instrumet, Melrose Park, Estados Unidos). Las semillas se incubaron a una temperatura de 25 a 30 °C y con periodos de 12 h de luz y 12 h de oscuridad.
5. Las semillas se regaron todos los días con agua destilada.

IV.4.2 Aislamiento y observación de cromosomas en raíces (Jewell y Islam-Faridi, 1994)

1. Una vez germinadas las semillas, se procedió a cortar los ápices de las raíces principales a las 10:20 de la mañana. Posteriormente se colocaron en un tubo eppendorf y se adicionó 8-hidroxiquinoleina al 0.04% hasta cubrir las muestras.
2. Se cubrió el tubo eppendorf con papel aluminio y se colocó en oscuridad durante 4 h a temperatura ambiente.
3. Después se extrajo la 8-hidroxiquinoleina al 0.04% y se adicionó solución Farmer (etanol: ácido acético glacial en proporción 3:1) al tubo eppendorf con los meristemos apicales. Se dejaron las muestras en solución Farmer mínimo durante 24 h a temperatura ambiente.
4. Los ápices de las raíces previamente tratados con la solución Farmer, se lavaron dos veces con agua destilada y se dejaron reposando en agua destilada durante 30 min.
5. Se enjuagó nuevamente las raíces con agua destilada y se dejaron 30 min en agua destilada.
6. Después se pasaron los ápices de las raíces a ácido clorhídrico al 0.1N durante 10 min.
7. Se procedió a quitar el ácido clorhídrico al 0.1N, se enjuagaron las muestras dos veces con agua destilada y se dejaron durante 30 min en agua destilada.

8. Posteriormente se pasaron las raíces al buffer de citratos (1.47 g de citrato de sodio, 1.05 g de ácido cítrico monohidratado, 500 ml de agua destilada y pH final de 4.5) durante 30 min.
9. Se cortaron los meristemos de los ápices de las raíces y se pasaron al tratamiento enzimático con pectoliasa y celulasa (0.1 g de pectoliasa, 0.5 g de celulasa y 10 ml de buffer de citratos) en baño maría a 35°C durante 50 min.
10. Después del tratamiento enzimático se enjuagaron los meristemos dos veces con agua destilada y se dejaron durante 20 min en agua destilada.
11. Los meristemos tratados se extrajeron con una pipeta y se colocaron sobre un portaobjetos con una gota de solución Farmer. Con una aguja curva de disección se deslizó suavemente los meristemos para extender las células meristemáticas.
12. Posteriormente se enjuagó el portaobjetos con solución Farmer para eliminar los residuos del tejido y se dejaron secar los portaobjetos.
13. Finalmente, para observar las células en un microscopio de campo claro, se colocó una gota de colorante de acetocarmin (45%) en el portaobjetos y se colocó un cubreobjetos. Después, se procedió a aplastar ligeramente el portaobjeto con el cubreobjetos y se calentó ligeramente usando un mechero de alcohol. Las fotografías de las células meristemáticas en metafase se realizaron en el microscopio Vista Vision (VWR, Estados Unidos) con cámara Pixera integrada.

IV.4.3 Análisis de cromosomas mitóticos

Para determinar el número y morfología de cromosomas, las células en metafase se analizaron en el programa Karyotype Analysis V2 (Altinordu *et al.* 2016). Los parámetros que se evaluaron fueron: morfología de cromosomas de acuerdo a Levant *et al.* (1964), número básico de cromosomas (x), número total de cromosomas ($2n$), longitud total de los cromosomas (LTC), cromosoma de mayor longitud (L), cromosoma de menor longitud (S), relación entre el cromosoma de mayor y menor longitud (L/S), índice centromérico (IC) ($IC = \text{brazo corto} / \text{longitud total del cromosoma}$) y el índice de asimetría descrito por Stebbins (1971), el cual se basa en la variación

entre el cromosoma más largo y más corto del complemento y la proporción de cromosomas con una relación de brazo de <2: 1 (Altinordu *et al.* 2014; Azizi *et al.* 2014; Altinordu *et al.* 2016).

IV.5 Código de barras de ADN de *G. turneri*

Se evaluó el potencial como código de barras para 10 individuos de *G. turneri* utilizando los marcadores establecidos rbcL, matK y ycf1 (Tabla 4) en el Laboratorio Nacional de Genómica para la Biodiversidad (LANGEBIO) CINVESTAV- Unidad Irapuato. Las secuencias utilizadas para el análisis de código de barras de ADN se obtuvieron durante la realización de la tesis de licenciatura: “Diversidad genética por microsatélites (SSRs) en *Gossypium davidsonii* y *Gossypium turneri* en el estado de Sonora”, para la obtención de grado de Bióloga con opción en Recursos Naturales Terrestres. Dichas secuencias no se analizaron hasta el presente trabajo.

Tabla 4. Descripción de oligonucleótidos utilizados para código de barras ADN (Bafeel *et al.* 2011; Dong *et al.*, 2015).

Nombre	Pares de bases	Secuencia 5'-3'
matK-390F	22	CGATCTATTCATTCAATATTTC
matK1326R	22	TCTAGCACACGAAAGTCGAAGT
rbcLaF	26	ATGTCACCACAAACAGAGACTAAAGC
rbcLaR	20	GTAAAATCAAGTCCACCRCG
ycf1 bF	28	TCTCGACGAAAATCAGATTGTTGTGAAT
ycf1 bR	23	ATACATGTCAAAGTGATGGAAAA

IV.5.1 Análisis de las secuencias de código de barras de ADN

IV.5.1.1 Edición, alineamiento de secuencias (forward y reverse) y orientación de las secuencias

Una vez obtenidas las secuencias de los productos de PCR, se procedió a observar la calidad de las secuencias en el programa FinchTV 1.4 (<http://finchtv.software.informer.com/1.4>) y se cortaron los extremos de las secuencias que presentaban baja calidad usando el programa BioEdit 7.2 (<https://bioedit.software.informer.com/7.2/>). El alineamiento de la secuencia forward y reverse de

cada individuo y la edición en los sitios de discrepancia se llevó a cabo en BioEdit 7.2 de acuerdo con el criterio descrito por el Consorcio de Código de Barras de la Vida (CBOL, Consortium for the Barcode of Life) (CBOL, 2009) Posteriormente se revisó la orientación de las secuencias por medio de un alineamiento con una secuencia de referencia, esto se realizó para cada individuo con cada uno de los genes a través de Unipro UGENE (Okonechnikov *et al.*, 2012).

IV.5.1.2 Alineamiento múltiple de secuencias de *G. turneri* con grupos externos y concatenado de genes

Para el análisis de código de barras de ADN se usaron tres especies como grupos externos, dos especies de algodón (*G. hirsutum* y *G. arboreum*) y una especie de la familia Malvaceae (*Durio zibethinus*). Para cada grupo externo se obtuvieron las secuencias para cada gen de GenBank-NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) y se realizó un alineamiento múltiple junto con las secuencias de *G. turneri* en MAFFT (<https://mafft.cbrc.jp/alignment/software/>) usando el criterio de Clustal W.

Se visualizó el alineamiento de las secuencias en Unipro UGENE y se eliminaron las regiones no conservadas (poco informativas), dejando las regiones conservadas. Una vez realizado los cortes en los alineamientos, se procedió a concatenar los genes para cada especie en la plataforma de R (R Development Core Team, 2001).

IV.5.1.3 Análisis de distancias genéticas, sitios polimórficos y construcción de árboles de distancias genéticas

Las secuencias de los genes individuales y concatenados se volvieron a alinear en MAFFT usando el criterio Clustal W. Las distancias genéticas se calcularon en el programa MEGA 7 (Molecular Evolutionary Genetics Analysis) (Kumar *et al.*, 2016) entre las secuencias (por pares) y entre especies (distancias entre grupos). Las distancias se calcularon usando el modelo de dos parámetros de Kimura con un Bootstrap de 1000 réplicas, esto se realizó en las secuencias de los genes individuales y concatenado (Fatima *et al.*, 2019).

La identificación del número de diferencias nucleotídicas entre las secuencias se realizó en MEGA 7 y el número total de sitios polimórficos se estimó en el programa DnaSP v6 (Rozas *et al.*, 2017).

Los árboles de distancias genéticas se construyeron en PAUP 4.0 (<https://paup.phylosolutions.com/>). Para ello se calcularon las distancias genéticas usando el modelo de dos parámetros de Kimura y se utilizó como método de agrupamiento UPGMA (Unweighted Pair Group Method using Arithmetic averages), un algoritmo de agrupamiento que recibe una matriz de distancias y a partir de ella genera un dendrograma (árbol). Este método asume que cada entidad de la matriz tiene su propio grupo, posteriormente relaciona los dos grupos más cercanos basado en la matriz de distancia, luego recalcula la matriz de distancia y repite el proceso hasta que todas las entidades estén conectadas (Acero-Barraza, 2007; Fatima *et al.*, 2019; Vu y Le, 2019). Los árboles de distancias genéticas se editaron en programa el FigTree (<http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>). Esto se realizó en los genes individuales y concatenados.

IV.6 Modelo de distribución potencial de *G. turneri*

IV.6.1 Área de estudio

Considerando la distribución geográfica actual de *G. turneri*, el área de estudio se limitó a la zona costera del estado de Sonora. Con la finalidad de delimitar el área de estudio, se utilizó ArcMap 10.5 para crear un área alrededor de la línea costera del estado de Sonora con una distancia de incidencia de 10 km (Figura 2).



Figura 2. Área de estudio (litoral del estado de Sonora) con los datos de ocurrencia (puntos rojos) de *G. turneri*.

IV.6.2 Datos de ocurrencia

Se georreferenciaron 60 individuos de *G. turneri* en el municipio de Guaymas, Sonora, en el año 2016 y 2018. Además, se usaron datos de ocurrencia de las bases de datos de MABA (Madrean Archipelago Biodiversity Assessment), SEINet y del Herbario de la Universidad de Sonora; obteniendo un total de 69 registros de ocurrencia. Los datos de los individuos se guardaron en formato CSV y en coordenadas decimales.

IV.6.3 Modelo de elevación potencial y variables climáticas

Para modelar la distribución potencial de la especie, el modelo de elevación digital (MED) se obtuvo del Continuo de Elevación Mexicano 3.0 (CEM 3.0) del Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI) (<https://www.inegi.org.mx/app/geo2/elevacionesmex/>) con una resolución

espacial de 30 m. Del modelo de elevación digital se extrajo los datos de pendiente y aspecto (orientación). Estas variables se delimitaron al área de estudio, se transformaron en formato raster y se guardaron en formato ASCII (.asc) usando ArcMap 10.5, estas variables son los que se utilizaron para realizar el modelo.

Con la finalidad de optimizar la delimitación de las áreas de distribución potencial de *G. turneri*, se determinó el tipo de clima y suelo de la distribución geográfica actual de la especie a través de los datos de ocurrencia por medio de ArcMap 10.5. Al superponer estos datos con los obtenidos en el modelo de distribución potencial, se obtendrán las áreas con mayor posibilidad de presencia de la especie.

IV.6.4 Modelo de distribución potencial

Para modelar la distribución potencial de *G. turneri* en el litoral del estado de Sonora se utilizó el programa MaxEnt versión 3.4 (https://biodiversityinformatics.amnh.org/open_source/maxent/). Al modelo se le incorporó los datos de ocurrencia de la especie, el modelo de elevación digital, la pendiente y el aspecto (orientación) especificando si se trata de una variable continua o categórica.

Se utilizó la función logística como la configuración del modelo de MaxEnt versión 3.4. La calibración del modelo consistió en 1000 iteraciones, un límite de convergencia de 0.00001 y un valor de regularización de 1.0. Además, se utilizó el 25% de los datos de ocurrencia como porcentaje de prueba para el modelo (Avila-Coria *et al.*, 2014; Palma-Ordaz y Delgadillo-Rodríguez, 2014).

La calidad de la predicción del modelo se determinó con la técnica de evaluación Receiver Operating Characteristic (ROC) y se realizó la prueba de Jackknife para determinar la variable que, por sí misma, es más importante en la creación del modelo de distribución potencial en el programa MaxEnt versión 3.4. (Avila-Coria *et al.*, 2014; Palma-Ordaz y Delgadillo-Rodríguez, 2014). La elaboración del mapa de distribución potencial se realizó en ArcMap 10.5 y se adiciono, en el mismo mapa, los datos de las variables extraídas de la distribución actual de la especie.

V. RESULTADOS

V.1 Sitio de colecta y material biológico

V.1.1 Colecta de hojas de *G. davidsonii* y *G. turneri*

Se realizó la colecta de hojas de *G. davidsonii* (Figura 3) en el estado de Baja California Sur, donde se encontraron 8 diferentes zonas (Figura 4) (Tabla 5). De cada zona se obtuvieron hojas de 20 individuos a excepción de la localidad 7 y 8 donde se obtuvo muestras de 4 y 24 individuos respectivamente (Tabla 5). En total de obtuvieron hojas de 148 individuos.



Figura 3. *Gossypium davidsonii*: A) individuo de *G. davidsonii*, B) flor de *G. davidsonii*, C) hoja de *G. davidsonii*, D) etapa post-antesis de la flor de *G. davidsonii* y E) fruto con semillas de *G. davidsonii*.

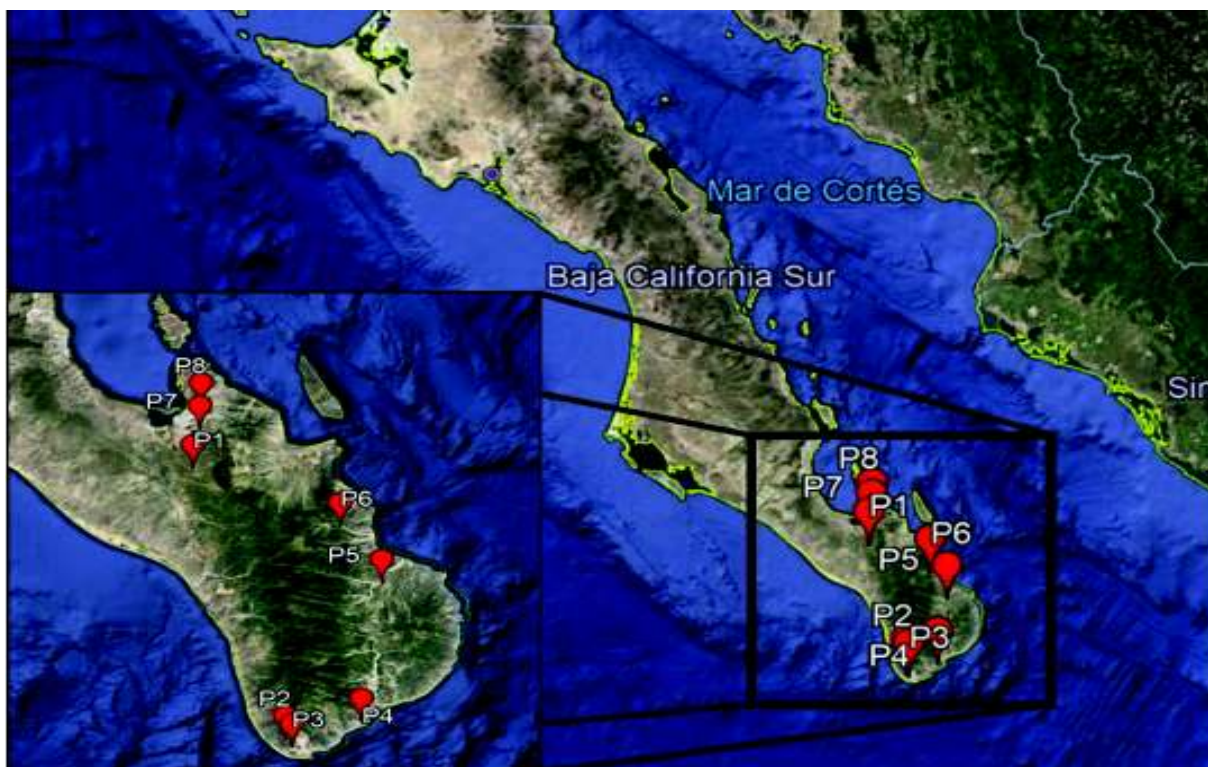


Figura 4. Localidades de colecta de tejido foliar de *G. davidsonii* en el estado de Baja California Sur.

Tabla 5. Localidades de colecta, coordenadas y número de individuos colectados de *G. davidsonii* en el estado de Baja California Sur.

Punto	Localidad	Coordenadas	No. De individuos colectados
1	San Pedro (Carretera La Paz -Todos Santos)	23°57' N, 110°16' O	20
2	Carretera Todos Santos- Cabo San Lucas	22°56' N, 109°59' O	20
3	Cabos San Lucas	22°54' N, 109°57' O	20
4	San José del Cabo	23°00' N, 109°43' O	20
5	Carretera Las Cuevas - La Laguna hacia Cabo Pulmo	23°32' N, 109°40' O	20
6	Carretera Los Barriles - San Bartolo	23°43' N, 109°48' O	20
7	Carretera Los Planes - La Paz	24°05' N, 110°15' O	4
8	La Paz (carretera hacia Puerto de Pichilingue)	24°11' N, 110°15' O	24

Para la especie *G. turneri* se colectaron hojas de 20 individuos en la localidad Roca El Choyudo en el municipio de Guaymas, Sonora (Figura 5).



Figura 5. Localidad (Roca El Choyudo) de colecta de hojas de *G. turneri* en el municipio de Guaymas, Sonora.

V.1.2 Colecta de botones florales y semillas de *G. turneri*

Se colectaron botones florales y semillas de *G. turneri* en 3 zonas diferentes en el municipio de Guaymas, Sonora (Figura 6) (Tabla 6).



Figura 6. Localidades de colecta de botones florales y semillas de *G. turneri* en el municipio de Guaymas, Sonora.

Tabla 6. Localidades de colecta de botones florales y semillas de *G. turneri* en el municipio de Guaymas, Sonora.

Punto	Localidad	Coordenadas
1	El Mirador	27°56' N, 111°05' O
2	Pueblo pesquero La Manga	27°58' N, 111°05' O
3	Roca El Choyudo	27°59' N, 111°09' O

V.2 Técnicas moleculares para análisis de microsatélites: extracción de ADN, cuantificación de ADN, integridad de ADN y Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR)

V.2.1 Extracción de ADN

La extracción de ADN vegetal se llevó a cabo usando el kit DNeasy Plant Mini kit para la especie *G. turneri* y para la especie *G. davidsonii* usando (Figura 7). La integridad del ADN se observó en un gel de agarosa al 1% donde las muestras mostraban buena calidad.

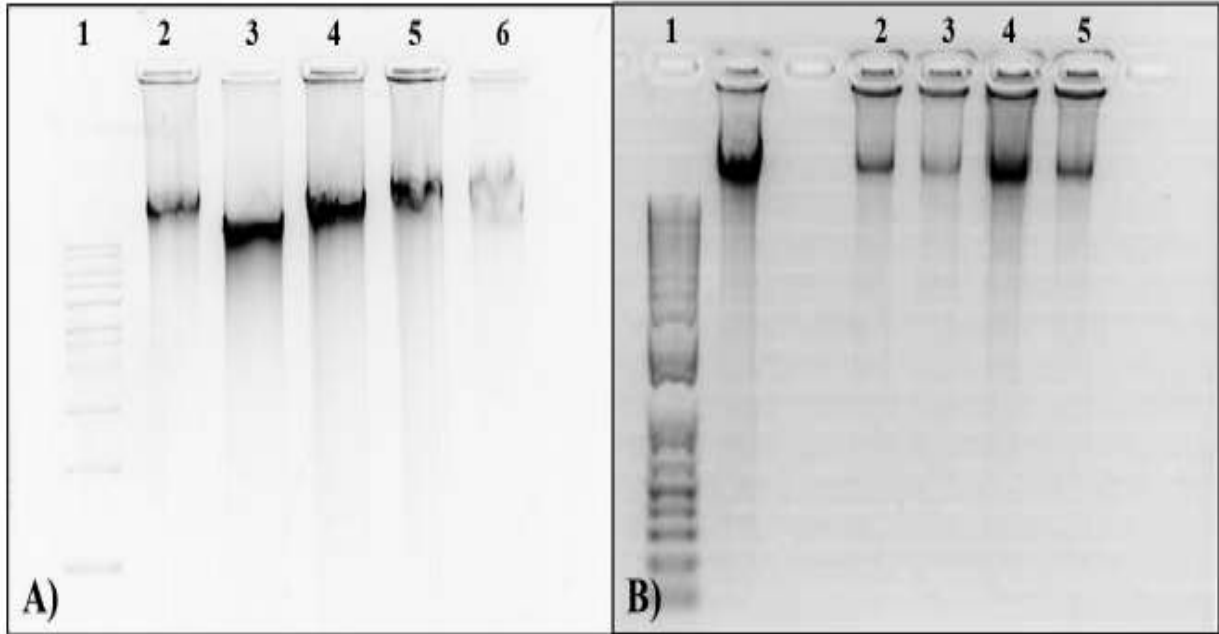


Figura 7. Electroforesis en gel de agarosa al 1% con muestras de ADN que fueron extraídas usando el kit DNeasy Plant Mini Kit (QIAGEN™). A) Individuos de *G. turneri*. Carril 1: Marcador de peso molecular. Carril 2 al 6: Diferentes individuos de *G. turneri*. B) Individuos de *G. davidsonii*. Carril 1. Marcador de peso molecular. Carril 2 al 5: Diferentes individuos de *G. davidsonii*.

V.2.2 Cuantificación de ADN

La relación 266/280 en los extractos de ADN de *G. turneri* (20 individuos) vario entre 1.02 y 1.80, mientras que, las concentraciones en ng/μL variaron entre 17.5 a 193.3 ng/μL. Para la especie *G. davidsonii*, la relación 260/280 en los extractos de ADN (5 individuos) vario entre 1.62 y 2.01, mientras que, las concentraciones en ng/μL variaron entre 18.13 a 61.21 ng/μL.

V.2.3 Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR)

V.2.3.1 Estandarización de microsatélites

V.2.3.2 Condiciones de PCR

Para la especie *G. turneri* se estandarizaron los 8 microsatélites (Tabla 7), de los cuales, seis amplificaron por medio de un PCR estándar y dos por el método touchdown PCR (Tabla 7). En el caso de *G. davidsonii*, se estandarizaron 6 marcadores por el método de touchdown PCR (Tabla 8).

Tabla 7. Descripción de microsatélites estandarizados para los ADNs de los individuos de *G. turneri*.

SSR	Motivo repetido	Ta (°C)
DPL0262	(ATG)13	52
DPL0529	(CATA)7	52
DPL0242	(ATC)7	52
DPL0511	(ATGT)7	48
DPL0541	(TATG)11	50*
MUCS094	(ACC)2(AGC)5	50*
Gh537	(AGA)8	50.2
MUCS586	(TTGG)2(CTG)3	50.2

SSR: Microsatélite. Ta: Temperatura de alineación. *Microsatélites que amplificaron por medio de touchdown PCR, donde, la fase de touchdown la temperatura de alineación disminuyó 1°C para el marcador MUCS094 y 2°C para los marcadores DPL0541 en cada ciclo y en la fase de PCR estándar la temperatura de alineación fue de 50 °C.

Tabla 8. Descripción de los microsatélites que amplificaron para los ADNs de los individuos de *G. davidsonii*.

SSR	Motivo repetido	Ta (°C)
DPL0262	(ATG)13	50*
DPL0529	(CATA)7	50*
DPL0242	(ATC)7	50*
MUCS094	(ACC)2(AGC)5	50*
Gh537	(AGA)8	50*
MUCS586	(TTGG)2(CTG)3	50*

SSR: Microsatélite. Ta: Temperatura de alineación. *Microsatélites que amplificaron por medio de touchdown PCR. En la fase de touchdown la temperatura de alineación disminuyó 1°C en cada ciclo y en la fase de PCR estándar la temperatura de alineación fue de 50 °C.

V.3 Morfología de semillas de *G. turneri*

V.3.1 Características externas de las semillas

Las semillas de *G. turneri* tienen principalmente una forma ovalada. La superficie de la semilla no es lisa y está cubierta por fibra (aproximadamente 90-100%); esta fibra es muy corta y se encuentra adherida a la testa de la semilla, por lo que es imperceptible a simple vista. El rafe es la única parte de la superficie de la semilla que no tiene esta fibra. El rafe de las semillas de *G. turneri* es largo y cubre un poco más de la mitad de la longitud de la semilla. El color de la semilla es marrón-gris y el rafe es marrón oscuro (Figura 8).

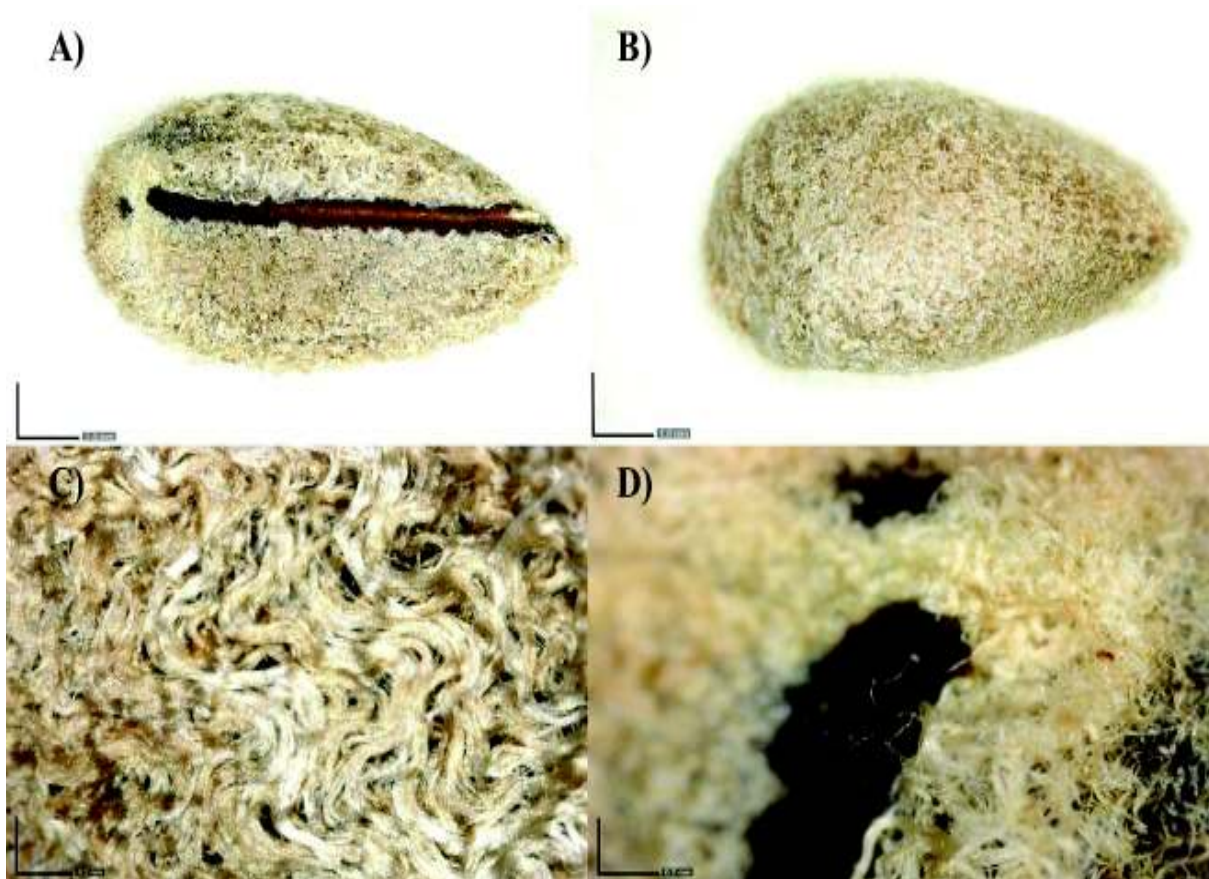


Figura 8. Semilla de *G. turneri*. A) Vista anterior de la semilla, B) vista posterior de la semilla, C) vista de la superficie y D) vista de la fibra. Barra de referencia: 1,0 mm (A y B) y 0,2 mm (C y D).

Se midió un total de 30 semillas para estudiar la morfología externa de la semilla (Figura 9). El valor medio (± 1 desviación estándar) para las características externas que determinan la forma de la semilla fue de 8.80 ± 0.96 mm para la longitud de la semilla (L), 4.83 ± 0.66 mm para el ancho de la semilla (A) y 1.84 ± 0.26 para la relación longitud/ancho de la semilla (L/A). El rango de variación para esas características fue 6.56 a 10.59 mm para L, 3.17 a 5.79 mm para A y 1.37 a 2.44 para L/A (Tabla 9). Estos valores indican que las semillas de *G. turneri* no tienen forma circular, sino ovalada (Figura 8). El rafe se extiende a través de las semillas; la longitud y ancho del rafe (LR y AR) fue de 6.03 ± 0.88 mm y 0.39 ± 0.09 mm, respectivamente. La fibra unida a la superficie de la semilla es muy corta, la mayoría de las mediciones de la fibra fue de menos de 1 mm de longitud (LF = 0.97 ± 0.50 mm). El peso medio de las semillas (P) en la muestra fue de 0.05 ± 0.02 g (Tabla 9).

Entre las características externas medidas, las que mostraron la mayor variación fueron LF y P, con un coeficiente de variación (CV) de 51.70% y 36.71%, respectivamente. LF varió de 0.30 a 2.22 mm, mientras que P de 0.02 a 0.09 g (Tabla 9).

Tabla 9. Características externas evaluadas en las semillas de *G. turneri*.

Características externas	Rango	Promedio \pm DE	CV (%)
Longitud de la semilla (L) (mm)	6.56-10.59	8.80 \pm 0.96	10.94
Ancho de la semilla (A) (mm)	3.17-5.79	4.83 \pm 0.66	13.67
Longitud del rafe (LR) (mm)	3.82-7.77	6.03 \pm 0.88	14.73
Ancho del rafe (AR) (mm)	0.18-0.57	0.39 \pm 0.09	24.63
Relación longitud/ancho de la semilla (L/A)	1.37-2.44	1.84 \pm 0.26	14.13
Longitud de la fibra (LF) (mm)	0.30-2.22	0.97 \pm 0.50	51.70
Peso de la semilla (P) (g)	0.02-0.09	0.05 \pm 0.02	36.71

DE: Desviación estándar. CV: Coeficiente de variación

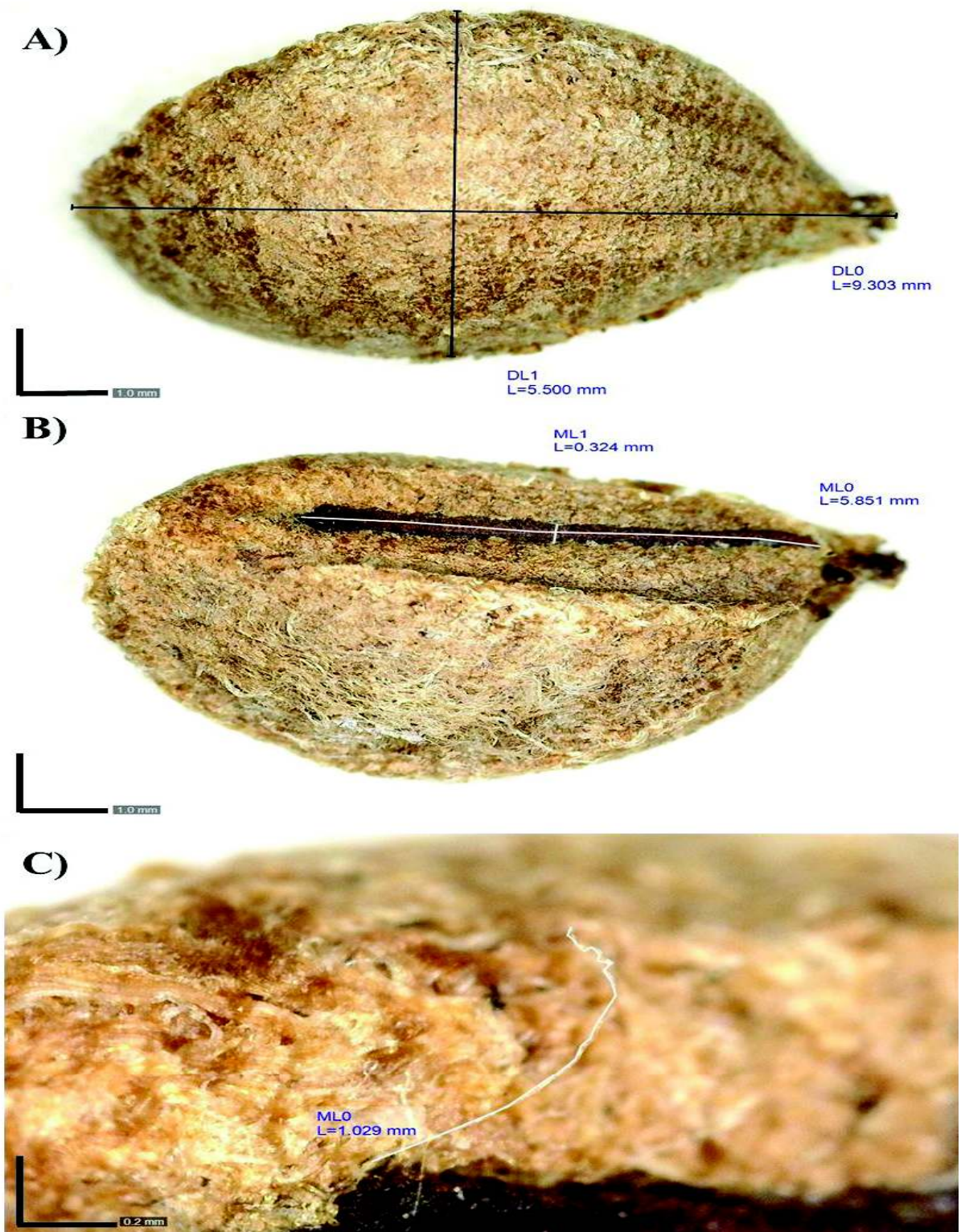


Figura 9. Características externas evaluadas en semillas de *G. turneri*: A) longitud de la semilla (L) y ancho (A), B) longitud del rafe (LR) y ancho (AR) y C) longitud de la fibra (LF). Barra de referencia: 1.0 mm (A y B) y 0.2 mm (C).

V.3.2 Características internas de las semillas

En las semillas lijadas, las estructuras internas de las semillas que se pudieron identificar fueron el embrión y la cubierta (testa) de la semilla (Figura 10). La longitud y ancho del embrión (LE y AE) fue de 6.37 ± 0.51 y 1.92 ± 0.52 mm, respectivamente. El rango de variación para esas características fue de 5.37 a 7.15 mm para LE y de 1.16 a 2.53 mm para AE (Tabla 10). El grosor de la testa (GT) fue de $0,15 \pm 0,03$ mm; indicando que la capa de semillas no es gruesa; sin embargo, durante el análisis de semillas, observamos que la testa de semillas es dura.

En las semillas de *G. turneri*, las glándulas de gosipol se observaron solo en el embrión como pequeñas manchas negras (Figura 10). Las mediciones de glándulas de gosipol mostraron una gran variación; en promedio, el radio de las glándulas de gosipol (RG) fue de 0.05 ± 0.07 mm pero el rango de variación fue de 0.01 a 0.44 mm y por lo tanto el CV fue alto (130.44%, ver Tabla 10).

Tabla 10. Características internas evaluadas en las semillas de *G. turneri*.

Características internas	Rango	Promedio\pmDE	CV (%)
Longitud del embrión (LE) (mm)	5.73-7.15	6.37 \pm 0.51	8.07
Ancho del embrión (AE) (mm)	1.16-2.53	1.92 \pm 0.52	27.09
Grosor de la testa (GT) (mm)	0.06-0.22	0.15-0.03	25.70
Radio de glándulas de gosipol (RG) (mm)	0.01-0.44	0.05 \pm 0.07	130.44

DE: Desviación estándar. CV: Coeficiente de variación

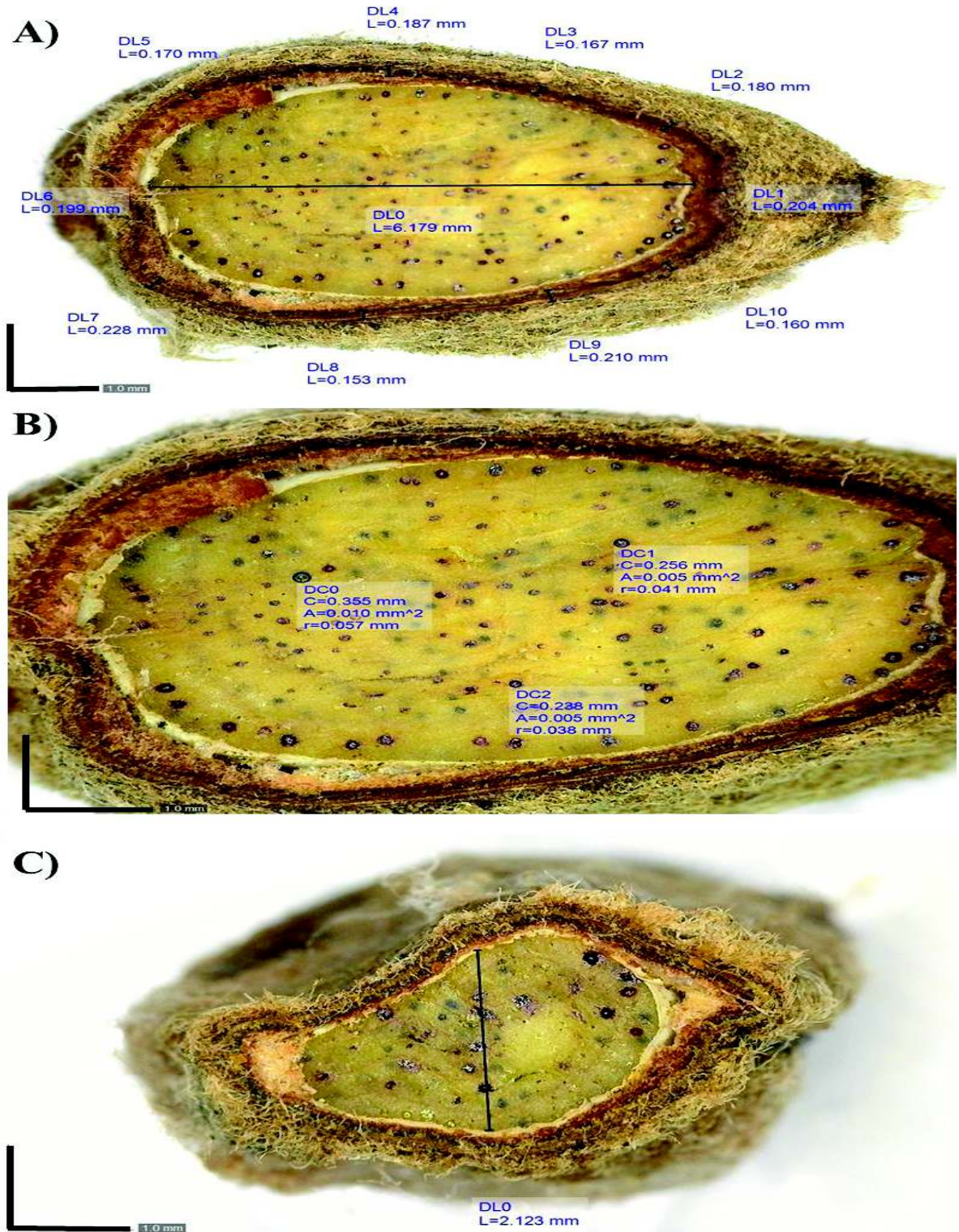


Figura 10. Características internas evaluadas en semillas de *G. turneri*: A) longitud del embrión (LE) y grosor de la testa (GT), B) radio de las glándulas de gopipol (RG) y C) ancho del embrión (AE). Barra de referencia: 1.0 mm (A, B y C).

V.4 Cariotipo (número y morfología de cromosomas) de *G. turneri*

Los cromosomas mitóticos se analizaron en 15 células metafásicas. Todas las observaciones mostraron que *G. turneri* tiene un complemento cromosómico diploide $2n=26$ (Figura 11), preservando el número básico de cromosomas del género ($x=13$). El tamaño de los cromosomas varió de 1.10 a 2.45 μm , siendo los cromosomas relativamente pequeños y la longitud total de los cromosomas (LTC) fue de 44.83 μm (Tabla 11). La relación entre el cromosoma de mayor y menor longitud (L/S) y el índice centromérico (IC) fue de 2.37 y 0.36 μm respectivamente para esta especie (Tabla 11).

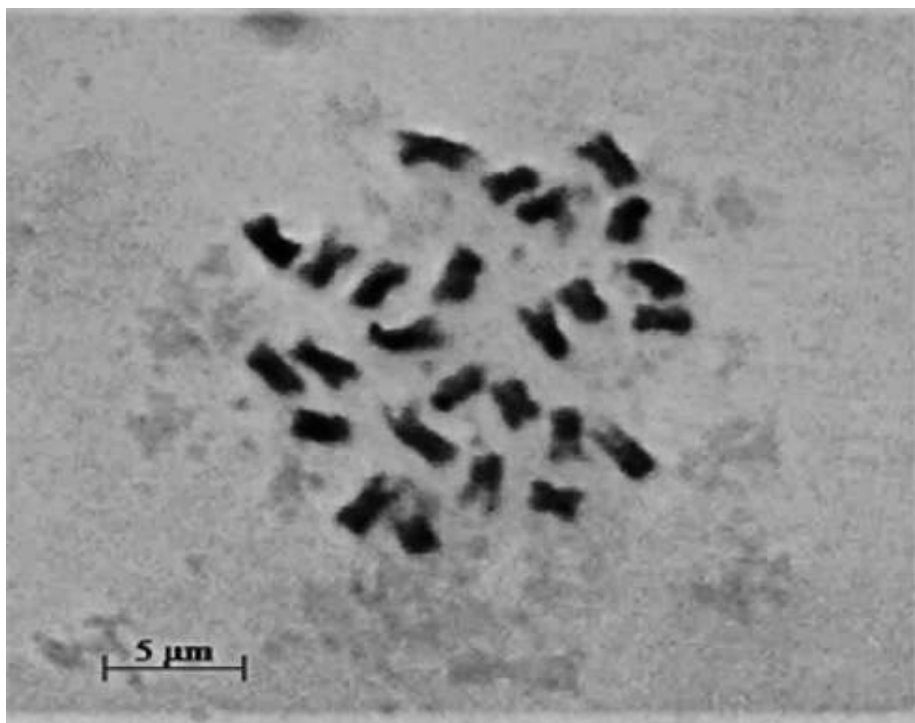


Figura 11. Placa metafásica de *G. turneri*.

Tabla 11. Características cariotípicas de *G. turneri*.

Características cariotípicas						
x	2n	LTC (μm)	S (μm)	L (μm)	L/S	IC
13	26	44.83	1.10	2.45	2.37	0.36

Numero básico de cromosomas (x). Número total de cromosomas (2n). Longitud total de los cromosomas (LTC). Cromosoma de menor longitud (S). Cromosoma de mayor longitud (L). Relación entre el cromosoma de mayor y menor longitud (L/S). Índice centromérico (IC).

La fórmula cromosómica de *G. turneri* consta de 14 cromosomas metacéntricos (m), 11 submetacéntricos (sm) y 1 subtelocéntricos (st) según Levan et al. (1964). Esta especie ocupa las categorías 2A y 2B del índice de asimetría descrito por Stebbins (1971), lo que indica que los cromosomas son relativamente simétricos, como se puede ver en el idiograma de *G. turneri* (Figura 12).

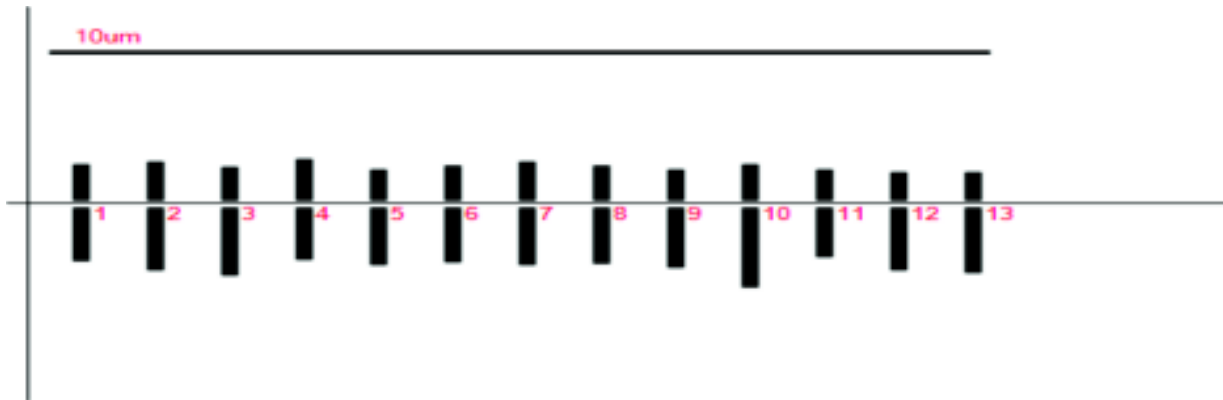


Figura 12. Idiograma de *G. turneri*.

V.5 Código de barras de ADN de *G. turneri*

Se realizó el código de barras de ADN para 10 individuos de *G. turneri* usando los primers universales *rbcL*, *matK* y *ycf1*. Para los tres genes se obtuvo el 100% de amplificación de PCR y secuenciación (Tabla 12). La longitud de los fragmentos de PCR, después del alineamiento y edición de las secuencias forward y reverse, vario de 571 a 590 pares de bases (pb) para el gen *rbcL*; de 657 a 801 pb para *matK*; y de 265 a 349 pb para *ycf1* (Tabla 12).

Tabla 12. Porcentaje de amplificación de PCR, secuenciación y longitud de productos de PCR (después del alineamiento y edición de secuencias forward y reverse) de *rbcL*, *matK* y *ycf1* para *G. turneri*.

Marcador	No. De individuos utilizados	Porcentaje de amplificación de PCR (%)	Porcentaje de secuenciación de PCR (%)	Fragmento de menor longitud (pb)	Fragmento de mayor longitud (pb)
<i>rbcL</i>	10	100	100	571	590
<i>matK</i>	10	100	100	657	801
<i>ycf1</i>	9	100	100	265	349

pb: Pares de bases

V.5.1 Análisis de secuencias de código de barras de ADN

Para el análisis de código de barras de ADN se utilizaron las secuencias de ocho individuos de *G. turneri* (Tabla 13). Los grupos externos usados en el análisis fueron *G. arboreum*, *G. hirsutum* (secuencias de dos cultivares, Coker 310 y Hainansijimain; dos variedades, var. *punctatum* y *marie-galante*; y una raza, f. *palmeri*) y *D. zibethinus* (Tabla 13).

Tabla 13. Secuencias de especies utilizadas en el análisis de código de barras de ADN.

Especie	Nombre de identificación de las secuencias
<i>G. turneri</i> : Individuo 5 - La Manga	GT5MA
<i>G. turneri</i> : Individuo 7 - La Manga	GT7MA
<i>G. turneri</i> : Individuo 16 - La Manga	GT16MA
<i>G. turneri</i> : Individuo 17 - La Manga	GT17MA
<i>G. turneri</i> : Individuo 13 - El Mirador	GT13MI
<i>G. turneri</i> : Individuo 14 - El Mirador	GT14MI
<i>G. turneri</i> : Individuo 16 - El Mirador	GT16MI
<i>G. turneri</i> : Individuo 20 - El Mirador	GT20MI
<i>G. arboreum</i>	<i>G. arboreum</i>
<i>G. hirsutum</i> cultivar Coker 310	<i>G. hirsutum</i> _CK
<i>G. hirsutum</i> cultivar Hainansijimain	<i>G. hirsutum</i> _HA
<i>G. hirsutum</i> var. <i>punctatum</i>	<i>G. hirsutum</i> _P
<i>G. hirsutum</i> var. <i>marie-galante</i>	<i>G. hirsutum</i> _MG
<i>G. hirsutum</i> f. <i>palmeri</i> (raza)	<i>G. hirsutum</i> _FP
<i>D. zibethinus</i>	<i>D. zibethinus</i>

Con la finalidad de calcular las distancias genéticas, diferencias nucleotídicas, sitios polimórficos y construir los árboles de distancias genéticas, las secuencias de *G. turneri* y grupos externos se alinearon y editaron para analizar únicamente las regiones conservadas. Las

longitudes de las secuencias de *G. turneri*, para calcular los parámetros anteriormente mencionados, variaron de 571 a 574 pb para el gen *rbcL*; de 657 a 730 pb para *matK*; y de 76 a 242 pb para *ycf1* (Tabla 14).

Tabla 14. Longitud de secuencias de *rbcL*, *matK* y *ycf1* de *G. turneri* para análisis de código de barras de ADN (distancias genéticas, diferencias nucleotídicas, sitios polimórficos y arboles de distancias genéticas).

Marcador	Fragmento de menor longitud (pb)	Fragmento de mayor longitud (pb)
<i>rbcL</i>	571	574
<i>matK</i>	657	730
<i>ycf1</i>	76	242

pb: Pares de base

V.5.2 Distancias genéticas y sitios polimórficos

Las distancias genéticas entre las especies se calcularon por medio del método de dos parámetros de Kimura usando las secuencias de los genes de manera individual y concatenado. Para el gen *rbcL*, la distancia genética entre *G. turneri* y los algodones *G. hirsutum* y *G. arboreum* fue de 0.007, mientras que, la distancia genética entre *G. turneri* y *D. zibethinus* fue de 0.023 (Tabla 15), indicando una menor diferencia genética entre los algodones en comparación con *D. zibethinus*. Esto se puede observar a detalle en las distancias genéticas entre las secuencias de las especies y las diferencias nucleotídicas, encontradas en 15 sitios variables entre las secuencias (Apéndice B y C).

Tabla 15. Distancias genéticas entre *G. turneri* y grupos externos usando secuencias del gen *rbcL*. Número en la parte inferior izquierda representan las distancias genéticas y números en la parte superior derecha el error estándar.

Especies	<i>G. turneri</i>	<i>G. arboreum</i>	<i>G. hirsutum</i>	<i>D. zibethinus</i>
<i>G. turneri</i>		0.003	0.003	0.006
<i>G. arboreum</i>	0.007		0.000	0.006
<i>G. hirsutum</i>	0.007	0.000		0.006
<i>D. zibethinus</i>	0.023	0.023	0.023	

En el análisis de las secuencias de *matK*, se obtuvo menos diferencias genéticas entre las secuencias de algodón en comparación con *D. zibethinus* (Apéndice D). La distancia genética

entre *G. turneri*, *G. hirsutum* y *G. arboreum* fue de 0.13, mientras que, la distancia genética entre *G. turneri* y *D. zibethinus* fue de 0.53 (Tabla 16). Entre las secuencias de matK se encontraron 61 sitios polimórficos, siendo las diferencias nucleotídicas mayores entre las especies de algodón y *D. zibethinus* (Apéndice E).

Tabla 16. Distancias genéticas entre *G. turneri* y grupos externos usando secuencias del gen matK. Número en la parte inferior izquierda representan las distancias genéticas y números en la parte superior derecha el error estándar.

Especies	<i>G. turneri</i>	<i>G. arboreum</i>	<i>G. hirsutum</i>	<i>D. zibethinus</i>
<i>G. turneri</i>		0.003	0.003	0.009
<i>G. arboreum</i>	0.013		0.000	0.008
<i>G. hirsutum</i>	0.013	0.000		0.008
<i>D. zibethinus</i>	0.053	0.043	0.043	

Para el gen *ycf1*, la distancia genética entre *G. turneri* y los algodones *G. hirsutum* y *G. arboreum* fue de 0.920, mientras que, la distancia genética entre *G. turneri* y *D. zibethinus* fue de 0.341 (Tabla 17). Entre las especies *G. hirsutum*, *G. arboreum* y *D. zibethinus* la distancia genética es de 1.001, indicando que la especie *D. zibethinus* presenta menos diferencias genéticas con *G. turneri*. Esto se puede observar a detalle en las distancias genéticas entre las secuencias de las especies y las diferencias nucleotídicas, encontradas en 50 sitios variables entre las secuencias (Apéndice F y G).

Tabla 17. Distancias genéticas entre *G. turneri* y grupos externos usando secuencias del gen *ycf1*. Número en la parte inferior izquierda representan las distancias genéticas y números en la parte superior derecha el error estándar.

Especies	<i>G. turneri</i>	<i>G. arboreum</i>	<i>G. hirsutum</i>	<i>D. zibethinus</i>
<i>G. turneri</i>		0.231	0.231	0.077
<i>G. arboreum</i>	0.920		0.000	0.403
<i>G. hirsutum</i>	0.920	0.000		0.403
<i>D. zibethinus</i>	0.341	1.001	1.001	

En el análisis de las secuencias de los genes concatenados, las distancias genéticas entre las secuencias de las especies para el concatenado de *rbcL* y *matK* resultaron menores entre los algodones *G. turneri*, *G. hirsutum* y *G. arboreum* en comparación con *D. zibethinus* (Apéndice

H). Entre la especie *G. turneri* y los algodones la distancia genética fue de 0.010, mientras que, la distancia genética entre *G. turneri* y *D. zibethinus* fue de 0.39 (Tabla 18), esto indica que hay menos diferencias genéticas entre los algodones y se puede observar a detalle en las distancias genéticas entre las secuencias y las diferencias nucleotídica de las mismas (Apéndice H y I).

Tabla 18. Distancias genéticas entre *G. turneri* y grupos externos usando secuencias del gen *rbcL* y *matK*. Número en la parte inferior izquierda representan las distancias genéticas y números en la parte superior derecha el error estándar.

Especies	<i>G. turneri</i>	<i>G. arboreum</i>	<i>G. hirsutum</i>	<i>D. zibethinus</i>
<i>G. turneri</i>		0.002	0.002	0.005
<i>G. arboreum</i>	0.010		0.000	0.005
<i>G. hirsutum</i>	0.010	0.000		0.005
<i>D. zibethinus</i>	0.039	0.034	0.034	

A diferencia del concatenado de los genes *rbcL* y *matK*, el concatenado de las secuencias de *rbcL* y *ycf1* muestra menos diferencias genéticas y nucleotídicas (en 64 sitios polimórficos) entre las secuencias de *G. turneri* y *D. zibethinus* en comparación de los algodones *G. hirsutum* y *G. arboreum* (Apéndice J y K). Las distancias genéticas entre *G. turneri* y *D. zibethinus* fue de 0.044, mientras que, entre los algodones *G. turneri*, *G. hirsutum* y *G. arboreum* fue de 0.057. Entre las especies *D. zibethinus*, *G. hirsutum* y *G. arboreum* la distancia genética fue de 0.077 (Tabla 19), siendo mayor la diferencia genética entre estas especies, pero menor entre *G. turneri* y *D. zibethinus*.

Tabla 19. Distancias genéticas entre *G. turneri* y grupos externos usando secuencias del gen *rbcL* y *ycf1*. Número en la parte inferior izquierda representan las distancias genéticas y números en la parte superior derecha el error estándar.

Especies	<i>G. turneri</i>	<i>G. arboreum</i>	<i>G. hirsutum</i>	<i>D. zibethinus</i>
<i>G. turneri</i>		0.008	0.008	0.007
<i>G. arboreum</i>	0.057		0.000	0.011
<i>G. hirsutum</i>	0.057	0.000		0.011
<i>D. zibethinus</i>	0.044	0.077	0.077	

Para el concatenado de las secuencias de los genes *matK* y *ycf1*, la distancia genética entre *G. turneri*, *G. hirsutum* y *G. arboreum* es de 0.56, en tanto que, la distancia genética entre

G. turneri y *D. zibethinus* es de 0.068 (Tabla 20). Por otra parte, la distancia genética entre *D. zibethinus* y los algodones *G. hirsutum* y *G. arboreum* es de 0.085 (Tabla 20), por lo que, *D. zibethinus* presenta menos diferencia genética con *G. turneri*. Esto se puede observar a detalle en las distancias genéticas entre las secuencias de las especies y las diferencias nucleotídicas, encontradas en 111 sitios variables entre las secuencias (Apéndice L y M).

Tabla 20. Distancias genéticas entre *G. turneri* y grupos externos usando secuencias del gen matK y ycf1. Número en la parte inferior izquierda representan las distancias genéticas y números en la parte superior derecha el error estándar.

Especies	<i>G. turneri</i>	<i>G. arboreum</i>	<i>G. hirsutum</i>	<i>D. zibethinus</i>
<i>G. turneri</i>		0.008	0.008	0.008
<i>G. arboreum</i>	0.056		0.000	0.011
<i>G. hirsutum</i>	0.056	0.000		0.011
<i>D. zibethinus</i>	0.068	0.085	0.085	

En el concatenado de las secuencias de los tres genes muestra menos diferencias genéticas y nucleotídicas (en 126 sitios variables) entre los algodones *G. turneri*, *G. hirsutum* y *G. arboreum* (Apéndice N y O). Las distancias genéticas entre *G. turneri* y *D. zibethinus* fue de 0.048, mientras que, entre los algodones *G. turneri*, *G. hirsutum* y *G. arboreum* fue de 0.034. Por otra parte, las distancias genéticas entre especies *D. zibethinus*, *G. hirsutum* y *G. arboreum* la distancia genética fue de 0.059 (Tabla 21), esto indica que *D. zibethinus* presenta menos diferencias genéticas con *G. turneri* que con *G. hirsutum* y *G. arboreum*.

Tabla 21. Distancias genéticas entre *G. turneri* y grupos externos usando secuencias del gen rbcL, matK y ycf1. Número en la parte inferior izquierda representan las distancias genéticas y números en la parte superior derecha el error estándar.

Especies	<i>G. turneri</i>	<i>G. arboreum</i>	<i>G. hirsutum</i>	<i>D. zibethinus</i>
<i>G. turneri</i>		0.004	0.004	0.006
<i>G. arboreum</i>	0.034		0.000	0.007
<i>G. hirsutum</i>	0.034	0.000		0.007
<i>D. zibethinus</i>	0.048	0.059	0.059	

V.5.3 Árboles de distancias genéticas

En el árbol de distancias genéticas obtenido por el método UPGMA usando las secuencias del gen *rcbL* (Figura 13), se observa la formación de tres grupos. El grupo 1 se encuentra formado por los individuos de *G. turneri*, mientras que, el grupo 2 por *G. hirsutum* y *G. arboreum*. El grupo 1 y 2 presentan menos diferencias genéticas por lo que se encuentran agrupados en un solo grupo. Por otro lado, la especie *D. zibethinus* se encuentra formando un grupo aislado (grupo 3) (Figura 13). Estos resultados indican que el gen *rcbL* es capaz de discriminar a *G. turneri* de los grupos externos.

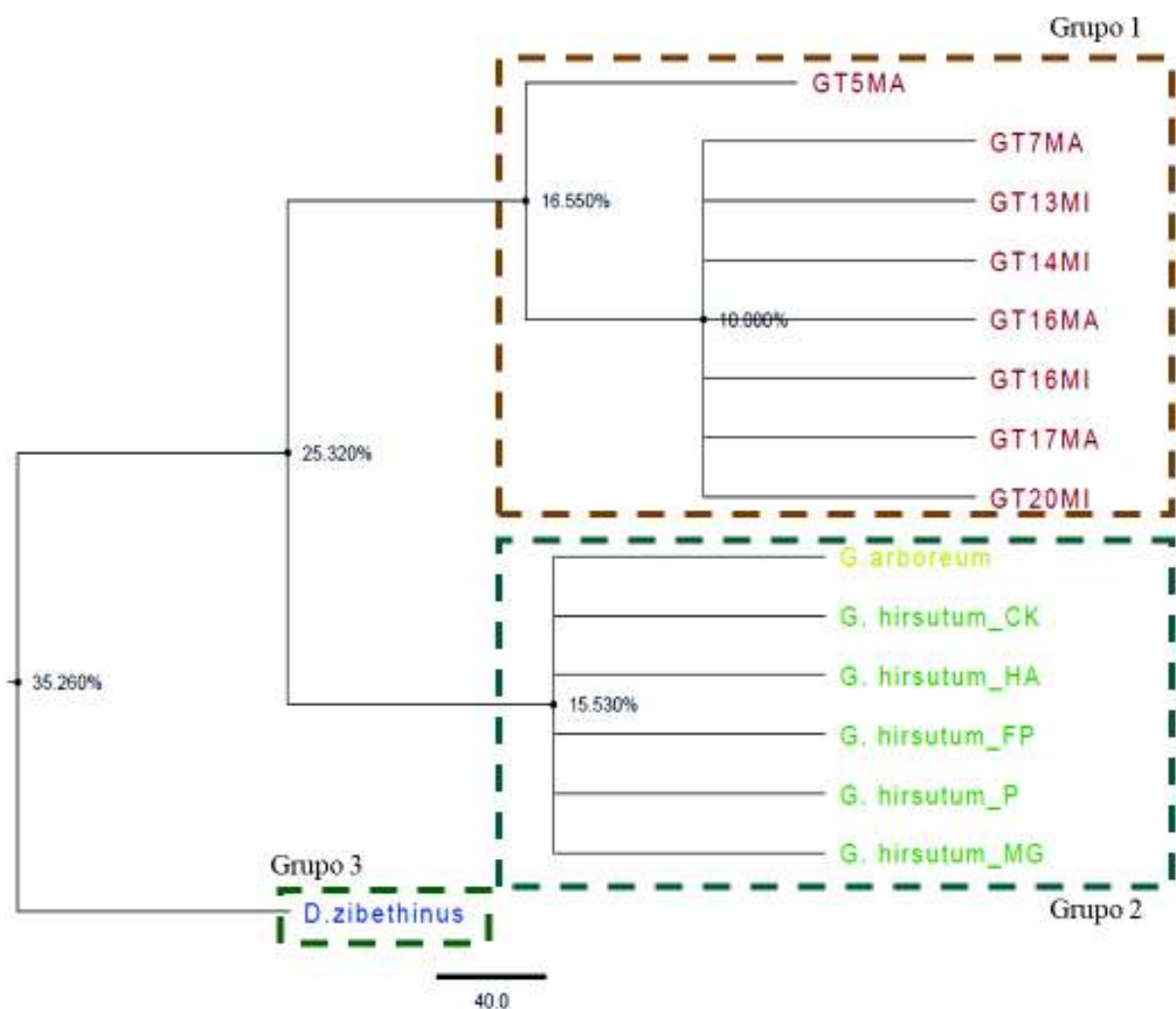


Figura 13. Árbol de distancias genéticas obtenido por UPGMA usando secuencias del gen *rcbL* de *G. turneri*, *G. hirsutum*, *G. arboreum* y *D. zibethinus*.

En el árbol de distancias genéticas obtenido usando las secuencias del gen matK se puede observar a las especies del género *Gossypium* agrupados en dos grupos (grupo 1 y 2) y la especie *D. zibethinus* forma un grupo aislado (grupo 3) (Figura 14). El grupo 1 está formado por cinco individuos de *G. turneri* y los algodones *G. hirsutum* y *G. arboreum*, mientras que, el grupo 2 está formado por tres individuos de *G. turneri* (Figura 14).

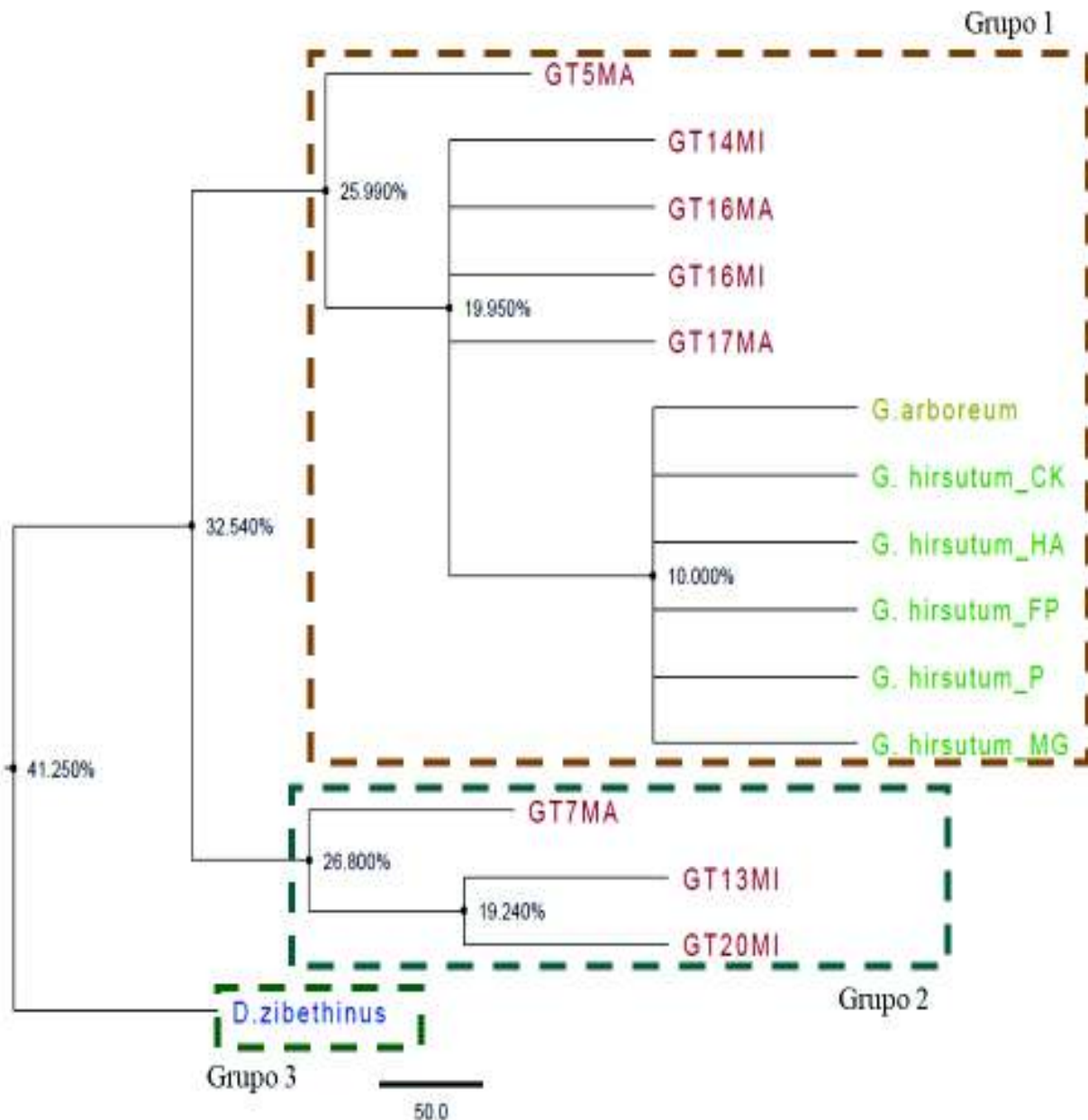


Figura 14. Árbol de distancias genéticas obtenido por UPGMA usando secuencias del gen matK de *G. turneri*, *G. hirsutum*, *G. arboreum* y *D. zibethinus*.

El árbol de distancias genéticas usando las secuencias del gen *ycf1* muestra a los individuos de *G. turneri* agrupados con los algodones *G. hirsutum* y *G. arboreum* y con la especie *D. zibethinus* (Figura 15). En el árbol se puede observar dos grupos, el grupo 1 está formado por 8 individuos de *G. turneri* y *D. zibethinus*, mientras que, el grupo dos está formado por un individuo de *G. turneri* y los algodones *G. hirsutum* y *G. arboreum* (Figura 15). Los resultados obtenidos parecen indicar que el gen *ycf1* no tiene la capacidad de discriminar a *G. turneri* de los grupos externos.

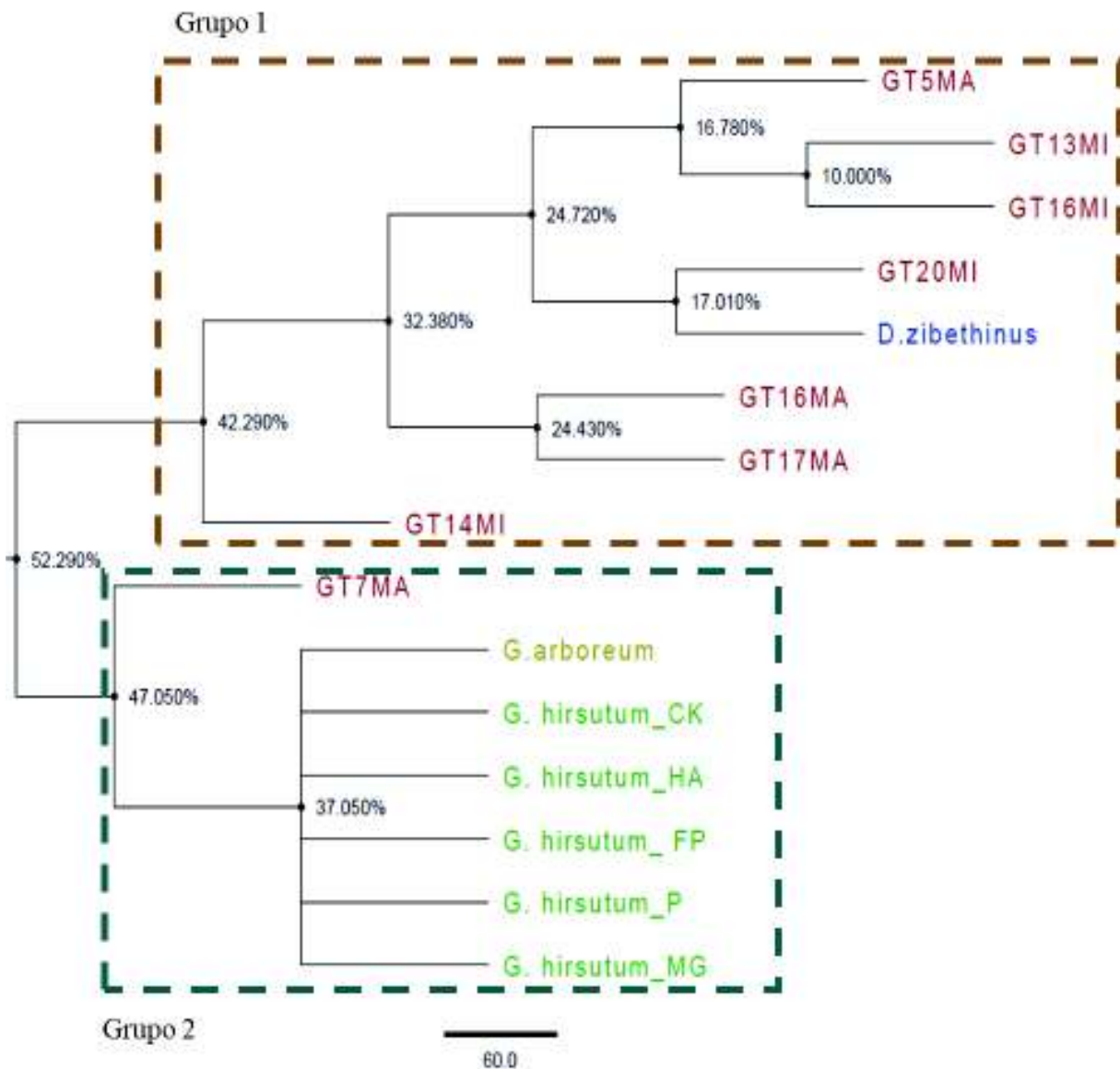


Figura 15. Árbol de distancias genéticas obtenido por UPGMA usando secuencias del gen *ycf1* de *G. turneri*, *G. hirsutum*, *G. arboreum* y *D. zibethinus*.

Las secuencias de los genes concatenados se utilizaron para construir arboles de distancias genéticas por el método UPGMA. En el árbol de distancias genéticas usando las secuencias concatenadas de *rbcL* y *matK*, se observa la formación de tres grupos. El grupo 1 está formado por cinco individuos de *G. turneri* y las especies *G. hirsutum* y *G. arboreum*. El grupo 2 está integrado por tres individuos de *G. turneri* (Figura 16). Los grupos 1 y 2 están agrupados, lo cual indica que hay menos diferencias genéticas entre los grupos. Por otro lado, la especie *D. zibethinus* forma un grupo aislado (grupo 3) (Figura 16).

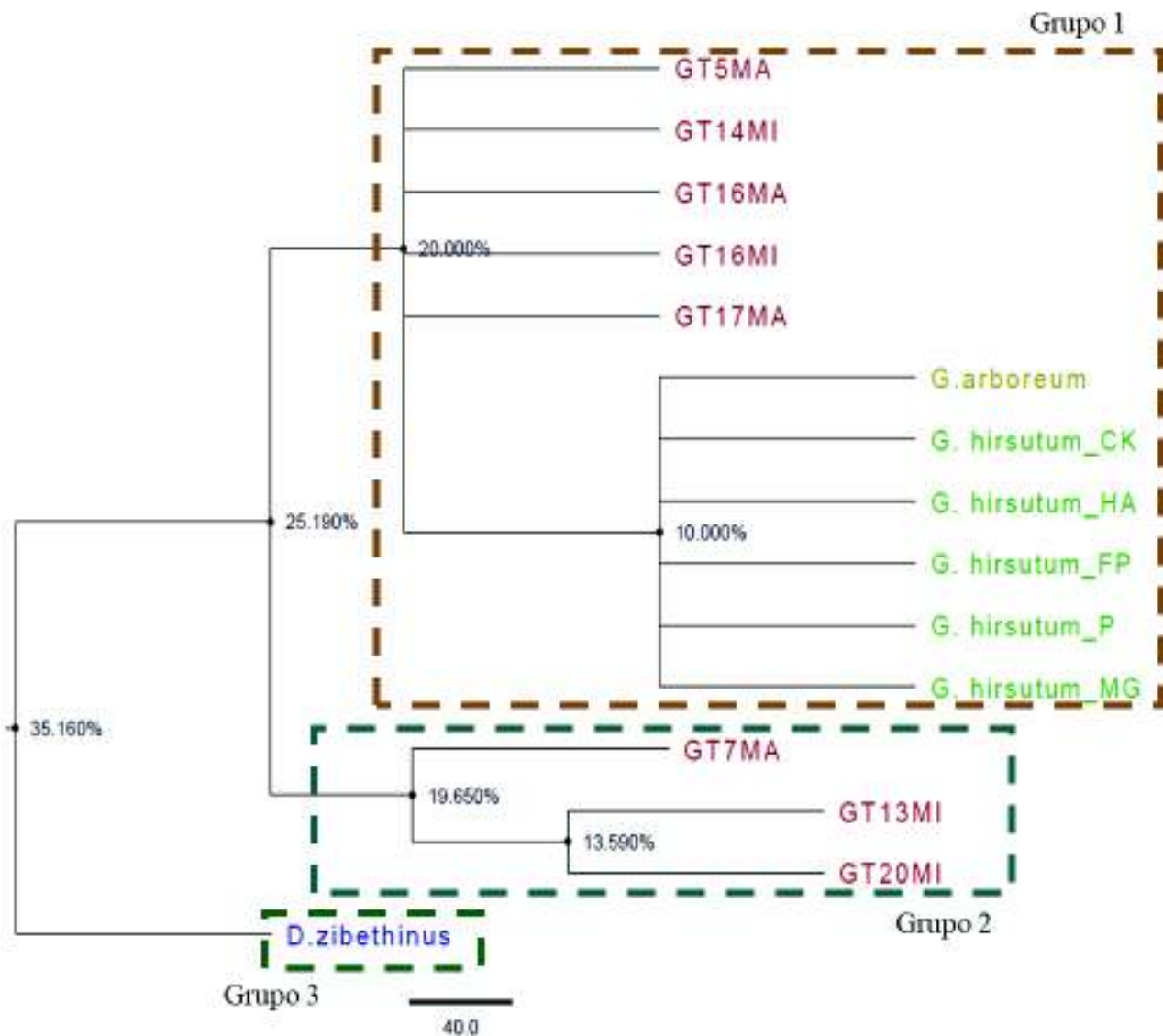


Figura 16. Árbol de distancias genéticas obtenido por UPGMA usando secuencias de los genes *rbcL* y *matK* de *G. turneri*, *G. hirsutum*, *G. arboreum* y *D. zibethinus*.

En el árbol de distancias genéticas usando las secuencias de los genes concatenados *rbcl* y *ycf1* se pueden observar dos grupos, uno formado por los individuos de *G. turneri* y *D. zibethinus* (grupo 1) y otro por las especies *G. hirsutum* y *G. arboreum* (grupo 2) (Figura 17). Esta misma topología se observó en los árboles de distancias genéticas usando la combinación de las secuencias de los genes *matK* y *ycf1* (Figura 18) y la combinación de los tres genes (*rbcl*, *matK* y *ycf1*) (Figura 19).

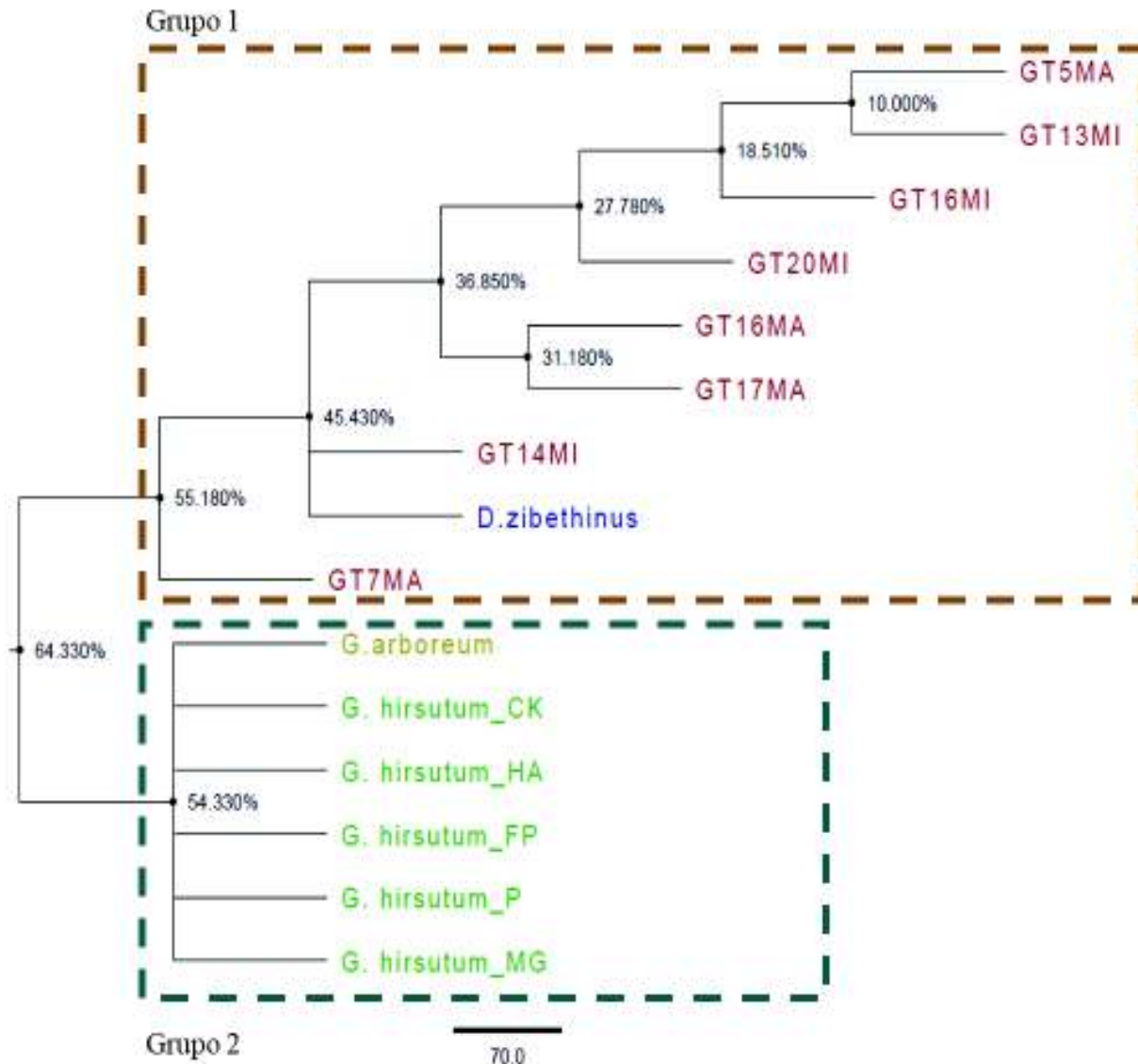


Figura 17. Árbol de distancias genéticas obtenido por UPGMA usando secuencias de los genes *rbcl* y *ycf1* de *G. turneri*, *G. hirsutum*, *G. arboreum* y *D. zibethinus*.

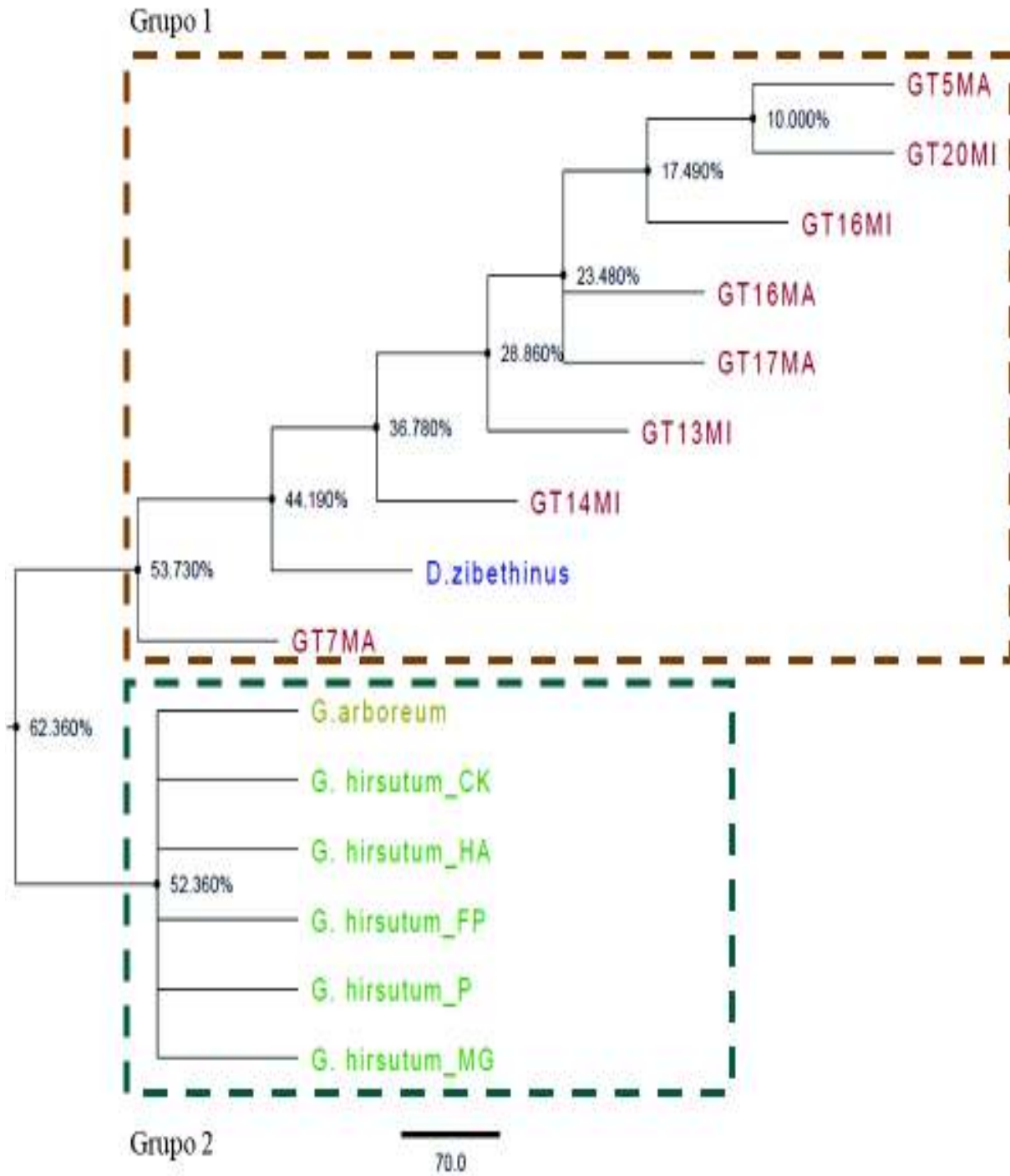


Figura 18. Árbol de distancias genéticas obtenido por UPGMA usando secuencias de los genes *matK* y *ycf1* de *G. turneri*, *G. hirsutum*, *G. arboreum* y *D. zibethinus*.

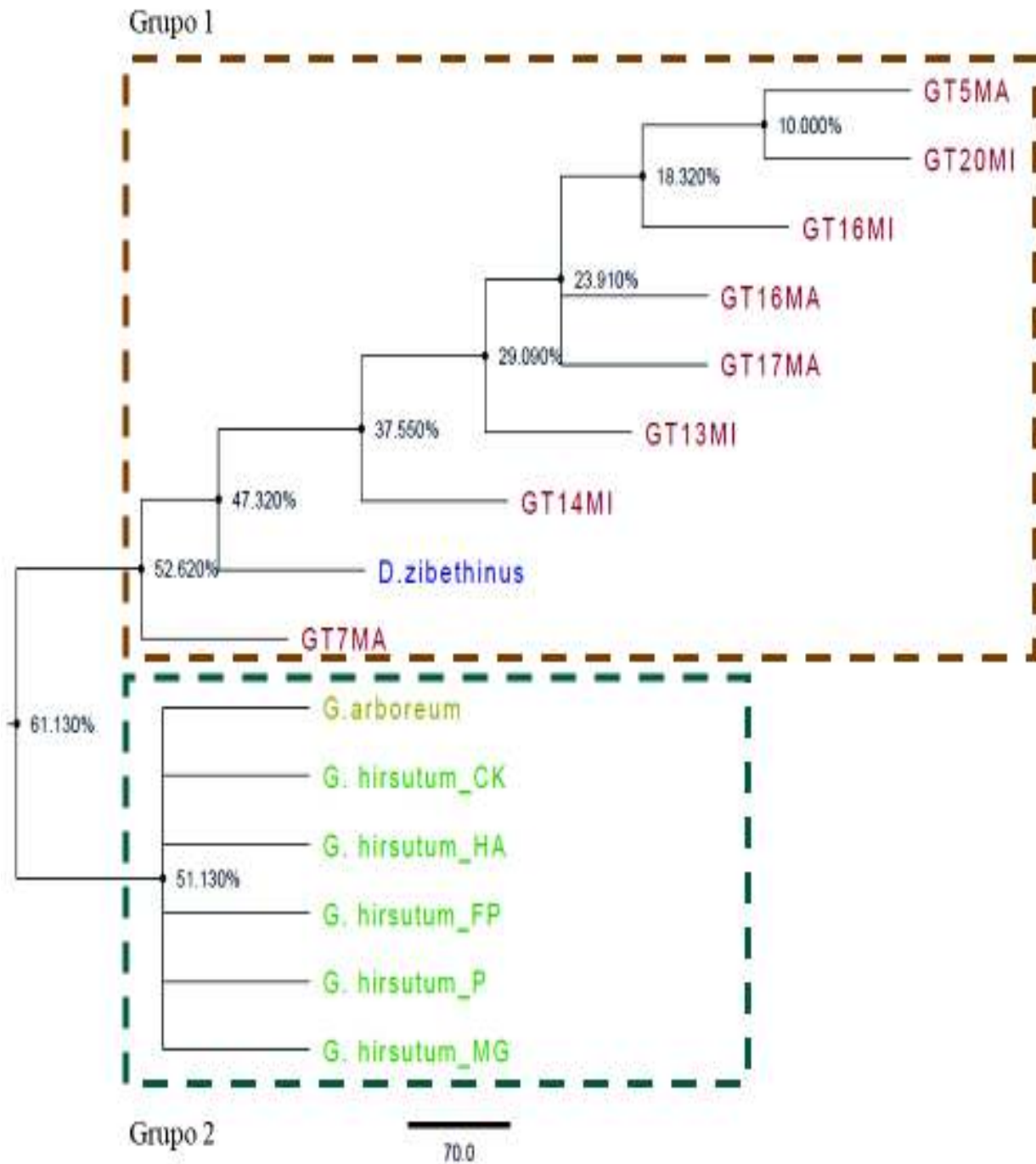


Figura 19. Árbol de distancias genéticas obtenido por UPGMA usando secuencias de los genes *rbcl*, *matK* y *ycf1* de *G. turneri*, *G. hirsutum*, *G. arboreum* y *D. zibethinus*.

V.6 Modelo de distribución potencial de *G. turneri*

V.6.1 Descripción de tipo de clima y suelo de la distribución geográfica actual de *G. turneri*

El algodón silvestre *G. turneri* es una especie nativa del estado de Sonora. Esta especie se distribuye en un área limitada en la costa del municipio de Guaymas. De acuerdo con los datos de ocurrencia y los datos de clima y suelo del estado de Sonora, las poblaciones de *G. turneri* se distribuyen en áreas que presentan un clima muy seco, con régimen de lluvias en veranos, con 5-10.2% de lluvia invernal, una temperatura media anual (TMA) mayor a los 22°C y una temperatura media mínima (TMMF) menor a 18°C.

En cuanto al suelo, los individuos de *G. turneri* se distribuyen en cuatro tipos de suelo: regosol eutrítico (textura gruesa), litosol (textura gruesa), xerosol haplico (textura mediana) y vertisol crómico (textura mediana).

V.6.2 Distribución potencial de *G. turneri*

Las variables utilizadas para modelar la distribución potencial de *G. turneri* son: elevación (MED), pendiente y aspecto (orientación) a una resolución de 30 m. El modelo de distribución potencial obtenido por el programa MaxEnt versión 3.4 muestra áreas idóneas, de acuerdo con las variables utilizadas, para la presencia de la especie *G. turneri* a lo largo del litoral del estado de Sonora siendo el municipio de Guaymas el lugar donde se presenta mayormente dichas áreas (Figura 20 y 21). Las áreas de distribución potencial de la especie ocupan el 22.83% del litoral del estado de Sonora (considerando una distancia de incidencia de 10 km).

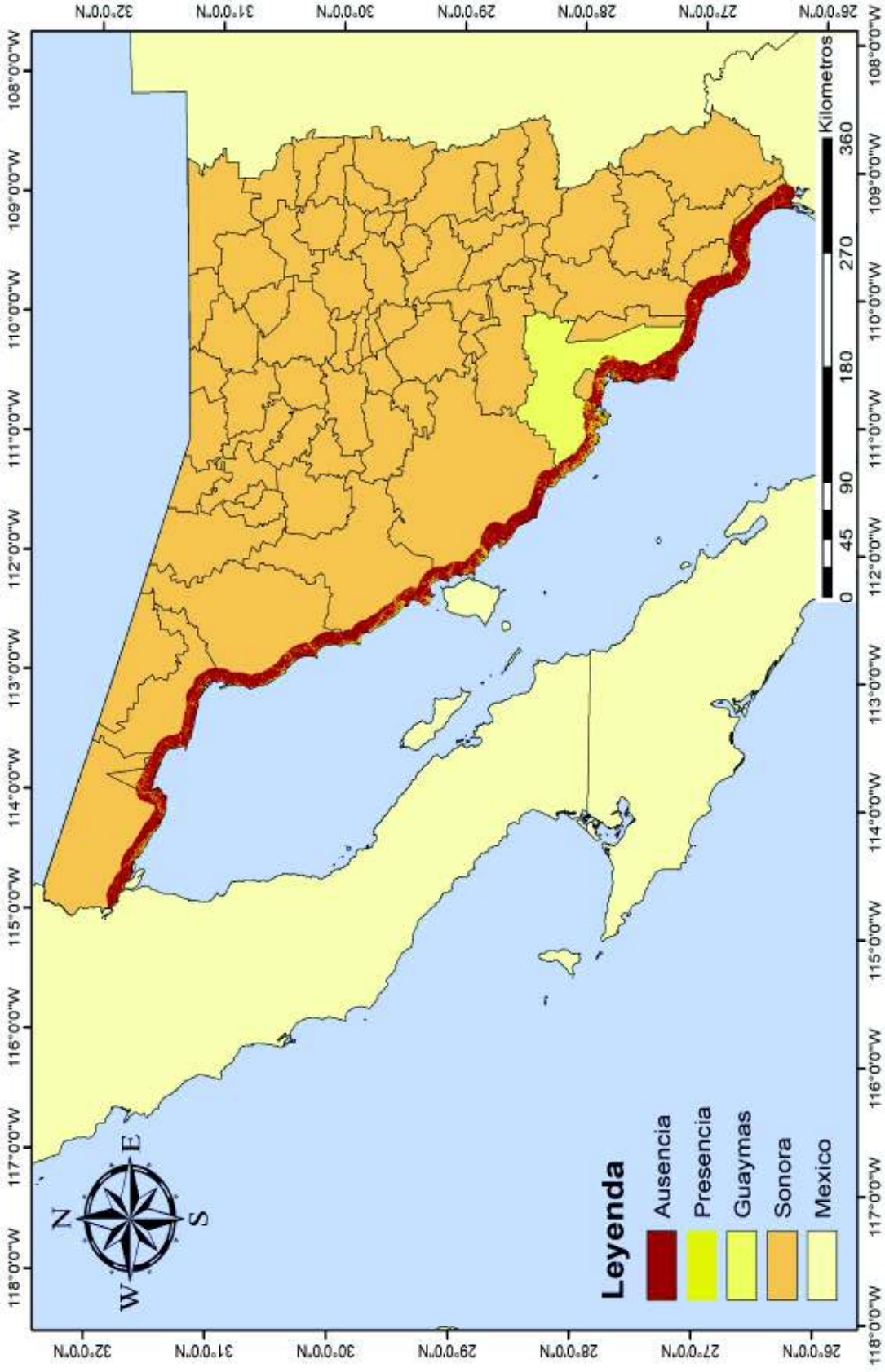


Figura 20. Mapa de distribución potencial de *G. turneri* en el litoral del estado de Sonora.

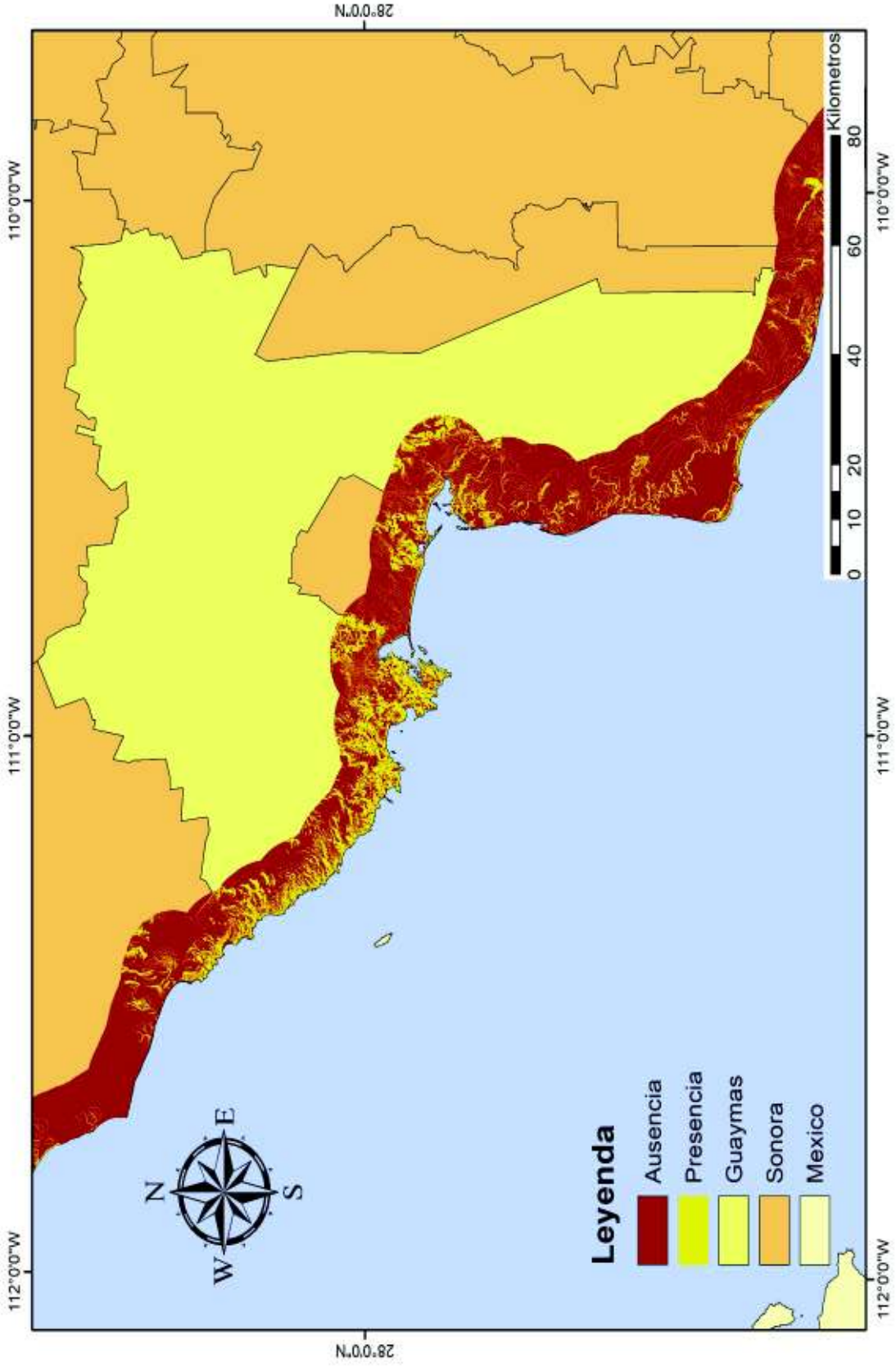


Figura 21. Mapa de distribución potencial de *G. turneri* en el litoral del estado de Sonora. Vista en el municipio de Guaymas.

El modelo de distribución potencial presentó un valor de AUC (área bajo la curva generado por el ROC) de 0.985, lo que indica un buen ajuste del modelo y por lo tanto predice bien la distribución de la especie. El análisis de contribución de las variables indica que todas las variables contribuyen en la predicción de la distribución potencial de la especie, siendo la pendiente la variable que presenta mayor contribución en el modelo con un 58.6% (Tabla 22)

Tabla 22. Porcentaje de contribución de las variables en el modelo de distribución potencial de *G. turneri*.

Variable	Porcentaje de contribución (%)
Pendiente	58.6
Elevación	28.4
Aspecto (orientación)	13

La prueba de Jackknife indica que la variable (por si misma) que presenta más información útil y que predice de manera más efectiva la distribución de los datos, en cuanto a los datos de entrenamiento; de prueba y valores de la AUC, es la pendiente. Por otro lado, la variable que es menos informativa, por si misma, es la elevación (Figura 22).

V.6.3 Distribución potencial con datos de clima y suelo de la distribución geográfica actual de *G. turneri*

Para optimizar la delimitación de las áreas de distribución potencial de *G. turneri* en el litoral del estado de Sonora, se incorporaron los datos de clima y suelo de la distribución geográfica actual de la especie. De esta manera las áreas donde concuerda lo predicho en el modelo de distribución potencial obtenido de MaxEnt versión 3.4 con los datos de clima y suelo representarían las áreas más idóneas para la presencia de *G. turneri* en el litoral del estado de Sonora (Figura 23 y 24). De acuerdo con estos datos, las áreas más idóneas para la distribución de *G. turneri* se encuentran en la zona sur del litoral del estado de Sonora (considerando una distancia de incidencia de 10 km) (Figura 23). Los datos de ocurrencia de *G. turneri* se distribuyen dentro de las áreas idóneas del modelo de distribución potencial (Figura 25 y 26).

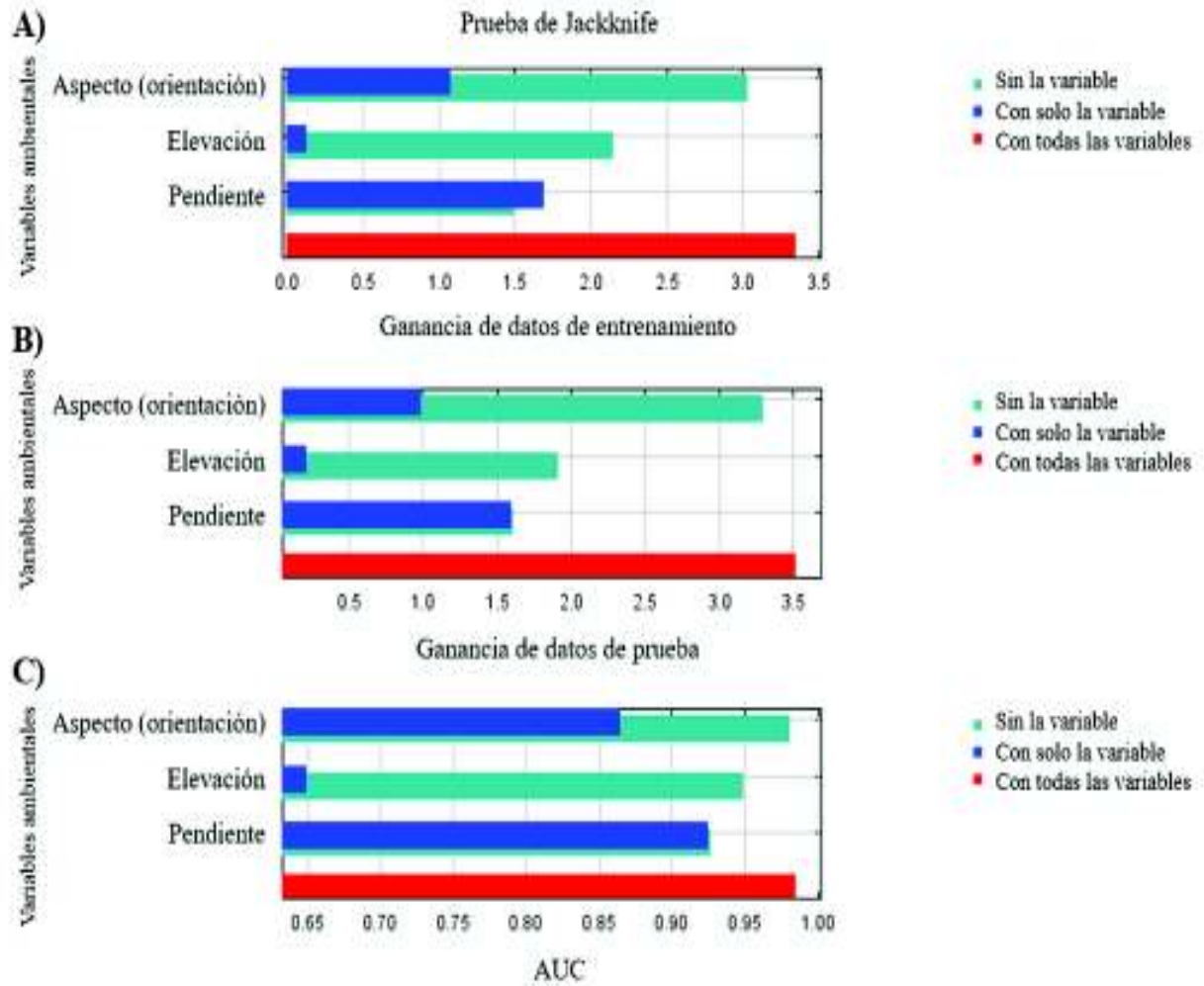


Figura 22. Prueba de Jackknife. A) Prueba con datos de entrenamiento, B) prueba con datos de prueba (datos del modelo) y C) prueba con AUC.

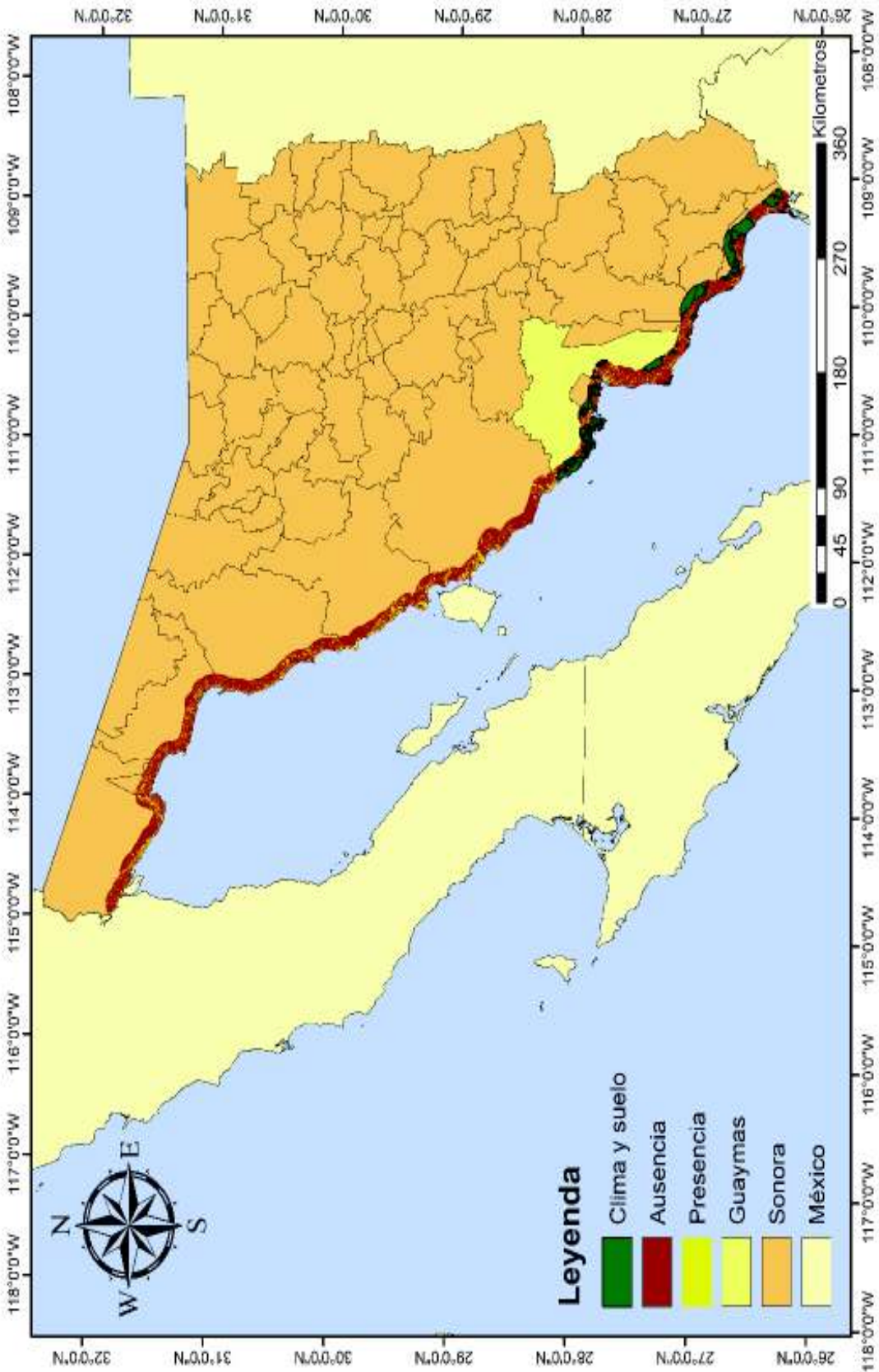


Figura 23. Mapa de distribución potencial de *G. turneri* y datos de clima y suelo en el litoral del estado de Sonora.

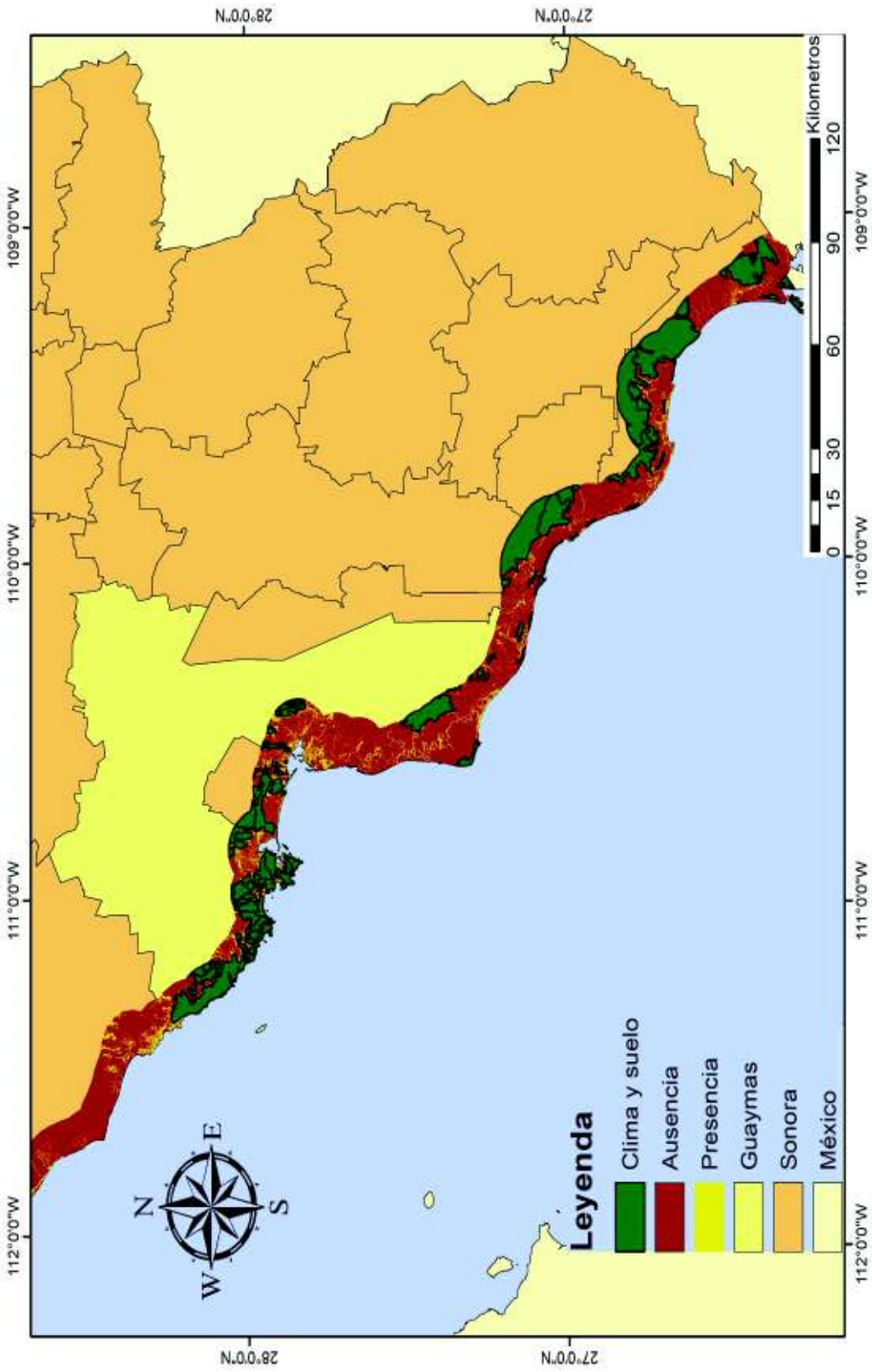


Figura 24. Mapa de distribución potencial de *G. turneri* y datos de clima y suelo en el litoral del estado de Sonora. Vista en áreas donde concuerdan los datos.

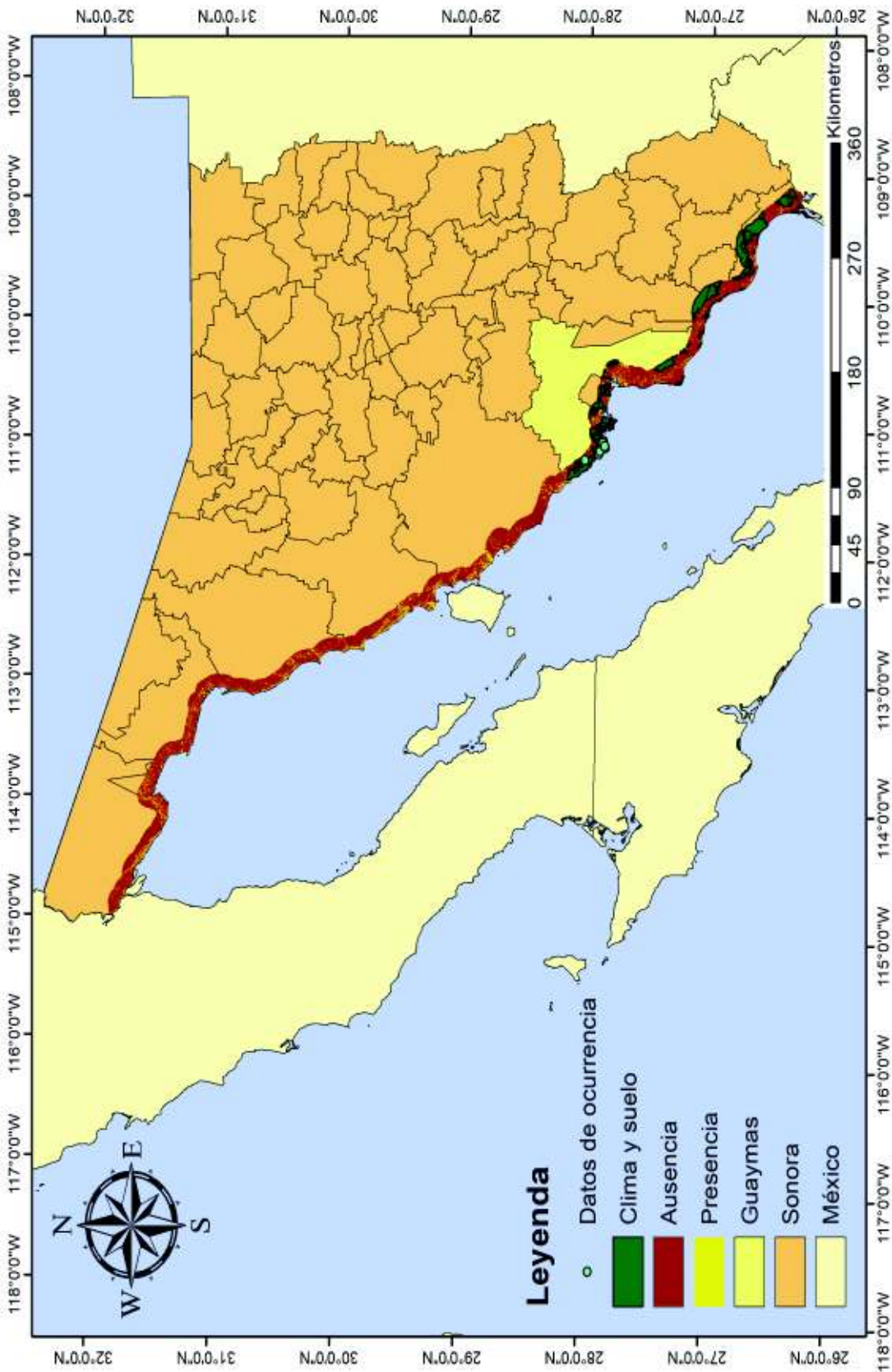


Figura 25. Mapa de distribución potencial de *G. turneri* con datos de ocurrencia, clima y suelo en el litoral del estado de Sonora.

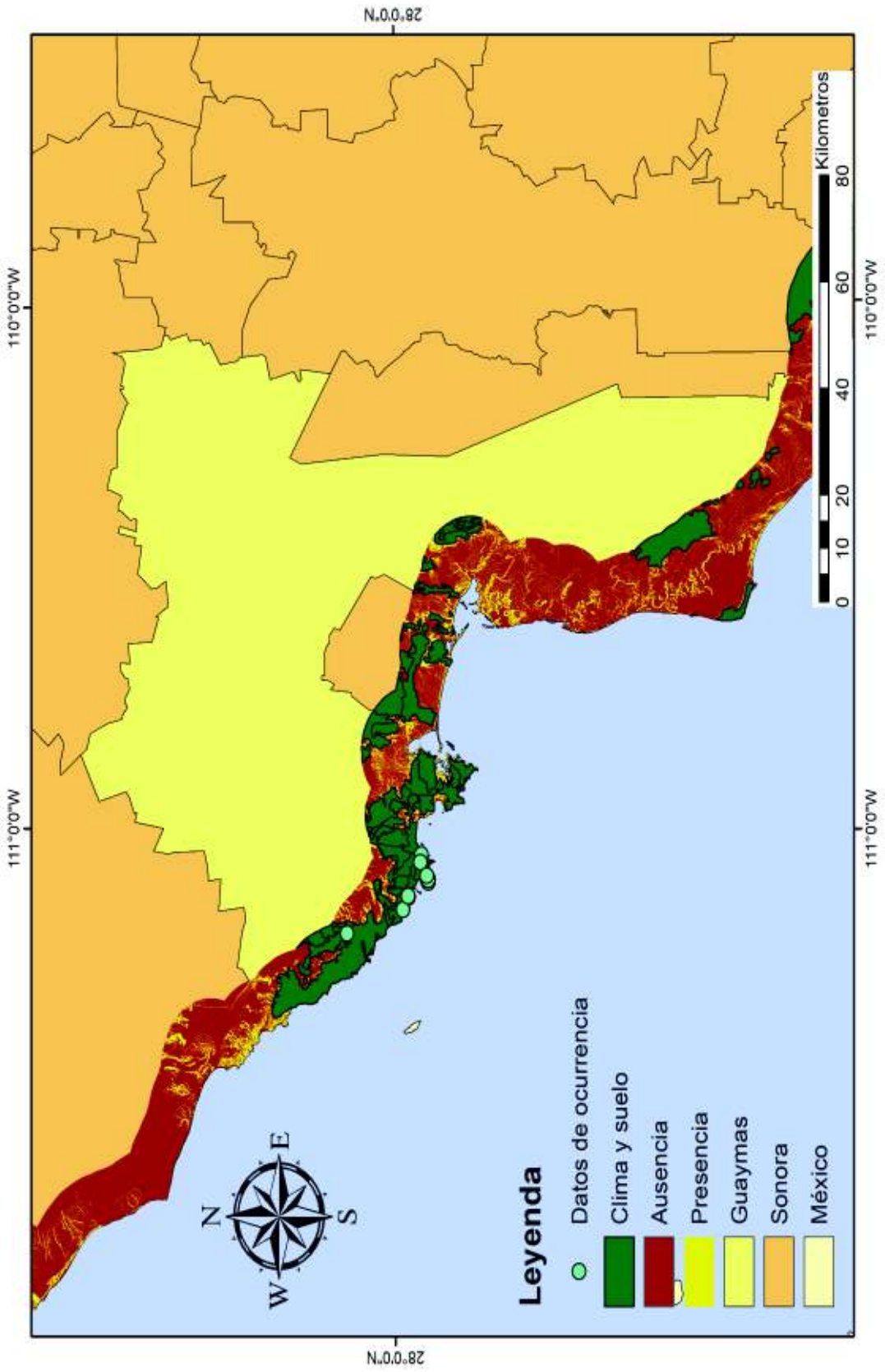


Figura 26. Mapa de distribución potencial de *G. turneri* con datos de ocurrencia, clima y suelo en el litoral del estado de Sonora. Vista en el municipio de Guaymas.

VI. DISCUSIÓN

La semilla de algodón tiene un recubrimiento que varía de fibras cortas, rígidas y densas hasta fibras finas y blancas (Wendel *et al.*, 2010). Las semillas de las especies silvestres diploides del género *Gossypium* presentan diversos tipos de pubescencia, la fibra producida por estas especies es corta (1-10 mm de longitud generalmente) y se adhiere firmemente a la semilla en la mayoría de las especies (Applequist *et al.*, 2001). Las semillas del algodón silvestre *G. turneri* producen fibras cortas unidas a la superficie que se ven como una pubescencia comprimida y, por lo tanto, es poco probable que sean de interés para la producción de fibra comercial. Este tipo fibra o pubescencia se ha descrito y observado en otros algodones silvestres diploides como *G. laxum*, *G. lobatum*, *G. trilobum*, *G. armourianum*, *G. davidsonii*, *G. longicalyx*, *G. anomalum*, *G. sturtianum* y *G. raimondii* (Applequist *et al.*, 2001; Ulloa 2014; Gil y López 2015; López y Gil 2017), mientras que, esta característica no se ha observado en especies de algodón tetraploide como *G. barbadense* (López *et al.*, 2018).

Los valores obtenidos del tamaño de la semilla de *G. turneri*, mostraron ser de un mayor tamaño que las mediciones reportadas previamente en *G. turneri* y otros algodones silvestres por Ulloa (2014). Este autor ha reportado previamente valores de longitud (L) y ancho (A) de 3.8 mm y 1.8 mm, respectivamente para *G. turneri*, mientras que los valores obtenidos en el presente trabajo fueron de 8.80 mm y 4.83 mm, respectivamente, lo que indica un tamaño mayor. En un futuro, sería de gran relevancia documentar si el tamaño de las semillas de *G. turneri* varía entre las tres poblaciones conocidas. Además, las semillas de *G. turneri* son más grandes que otras semillas de algodón diploide como *G. davidsonii*, *G. harknessii* y *G. thurberi* (Ulloa 2014), pero son similares a las semillas del algodón cultivado *G. barbadense* (López *et al.*, 2018). Las fibras de algodón son tricomas que se diferencian durante el desarrollo de la semilla y cada fibra se forma a partir de una sola célula (Zhang *et al.*, 2008). Las fibras cortas unidas a las semillas de *G. turneri* mostraron una longitud media de 0.97 mm, siendo la fibra más corta en comparación con especies cultivadas como *G. barbadense*, cuya fibra mide hasta 13.061 mm (Lopez *et al.*, 2018). Esto confirma por qué esta especie tiene un bajo potencial para la producción de fibra comercial. En otros algodones silvestres se ha reportado una longitud de fibra de hasta 10 mm (Applequist *et al.*, 2001). Applequist *et al.* (2001) compararon el desarrollo

de la fibra en algodón silvestre y cultivado, en su trabajo evaluaron el crecimiento de la fibra desde el día de la floración (por medio de la observación de los óvulos) hasta la madurez (desarrollo de semillas). Los autores reportaron que los algodones diploides silvestres, *G. davidsonii*, *G. raimondii*, *G. sturtianum* y *G. longicalyx*, presentaron curvas de crecimiento de las fibras similares y alcanzaron una longitud final aproximadamente a las dos semanas post-antesis (Applequist *et al.*, 2001). Para las especies *G. davidsonii*, *G. sturtianum* y *G. longicalyx*, reportaron que la longitud final de la fibra fue de menos de 5 mm, mientras que, para la especie *G. raimondii* fue de 10 mm de longitud. Además, individuos silvestres de las especies *G. arboreum* y *G. herbaceum* se reportó una longitud de fibra de entre 15-20 mm. Para las especies cultivadas, *G. hirsutum*, *G. arboreum* y *G. herbaceum*, se reportó una longitud de fibra de entre 20-40 mm después de tres semanas post-antesis (Applequist *et al.*, 2001). La diferencia en la longitud de la fibra entre las especies silvestres y cultivadas se puede deber al proceso de domesticación (Applequist *et al.*, 2001).

A pesar de que *G. turneri* tiene bajo potencial para la producción de fibra comercial, la fibra que produce las semillas de esta especie podría tener otros usos. Las principales etapas del desarrollo de la fibra son iniciación, elongación, deposición celular secundaria (síntesis de celulosa) y maduración. Durante el desarrollo de la testa de semillas, células protodérmicas seleccionadas se alargan en fibras largas o cortas que tienen un desarrollo extenso de la pared secundaria (Vigil *et al.* 1996; Zhang *et al.* 2008). Estas fibras cortas podrían ser las observadas en las semillas de *G. turneri* y las descritas en otras especies de algodón silvestre. En las semillas de algodón cultivado, la fibra se clasifica en dos tipos: fibra larga y fina y fibra corta y rizada. Cabe mencionar, que se sugiere que las fibras de las especies silvestres y cultivadas son homologas. Después de remover las fibras largas y finas para su uso comercial, el remanente de este tipo de fibra la fibra corta y rizada en la semilla (llamadas linters) se pueden usar para producir algodón absorbente, papeles especiales, nitrato de celulosa y acetato (Morais *et al.*, 2012; Bardak y Bölek, 2016).

La estructura de las semillas maduras consta de tres componentes: embrión (formado como un eje embrionario y cotiledones), endospermo (a veces perispermo) y cubierta de semilla (testa) (Boesewinkle y Bouman, 1984; Sliwinska y Bewley, 2014). En las semillas de *G. turneri*, se pudo identificar el embrión y la testa de la semilla, mientras que el endospermo y el

perispermo no se pudieron identificar o distinguir claramente; por lo que solo se estudiaron el embrión y testa de semillas. Se han realizado estudios sobre la morfología de las semillas en otras especies, pero en el algodón son escasos.

El gossipol es un compuesto fenólico característico producido por glándulas pigmentarias en tallos, hojas, botones florales y semillas de algodón. Las glándulas pigmentarias son pequeñas manchas negras distribuidas por toda la planta de algodón, aunque su mayor concentración se encuentra en las semillas (Gadelha *et al.*, 2014). En las semillas de *G. turneri*, las glándulas de gossipol se observaron solo en el embrión. Se ha observado la presencia de glándulas de gossipol en el embrión de semillas en otras especies de algodón como *G. hirsutum* (Benbouza *et al.*, 2002; Bolek *et al.*, 2010; Janga *et al.*, 2018; Kolahi *et al.*, 2019), *G. raimondii* y *G. thurberi* (Benbouza *et al.*, 2002). El gossipol es el compuesto predominante formado en la semilla de algodón que actúa como un mecanismo de defensa contra insectos, hongos y bacterias, que también produce efectos tóxicos en animales no rumiantes y humanos (Liu *et al.*, 2012; Gadelha *et al.*, 2014; Kolahi *et al.*, 2019). Du *et al.* (2004) evaluaron el efecto tóxico del gossipol de tres cultivares de algodón (con un contenido de gossipol de 0.0601%, 0.4403% y 1.116%) en el desarrollo, reproducción y supervivencia de *Aphis gossypii* (pulgón de algodón) respectivamente. Aunque no hubo diferencias significativas en el desarrollo o la supervivencia entre los pulgones criados entre los tres cultivares, la longevidad y la fertilidad de los adultos se redujeron significativamente cuando se criaron en el cultivar con mayor gossipol, lo que indica un efecto tóxico claro (Du *et al.*, 2004). Stipanovic *et al.* (2006) evaluaron el efecto del gossipol en *Helicoverpa zea* a través de dietas que variaron en niveles de gossipol de 0.16%, 0.20% y 0.24%. En su trabajo, reportaron que el peso de las pupas de las larvas, los días hasta la pupación y la supervivencia se vieron negativamente afectados por todas las dietas de gossipol en comparación con la dieta control (Stipanovic *et al.*, 2006). En conjunto, la evidencia disponible en algodón indica que el gossipol actúa como un mecanismo de defensa contra las plagas, y el hallazgo de las glándulas de gossipol en el embrión de *G. turneri* sugiere que puede funcionar como protección contra los granívoros. Por lo que sería de gran relevancia estudiar la posible depredación o consumo de semillas de *G. turneri* para evaluar si el gossipol presente en el embrión juega un papel de defensa contra los granívoros.

La citogenética ha hecho grandes contribuciones al conocimiento actual sobre la taxonomía y la filogenia del género *Gossypium* (Konan *et al.* 2009). Entre las contribuciones realizadas por los estudios citogenéticos se encuentra el descubrimiento de dos niveles de ploidía en el algodón, que divide las especies de *Gossypium* en diploides ($2n = 26$) y tetraploides ($2n = 52$) (Konan *et al.*, 2009). *G. turneri* es un algodón silvestre que actualmente se clasifica como una especie diploide (Ulloa 2014; Wang *et al.* 2018); sin embargo, hasta donde sabemos, ningún estudio previo ha documentado su número de cromosomas y su morfología. En el presente estudio documentamos que el algodón silvestre *G. turneri* tiene 26 cromosomas en total ($2n = 26$), por lo que es un algodón diploide.

Los cromosomas observados fueron principalmente cromosomas metacéntricos (m), submetacéntricos (sm) y subtlocéntricos (st). Esta morfología cromosómica se ha observado en otras especies de algodón diploide como *G. davidsonii*, *G. thurberi* (Nie y Mao-Xue 1985), *G. herbaceum* y *G. arboreum* (Edward 1977; Nie y Mao-Xue 1985; Omran *et al.* 2007) y especies de algodón tetraploide como *G. hirsutum* y *G. barbadense* (Nie y Mao-Xue 1985; Shedai *et al.* 2008). Esto indica que la morfología cromosómica es similar entre las especies de algodón.

La longitud total de los cromosomas (LTC) de *G. turneri* fue de $44.83 \mu\text{m}$ y el tamaño de los cromosomas varió de 1.10 a $2.45 \mu\text{m}$. En comparación con otras especies de algodón, el tamaño de los cromosomas de *G. turneri* es pequeño. Shedai *et al.* (2008) estudiaron el cariotipo de 9 cultivares de *G. hirsutum* y reportaron que el tamaño de los cromosomas varió de 0.82 a $4.30 \mu\text{m}$ (Shedai *et al.* 2008). Omran *et al.* (2007) reportaron que el tamaño de los cromosomas en 42 cultivares de *G. herbaceum* varió de 1.66 a $3.89 \mu\text{m}$ (Omran *et al.* 2007), siendo los cromosomas ligeramente más largos que en *G. turneri*. Estas observaciones también se realizaron de acuerdo con el grupo genómico del algodón. Basado en apareamiento cromosómico y la distribución geográfica, las especies de algodón diploide se agrupan en ocho grupos genómicos: AA, BB, CC, DD, EE, FF, GG y KK; mientras que las especies de algodón tetraploide presentan el grupo genómico AADD (Chen *et al.*, 2018; Shim *et al.*, 2018). Se ha reportado que *G. turneri* pertenece al grupo genómico D, mientras que *G. herbaceum* y *G. hirsutum* al grupo genómico A y AD respectivamente (Wang *et al.* 2018). En el trabajo realizado por Katterman y Ergle (1970) reportaron un tamaño de cromosoma pequeño para el grupo

genómico D y un tamaño grande para el grupo genómico A (Katterman y Ergle 1970). Estos hallazgos concuerdan con nuestros resultados en el presente estudio.

El índice de asimetría descrito por Stebbins (1971) se compone de doce categorías. Estas categorías se dividen en tres grados de diferencia (A-C) entre el cromosoma más grande y el más pequeño del complemento y cuatro grados (1-4) con respecto a la proporción de cromosomas con una relación de brazos $<2:1$ (Altinordu *et al.* al.2014). Según las categorías establecidas por Stebbins (1971), los cariotipos se clasifican de simétricos (primeras categorías a partir de 1A) a asimétricos (últimas categorías que terminan en 4C). *G. turneri* ocupó las categorías 2A y 2B del índice de asimetría descrito por Stebbins (1971), lo que indica que los cromosomas son relativamente simétricos. Se han reportado diferentes categorías en otros algodones; por ejemplo, Shedai *et al.* (2008) reportaron un índice de asimetría de 2A, 3A y 3B en varios cultivares de *G. hirsutum*. Esto significa que hay una variación en la asimetría cromosómica entre los cultivares de algodón.

Por otro lado, en el año 2003, el código de barras de ADN se introdujo como una herramienta para la identificación de especies por medio del uso de regiones cortas de ADN (aproximadamente 650 pares de bases), variables y estandarizadas para su uso. Para que una región de ADN sea considerada como un código de barras de ADN, dicha región debe cumplir con los siguientes criterios: poseer suficiente variabilidad genética a nivel de especie, longitud de secuencia corta y regiones flanqueantes conservadas (Bafeel *et al.*, 2011; Tahir *et al.*, 2018). En plantas, los códigos de barras de ADN comunes propuestos han sido matK, rbcL, ITS, rpoB, rpoC1, trnH-psbA, atp-atpH y psbK-psbI. Debido a la capacidad de discriminación y limitaciones de cada marcador, el Consorcio de Barras de la Vida (CBOL) recomendó la combinación de rbcL (subunidad grande de la ribulosa-1, 5-bifosfato carboxilasa/oxigenasa) y matK (maturasa K) como código de barras de ADN para plantas (Bafeel *et al.*, 2011; Tahir *et al.*, 2018). Para describir el código de barras de ADN de la especie *G. turneri*, se utilizaron regiones de los genes rbcL, matK y ycf1. El gen ycf1 fue descrito recientemente como un candidato para código de barras de ADN en plantas debido a que presenta una gran variabilidad y mayor poder de discriminación que matK, rbcL y trnH-psbA (Dong *et al.*, 2015); por lo que se optó por probar su capacidad de discriminación en el presente trabajo.

El porcentaje de éxito de amplificación por medio de PCR y secuenciación de las regiones de los genes *rbcL*, *matK* y *ycf1* en individuos de la especie *G. turneri* fue del 100%. En otras especies de plantas, el éxito de amplificación y secuenciación es variado. Bafeel *et al.* (2011) compararon el éxito de amplificación de primers universales de *rbcL* (*rbcL*-A y *rbcL*-B) y *matK* (*matK*-A y *matK*-B) en 26 especies de plantas de zonas áridas de diferentes familias. En su trabajo reportaron un porcentaje de éxito de amplificación de 88% (23 especies) para ambos primers de *rbcL* y del 27% (7 especies) y 69 % (8 especies) para *matK*-A y *matK*-B (Bafeel *et al.*, 2011). Wattoo *et al.* (2016) evaluaron la amplificación y análisis de secuencias de *rbcL* y *matK* (para código de barras de ADN) en las especies *Solanum nigrum*, *Euphorbia helioscopia* y *Dalbergia sissoo*, obteniendo productos de PCR para las tres especies con los dos marcadores (Wattoo *et al.*, 2016). Tahir *et al.* (2018) evaluaron la universalidad del código de barras de ADN en 30 especies de plantas medicinales del desierto pertenecientes a las familias Fabaceae y Poaceae usando los marcadores *rbcL*, *matK* e ITS. El porcentaje de éxito de amplificación reportado para *rbcL* y *matK* en las especies pertenecientes a la familia Fabaceae fue de 100% y 71% respectivamente, mientras que, para las especies de la familia Poaceae fue de 100% para ambos genes. En cuanto al porcentaje de secuenciación, se reportó un 100% para todas las especies estudiadas (Tahir *et al.*, 2018). En el caso del género *Gossypium*, Ashfaq *et al.* (2013) evaluaron la capacidad de discriminación entre especies de algodón usando tres códigos de barra de ADN (*rbcL*, *matK* e ITS) en 190 especímenes de 25 especies de algodón (20 diploides y 5 tetraploides) y reportaron que amplificaron 175 y 188 especímenes para *rbcL* y *matK* respectivamente (Ashfaq *et al.*, 2013). En cuanto al gen *ycf1*, se ha reportado diferentes porcentajes de éxito de amplificación. Dong *et al.* (2015) analizaron 368 muestras de plantas provenientes de varias familias de briofitas (34 muestras), monilofitas (93 muestras), gimnospermas (22 muestras) y angiospermas (219 muestras) usando el gen *ycf1* y reportaron un porcentaje de éxito de amplificación de 94.12%, 82.80%, 90.91% y 98.17% respectivamente. Lo anterior es de gran importancia debido a que uno de los criterios para considerar una región de ADN como código de barras de ADN es que posea regiones flanqueantes conservadas para el diseño de primers universales y funcionen para todas las especies.

A pesar de la variación en el éxito de amplificación de código de barras de ADN en plantas, la longitud de los productos de PCR entre las especies pueden presentar poca variación.

En los individuos analizados de *G. turneri*, la longitud de las secuencias (después de la edición y alineamiento de secuencias forward y reverse) vario de 571 a 590 pb para *rbcL*; de 567 a 801 pb para *matK* y de 265 a 349 pb para el gen *ycf1*. Ashfaq *et al.* (2013) mencionan la obtención de productos de PCR de 552 pb con los primers de *rbcL*, mientras que, con los primers de *matK* fragmentos de 773 pb para varias especies de algodón (Ashfaq *et al.*, 2013), siendo estos resultados similares a los obtenidos en *G. turneri*. En otras especies, se ha reportado fragmentos amplificados con longitud semejantes, es así que, Tahir *et al.* (2018) reportaron una longitud de secuencias alineadas de 553 pb para *rbcL* y 844 pb para *matK* en especies de la familia Fabaceae, mientras que, para las especies de la familia Poaceae se reportó una longitud de 553 pb para *rbcL* y 772 pb para *matK* (Tahir *et al.*, 2018). En cuanto al gen *ycf1*, debido a que recientemente se consideró como un candidato para código de barras de ADN son escasos los estudios realizados donde se evalúa la capacidad de discriminación de este marcador. Huan *et al.* (2018) reportaron una longitud de secuencias de 902 a 962 pb para cuatro especies de plantas de la familia Magnoliaceae usando el marcador *ycf1* como código de barras de ADN, siendo una gran diferencia con lo obtenido en el presente estudio. Aunque la variación en la longitud de las secuencias sea mínima, para ciertos marcadores, puede ser suficiente para poder discriminar entre las especies.

En plantas, hasta el momento no se ha encontrado una región de ADN para código de barras de ADN que tenga la misma capacidad de discriminación que el citocromo c oxidasa I (COI) en animales. El CBOL recomendó la combinación de *rbcL* y *matK* como código de barras de ADN. Sin embargo, varios estudios mostraron que el uso de estos marcadores no presenta suficiente variación para discriminar entre especies en algunas familias de angiospermas por lo cual se propone utilizar otros marcadores (Paz *et al.*, 2011). Esto indica que, en plantas, para la identificación de especies se deben probar varios marcadores de código de barras de ADN y determinar cuál es el más apto para una especie o grupo de especies. Para *G. turneri*, el marcador que presentó mayor capacidad de discriminación entre esta especie y los grupos externos (*G. hirsutum*, *G. arboreum* y *D. zibethinus*) fue *rbcL*. El resultado obtenido concuerda con lo reportado en otras especies de plantas (Maloukh *et al.*, 2017; Fatima *et al.*, 2019). En algodón, Ashfaq *et al.* (2013) reportaron que el marcador que presentó mayor poder de discriminación en 25 especies de algodón (incluyendo especies diploides con el mismo grupo genómico de *G.*

turneri) fue ITS2. Sin embargo, los autores mencionan que ninguno de los códigos de barras de ADN probados en su trabajo pudo diferenciar con éxito a todas las especies de algodón (Ashfaq *et al.*, 2013). Por lo que, en algodón aún no se ha descrito un marcador de código de barras de ADN capaz de diferenciar entre las especies del género. No obstante, en el presente trabajo se encontró que el gen *rbcL* es capaz de discriminar a la especie *G. turneri* de otros algodones. Para valorar más detalladamente la capacidad de discriminación del gen *rbcL* en *G. turneri* se debe considerar evaluar si este gen es capaz de discriminar entre especies filogenéticamente cercanas a *G. turneri*, siendo estas *G. harknessii* y *G. armourianum* (Wendel *et al.*, 2010). Para esta misma especie, el gen que presentó menos capacidad de discriminación de forma individual y combinado fue *ycfl*. La longitud de las secuencias obtenidas para el gen *ycfl* en *G. turneri* fueron menores a lo reportado en otras especies y a los criterios a considerar para seleccionar una región de ADN como código de barras de ADN, por lo que; es posible que los resultados obtenidos con el gen *ycfl* en el presente trabajo sea debido a la longitud de los fragmentos amplificados. En el trabajo realizado por Huan *et al.* (2018) reportaron longitudes de secuencias de 902 a 962 pb para el gen *ycfl* en especies de la familia Magnoliaceae e indicaron que la combinación del gen *ycfl* con otros marcadores (*rbcL*, *matK* y *trnH-psbA*) pudieran usarse como código de barras de ADN para la identificación de especies de plantas de la familia Magnoliaceae (Huan *et al.* 2018). Aunque el gen *ycfl* no pudo discriminar a *G. turneri* de los grupos externos (*G. hirsutum*, *G. arboreum* y *D. zibethinus*) se ha reportado que en otros grupos de plantas ha sido el marcador que ha presentado mayor poder de discriminación entre especies (Dong *et al.*, 2015).

G. turneri es una especie endémica del estado de Sonora, México y su distribución se restringe a las áreas costeras del municipio de Guaymas (Ulloa, 2014; Wegier *et al.*, 2018). La predicción de su distribución potencial, en el litoral del estado de Sonora, realizada en MaxEnt versión 3.4 indica áreas idóneas para la distribución de la especie a lo largo del litoral del estado de acuerdo con los datos de elevación, pendiente y aspecto (orientación); sin embargo, es el municipio de Guaymas el lugar donde se encuentran mayormente dichas áreas. Por consiguiente, esto pudiera corroborar el hecho de que se trata de una especie con un área de distribución restringida al municipio de Guaymas no obstante se necesitaría explorar las áreas

predichas en busca de la especie *G. turneri* para constatar lo obtenido en el modelo y la distribución de la especie.

El género *Gossypium* está constituido por más de 50 especies distribuidas en las regiones tropicales y subtropicales del mundo (Abdurakhmonov *et al.*, 2012; Cai *et al.*, 2015; Shim *et al.*, 2018). Las especies de algodón en México presentan una amplia distribución, desde el noroeste del país en los estados de Sonora, Baja California Sur y Sinaloa hasta el sureste en la Península de Yucatán (Pérez-Mendoza, 2016). De acuerdo con Pérez-Mendoza (2016), esto indica que el género tiene una amplia adaptación al clima y, por lo tanto, puede desarrollarse en diversas condiciones climáticas (Pérez-Mendoza, 2016). Sin embargo, algunas especies diploides de algodón están adaptadas a ciertos ambientes como es *G. davidsonii*, *G. armourianum* y *G. harknessii* al ambiente desértico de Baja California y *G. turneri* y *G. thurberi* al ambiente del noroeste de México (Ulloa *et al.*, 2006). En el caso de *G. turneri*, hasta el momento se conoce muy poco del hábitat de la especie. Con los datos de ocurrencia de *G. turneri* se obtuvo que los individuos de esta especie se localizan en áreas con un clima muy seco, con régimen de lluvias en verano, un porcentaje de lluvia invernal del 5-10.2%, una temperatura media anual (TMA) mayor a los 22°C y una temperatura media mínima (TMMF) menor a 18°C. Por otra parte, los individuos de *G. turneri* se distribuyen en suelos de regosol eutrítico, litosol, xerosol haplico y vertisol crómico. La información obtenida de los datos de ocurrencia es fundamental para determinar el hábitat y distribución de la especie.

En el presente trabajo se logró modelar la distribución potencial de *G. turneri* usando 69 datos de ocurrencia de la especie y las variables de elevación, pendiente y aspecto (orientación). En el trabajo realizado por Wegier-Briuolo (2013) analizaron la distribución actual y áreas de distribución potencial de las especies de algodón diploide que habitan en México. Para ello, se utilizaron datos de CONABIO, ejemplares de herbario y la herramienta GARP (Genetic Algorithm for Rule-set Production). Como resultados obtuvieron los mapas de distribución potencial de 9 de las once especies diploides del país. Sin embargo, no pudieron obtener mapas de la distribución potencial de *G. turneri* y *G. trilobum* debido a la insuficiencia de registros puntuales de las especies, por lo que solo se diseñó el mapa de distribución actual (Wegier-Briuolo, 2013). Por lo tanto, el modelo de distribución potencial creado en el presente trabajo sería el primer acercamiento de este tipo de estudio para la especie *G. turneri*.

Los modelos de distribución de especies determinan la idoneidad de un área por medio de los registros de presencia u ocurrencia e información sobre condiciones ambientales (Mateo *et al.*, 2011). Estudios de modelos de distribución potencial utilizan variables climatológicas como temperatura, precipitación, humedad, isothermalidad, entre otros (Avila-Coria *et al.*, 2014; d'Eeckenbrugge y Lacape, 2014; Palma-Ordaz y Delgadillo-Rodriguez, 2014). Para el modelo de distribución potencial de *G. turneri* se usaron como variables la elevación, pendiente y aspecto (orientación). Por lo que, se utilizaron los datos de clima y suelo obtenidos de los datos de ocurrencia para complementar el modelo de distribución potencial de la especie y delimitar las áreas idóneas considerando las variables de clima y suelo.

La técnica de evaluación Receiver Operating Characteristic (ROC) proporcionó un valor de AUC de 0.985 indicando que el modelo predice correctamente la distribución potencial de *G. turneri*. Al incorporar los datos de clima y suelo de la distribución geográfica actual al resultado del modelo de distribución potencial, las áreas más idóneas para la presencia de la especie serán aquellas donde concuerden la predicción del modelo y los datos de clima y suelo. El siguiente paso por realizar sería explorar las áreas predichas con la presencia de la especie para corroborar la información obtenida debido a que el programa MaxEnt proporciona, de acuerdo con las variables analizadas, los lugares con las condiciones adecuadas para encontrar la especie de acuerdo con los datos de ocurrencia. Dado que los modelos de distribución de especies se basan en factores abióticos para la predecir la distribución potencial, sería de gran relevancia buscar una manera de integrar factores bióticos para obtener un mayor poder de predicción de dichos modelos.

VII. CONCLUSIONES

- El tamaño de las semillas de *G. turneri* analizadas en el presente trabajo fueron más grandes que las descritas previamente para esta especie. Las semillas presentaron una forma ovalada y la testa de las semillas está cubierta por fibras cortas.
- La presencia de gopipol en las semillas se observó únicamente en el embrión.
- El análisis citogenético realizado muestra que la especie *G. turneri* tiene 26 cromosomas ($2n=2x=26$), respaldando los estudios que consideran a *G. turneri* una especie diploide.
- Los cromosomas fueron principalmente metacéntricos (m) (14 cromosomas), submetacéntricos (sm) (11 cromosomas) y subtlocéntricos (st) (1 cromosoma).
- El gen *rbcL* presentó una mayor capacidad de discriminación y funcionó como código de barras entre *G. turneri* y los grupos externos (*G. arboreum*, *G. hirsutum* y *D. zibethinus*). Para el género *Gossypium* no hay un código de barras de ADN que discrimine a todas las especies, sin embargo, para *G. turneri* el gen *rbcL* es un buen código de barras de ADN.
- De acuerdo con los resultados, el gen *ycf1* no logró discriminar a *G. turneri* de los grupos externos (*G. hirsutum*, *G. arboreum* y *D. zibethinus*). La longitud de las secuencias obtenidas con el gen *ycf1* para esta especie fueron menores a lo reportado en otras especies y a los criterios a considerar para la selección de una región de ADN como código de barras de ADN. Por lo que, con nuestros resultados no podemos afirmar si este marcador servirá para *G. turneri*.
- El modelo de distribución potencial de *G. turneri* mostró áreas idóneas para la presencia de la especie a lo largo del litoral del estado de Sonora, siendo el municipio de Guaymas el lugar donde se encuentran más áreas de acuerdo con las variables de elevación, pendiente y aspecto (orientación).
- Los datos de clima y suelo de la distribución geográfica actual de la especie permitieron delimitar mejor las áreas de distribución potencial, aunque no se usaran en el desarrollo del modelo.

- Los resultados obtenidos en el presente estudio brindaron información nueva e importante sobre la biología de *G. turneri* que podría ser útil para implementar estrategias de conservación.

VIII. RECOMENDACIONES

La especie *G. turneri* es un algodón silvestre que posee características valiosas no disponibles en el acervo genético del algodón cultivado, por lo que podría considerarse como un candidato para estudios de mejoramiento del algodón cultivado. Para ello, es necesario realizar estudios moleculares, por ejemplo: análisis de microsatélites (SSR), y genómicos, como sería un análisis de polimorfismo de nucleótido único (SNP) o genotipado por secuenciación (GBS) para determinar la diversidad genética presente en la especie y buscar genes de importancia agronómica.

Debido al estado de conservación de *G. turneri*, es necesario realizar planes de conservación para evitar que las poblaciones, encontradas hasta el momento, sigan disminuyendo. Además, es de gran relevancia llevar a cabo estudios referentes a la biología reproductiva de *G. turneri* debido a que el conocimiento generado es de gran importancia en la planificación de estrategias de conservación de especies y para aplicaciones biotecnológicas.

Aunque el modelo de distribución potencial de *G. turneri* predice correctamente las áreas idóneas para la presencia de la especie de acuerdo con la técnica ROC, teniendo en cuenta las variables utilizadas y los datos de ocurrencia para construir el modelo, se debe considerar realizar el modelo usando variables climáticas y si es posible más datos de ocurrencia. Además, se debe considerar explorar las áreas predichas en busca de nuevas poblaciones de *G. turneri*, lo cual contribuirá en su conservación y generará información sobre su distribución geográfica.

IX. LITERATURA CITADA

- Abdurakhmonov, I. Y., Z. Buriev, S. Shermatov, A. Abdullaev, K. Urmonov, F. Kushanov, S. Egamberdiev, U. Shapulatov, A. Abdukarimov, S. Saha, J. Jenkins, R. Kohel, J. Yu, A. Pepper, S. Kumpatlan y M. Ulloa. 2012. Genetic diversity in *Gossypium* genus, 313-338 p. En: Caliskan, M. (Eds.), Genetic Diversity in Plants. InTech. Rijeka, Croacia.
- Aceró-Barraza, S. M. 2007. Algoritmo para análisis filogenético: UPGMA. Tesis de Licenciatura. Departamento de Ingeniería de Sistemas. Universidad del Norte, Barranquilla, Colombia.
- Altınordu, F., E. Martin, E. Hamzaoglu y Ö. Çetin. 2014. New chromosome counts, karyotype analyses and asymmetry indices in some taxa of genus *Senecio* L. and related genera *Tephrosia* (Rchb.) Rchb. and *Turanecio* Hamzaoglu belong to tribe Senecioneae (Asteraceae) from Turkey. *Plant Systematics and Evolution* 300: 2205-2216.
- Altınordu, F., L. Peruzzi, Y. Yu y X. He. 2016. A tool for the analysis of chromosomes: KaryoType. *Taxon* 65: 586-592.
- Applequist, W. L., R. Cronn y J. F. Wendel. 2001. Comparative development of fiber in wild and cultivated cotton. *Evolution & Development* 3: 3-17.
- Ashfaq M., M. Asif, Z. I. Anjum y Y. Zafar. 2013. Evaluating the capacity of plant DNA barcodes to discriminate species of cotton (*Gossypium*: Malvaceae). *Molecular Ecology Resources* 13: 573-582.
- Ávila-Coria, R., R. Villavicencio-García y J. A. Ruiz-Corral. 2014. Distribución potencial de *Pinus herrerae* Martínez en el occidente del estado de Jalisco. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales* 5: 92-109.
- Azizi, N., M. Sheidai, V. Mozaffarian y Z. Nourmohammadi. 2014. Karyotype and genome size analyses in species of *Helichrysum* (Asteraceae). *Acta Botanica Brasilica* 28: 367-375.
- Bafeel, S. O., I. A. Arif, M. A. Bakir, h. A. Khan, A. H. Al Farhan, A. A. Al Homaidan, A. Ahamed y J. Thomas. 2011. Comparative evaluation of PCR success with universal primers of maturase K (matK) and ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase oxygenase large subunit (rbcL) for barcoding of some arid plants. *Plant Omics* 4: 195-198.
- Barclay, G. 2015. Anatomy and morphology of seed plants, 1-20 p. En: eLS. John Wiley & Sons, Chichester. Doi: [0.1002/9780470015902.a0002068.pub2](https://doi.org/10.1002/9780470015902.a0002068.pub2).
- Barcode of Life Data System (BOLD). *Gossypium turneri*. Public Data Portal (http://www.boldsystems.org/index.php/Public_SearchTerms).
- Bardak, A y Y. Bölek. 2016. Inheritance of fuzz and lint fiber initiation of cotton (*Gossypium hirsutum* L.). *Turkish Journal of Agriculture and Forestry* 40: 606-612.
- Benbouza, H., G. Lognay, R. Palm, J. P. Baudoin y G. Mergeai. 2002. Development of a visual method to quantify the gossypol content in cotton seeds. *Crop Science* 42: 1937-1942.
- Boesewinkel, F. D. y F. Bouman F. 1984. The seed: structure, 567-610 p. En: Johri, B. M. (ed)

- Embryology of angiosperms. Springer, Berlin, Heidelberg.
- Bolek, Y., M. Fidan y M. Oglakci. 2010. Distribution of gossypol glands on cotton (*Gossypium hirsutum* L.) genotypes. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca* 38: 81-87.
- Cai, X. Y., F. Liu, Z. L. Zhou, X.X. Wang, C.Y. Wang, Y.H. Wang y K.B. Wang. 2015. Characterization and development of chloroplast microsatellite markers for *Gossypium hirsutum*, and cross-species amplification in other *Gossypium* species. *Genetics and Molecular Research* 14: 11924-11932.
- Cardoso, D. C., M. P. Cristiano, L. A. C. Barros, D. M. Lopes y S. das Graças Pompolo. 2012. First cytogenetic characterization of a species of the arboreal ant genus *Azteca* Forel, 1978 (Dolichoderinae, Formicidae). *Comparative Cytogenetics* 6: 107-114.
- CBOL. 2009. A DNA barcode for land plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 106: 12794-12797.
- Cervantes, E., J. J. Martín y E. Saadaoui. 2016. Updated methods for seed shape analysis. *Scientifica*. Doi: <https://doi.org/10.1155/2016/5691825>.
- Chen, Y., S. Feng, T. Zhao y B. Zhou. 2018. Overcoming obstacles to interspecific hybridization between *Gossypium hirsutum* and *G. turneri*. *Euphytica* 214: 1-15.
- d'Eeckenbrugge, G. C. y J. M. Lacape. 2014. Distribution and differentiation of wild, feral, and cultivated populations of perennial upland cotton (*Gossypium hirsutum* L.) in Mesoamerica and the Caribbean. *PLOS ONE* 9: 1-19.
- Degtjareva, G. V., M. D. Logacheva, T. H. Samigullin, E. I. Terentieva y C. M. Valiejo-Roman. 2012. Organization of chloroplast psbA-trnH intergenic spacer in dicotyledonous angiosperms of the family Umbelliferae. *Biochemistry (Moscow)* 77: 1056-1064.
- Diario Oficial de la Federación (DOF). 2019. Anexo Normativo III. Lista de especies en riesgo de la Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010: http://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5578808&fecha=14/11.
- Ditta, A., Z. Zhou, X. Cai, X. Wang, K. Okubazghi, M. Shehzad, Y. Xu, Y. Hou, N. S. Iqbal, M. K. Riaz, K. Wang y F. Liu. 2018. Assessment of genetic diversity, population structure, and evolutionary relationship of uncharacterized genes in a novel germplasm collection of diploid and allotetraploid *Gossypium* accessions using EST and genomic SSR markers. *International Journal of Molecular Sciences* 19:2-21.
- Dong, W., C. Xu, C. Li, J. Sun, Y. Zuo, S. Shi, T. Cheng, J. Guo y S. Zhuo. 2015. ycf1, the most promising plastid DNA barcode of land plants. *Scientific Reports* 5: 1-5.
- Du, L., F. Ge, S. Zhu y M. N. Parajulee. 2004. Effect of cotton cultivar on development and reproduction of *Aphis gossypii* (Homoptera: Aphididae) and its predator *Propylaea japonica* (Coleoptera: Coccinellidae). *Journal of Economic Entomology* 97: 1278-1283.
- Edwards, G. A. 1977. The karyotype of *Gossypium herbaceum* L. *Caryologia* 30: 369-374.
- Environmental Systems Research Institute (ESR). What is GIS? <https://www.esri.com/en-us/what-is-gis/overview>.

- Fatima, T., A. Srivastava, P. V. Somashekar, V. S. Hanur y M. S. Rao. 2019. Development of DNA-based species identification and barcoding of three important timbers. *Bulletin of the National Research Centre* 43:43-76.
- Fideicomisos Instituidos en Relación con la Agricultura (FIRA). 2017. Panorama agronómico | Algodón (https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/200630/Panorama_Agroalimentario_Algodon_2016-17.pdf).
- Flint-Garcia, S. A. 2013. Genetics and consequences of crop domestication. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 61: 8267-8276.
- Fryxell, P. A. 1988. Systematic botany monographs. Malvaceae of Mexico. The American Society of Plant Taxonomists. México.
- Gadelha, I. C. N., N. B. S. Fonseca, S. C. S. Oloris, M. M. Melo y B. Soto-Blanco. 2014. Gossypol toxicity from cottonseed products. *The Scientific World Journal* 2014:1-11.
- Gallego Zaragoza, A. 2017. Secuenciación, ensamblaje de novo y anotación del genoma del cloroplasto del ajo (*Allium sativum*). Tesis de obtención de grado. Departamento de Biología Aplicada. Universidad Miguel Hernández de Elche. Elche, España.
- Ghanbarian, G., M. R. Raoufat, H. R. Pourghasemi y R. Safaeian. 2019. Habitat Suitability Mapping of *Artemisia aucheri* Boiss Based on the GLM Model in R, 213-227 p. En: Pourghasemi, H. R., Gokceoglu, C. (Eds), Spatial modeling in GIS and R for Earth and Environmental Sciences. Elsevier, Amsterdam, Holanda.
- Gil, A. y E. López. 2016. Características germinativas de semillas del algodón nativo, *Gossypium* sp., de fibra verde, lila y marrón. *REBIOL* 35: 39-46.
- Hannah, L. 2015. Modeling Species and Ecosystems Response, 237-262 p. En: Hannah, L. (Ed), Climate Change Biology. Academic Press, Reino Unido.
- Herrera, J. C. 2007. La citogenética molecular y su aplicación en el estudio de los genomas vegetales. *Agronomía Colombiana* 25: 26-35.
- Hollingsworth, P. M. 2011. Refining the DNA barcode for land plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 108: 19451-19452.
- Hollingsworth, P. M., S. W. Graham y D. P. Little. 2011. Choosing and using a plant DNA barcode. *PLOS ONE* 6: 1-13.
- Hu, Z. Y., W. Hua, L. Zhang, L. B. Deng, X. F. Wang, G. H. Liu, W. J. Hao y H. Z. Wang. 2013. Seed structure characteristics to form ultrahigh oil content in rapeseed. *PLOS ONE* 8: 1-10
- Huan, H. V., H. M. Trang y N. V. Toan. 2018. Identification of DNA barcode sequence and genetic relationship among some species of Magnolia family. *Asian Journal of Plant Sciences* 17: 56-64.
- Janga, M.R., D. Pandeya, L.M. Campbell, K. Konganti, S. T. Villafuerte, L. Puckhaber, A. Pepper, R. D. Stipanovic, J. A. Scheffler y K. S. Rathore. 2018. Genes regulating gland development in the cotton plant. *Plant Biotechnology Journal*. Doi: <https://doi.org/10.1111/pbi.13044>.

- Jewell, D. C. y N. Islam-Faridi. 1994. A technique for somatic chromosome preparation and C-banding of maize. 484-493 p. En: Freeling, M. y Walbot, V. (Eds.) The maize handbook. Springer, Nueva York, Estados Unidos.
- Kannan, T. P. y B. A. Zilfalil. 2009. Cytogenetics: past, present and future. The Malaysian Journal of Medical Sciences 16: 4-9.
- Katterman, F. R. y D. R. Ergle. 1970. A study of quantitative variations of nucleic acids in *Gossypium*. Phytochemistry 9: 2007-2010.
- Kolahi, M., E. Faghani, A. Goldson-Barnaby y B. Sohrabi. 2020. Physiological traits and anatomic structures of the seed for two short cotton season genotypes (*Gossypium hirsutum* L.) under water stress. Journal of Integrative Agriculture 18: 2-11.
- Konan, N'G. O., J.P. Baudoin, A. D'Hont y G. Mergeai. 2009. Bridging classical and molecular cytogenetics of *Gossypium*. 257-281 p. En: Paterson, A. W. (Ed.), Genetics and genomics of cotton. Springer, Nueva York.
- Kress, W. J., y D.L. Erickson. 2008. DNA barcodes: genes, genomics, and bioinformatics. Proceedings of the National Academy of Sciences 105(8): 2761-2762.
- Kuester A. 2012. Variation in plant defense traits and population genetics within a Sonora Desert cotton endemic, *Gossypium davidsonii* and boll weevil, *Anthonomus grandis*. Disertación requerida para obtener el grado de doctorado. Iowa State University. Ames, Iowa.
- Kuester, A. P. y Nason J. D. 2012. Microsatellite loci for *Gossypium davidsonii* (Malvaceae) and other D-genome, Sonoran Desert endemic cotton species. American Journal of Botany 99: 91-93.
- Kumar, S., G. Stecher y K. Tamura. 2016. MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. Molecular Biology and Evolution 33: 1870-1874.
- Lahaye, R. R., V. Savolainen, S. Duthoit, O. Maurin y M. Van der Bank. 2008. A test of psbK-psbI and atpF-atpH as potential plant DNA barcodes using the flora of the Kruger National Park (South Africa) as a model system. Nature Precedings. Doi: [hdl:10101/npre.2008.1896.1](https://doi.org/10.1011/npre.2008.1896.1).
- Levan, A., K. Fredga y A. A. Sandberg. 1964. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. Hereditas 52: 201-220.
- Liu, Q., D. J. Lewellyn, S. P. Singh y A. G. Green. 2012. Cotton seed development: opportunities to add value to a byproduct of fiber production, 353-382 p. En: Oosterhuis, D. y T. Cothren (eds) Cotton flowering and fruiting. The Cotton Foundation, Tennessee, USA.
- López, A., E. López, E. Gil, M. Caicedo y M. Mendoza. 2018. Caracterización de frutos, semillas y fibras de *Gossypium barbadense* "algodón Pardo". SCIÉENDO 21:301-304.
- López, E. y A. E. Gil. 2017. Fenología de *Gossypium raimondii* Ulbrich "algodón nativo" de fibra de color verde. Scientia Agropecuaria 8: 267-271.
- Maloukh, L., A. Kumarappan, M. Jarrar, J. Salehi, H. El-Wakil y T. R. Lakshmi. 2017. Discriminatory power of rbcL barcode locus for authentication of some of United Arab Emirates (UAE) native plants. 3 Biotech 7: 1-7

- Mateo, R. G., A. M. Felicísimo y J. Muñoz. 2011. Modelos de distribución de especies: Una revisión sintética. *Revista Chilena de Historia Natural* 84: 217-240.
- Mondal, S. K., S. Shit y S. Kundu. 2013. A comparative computational study of the 'rbcL' gene in plants and in the three prokaryotic families-Archaea, cyanobacteria and proteobacteria. *Indian Journal of Biotechnology* 12: 58-66.
- Mora, C., D. P. Tittensor, S. Adl, A. G. Simpson y B. Worm. 2011. How many species are there on Earth and in the ocean? *PLOS BIOLOGY* 9: 1-18.
- Morais, J. P. S., M. de Freitas Rosa, L.D Nascimento, D.M. do Nascimento y A.R. Cassales. 2013. Extraction and characterization of nanocellulose structures from raw cotton linter. *Carbohydrate Polymers* 9: 229-235.
- Nie, R. Z. y L. Mao-xue. 1985. Studies of karyotypes in three wild and four cultivated species of *Gossypium*. *Acta Botanica Sinica* 27: 113-121.
- Okonechnikov, K., O. Golosova y M. Fursov. 2012. Unipro UGENE: a unified bioinformatics toolkit. *Bioinformatics* 28: 1166-1167.
- Omran, A, y A. Asadollah. 2007. Intragenomic diversity and geographical adaptability of diploid cotton species revealed by cytogenetic studies. *African Journal of Biotechnology* 6: 1387-1392
- Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos (OCDE) - Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). 2017. *OECD FAO Agricultural Outlook 2019-2028*. OCDE Publishing, Roma, Italia.
- Palma-Ordaz, S. y J. Delgadillo-Rodríguez. 2014. Distribución potencial de ocho especies exóticas de carácter invasor en el estado de Baja California, México. *Botanical Sciences* 92: 587-597.
- Pandey, D., A. K. Shukla y A. Shukla. 2013. GIS: Scope and Benefits. *International Conference on Advances in Engineering & Technology* 7: 60-65.
- Paz, A., M. Gonzalez y A. J. Crawford. 2011. Códigos de barras de la vida: introducción y perspectiva. *Acta Biológica Colombiana* 16: 161-176.
- Pérez-Mendoza C., M. Tovar, Q. Obispo, F. Legorreta y J.A. Ruiz. 2016. Recursos genéticos del algodón en México: conservación ex situ, in situ y su utilización. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 7: 5-16.
- Pshenichny, C. A. 2014. Knowledge engineering in volcanology: Practical claims and general approach. *Journal of Colcanology and Geothermal Research* 286: 78-92.
- R Development Core Team. 2011. *R: a Language and Environment for statistical computing*. Vienna, Austria: The R. foundation for statical computing. ISBN: 3-900051-07-0. Available online at <http://www.R-project.org/>.
- Ramírez-Ojeda, G., J. A. Ruiz-Corral, C. Pérez-Mendoza, R. Villavicencio-García, S. Mena-Munduía y N. Durán-Puga. 2014. Impactor del cambio climático en la distribución geográfica de *Gossypium hirsutum* L. en México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 10: 1885-1895.
- Reddy, G. O. 2018. *Geographic Information System: Principles and Applications*, 45-62p. En:

- Reddy, G. P. O., Singh, S. K. (Eds), *Geospatial Technologies in Land Resources Mapping, Monitoring and Management*. Springer, Cham, Suiza.
- Rozas, J., A. Ferrer-Mata, J. C. Sánchez-DelBarrio, S. Guirao-Rico, P. Librado, S. E. Ramos-Onsins y A. Sánchez-Gracia. 2017. DnaSP 6: DNA sequence polymorphism analysis of large data sets. *Molecular Biology and Evolution* 34: 3299-3302.
- Sánchez-Callejas, S. D. 2016. Los códigos de barra de ADN como herramienta en la identificación de las especies del género *Micropholis* (Griseb.) Pierre (Sapotaceae). Tesis de Maestría. Universidad Distrital Francisco José de Caldas. Facultad del Medio Ambiente y Recursos Naturales. Bogotá, Colombia.
- Selvam, S., A. Manisha, J. Vidhya y S. Venkatramanan. 2019. Fundamentals of GIS, 3-15 p. En: Venkatramanan, S., Prasanna, M. V., Sang, Y. C. (Eds), *GIS and Geostatistical Techniques for Groundwater Science*. Elsevier, Amsterdam, Holanda.
- Sen, L., M. A. Fares, B. Liang, L. Gao, B. Wang, T. Wang y Y. J. Su. 2011. Molecular evolution of *rbcL* in three gymnosperm families: identifying adaptive and coevolutionary patterns. *Biology Direct* 6: 1-19
- Shan, W., Y. Jiang, J. Han y K. Wang. 2016. Comprehensive cytological characterization of the *Gossypium hirsutum* genome based on the development of a set of chromosome cytological markers. *The Crop Journal* 4: 256-265.
- Shedai, M., P. Vojdani y O. Alishah. 1996. Karyological Studies in *Gossypium herbaceum*. Cultivars of Iran. *Cytologia* 61: 365-374.
- Shedai, M., A. Dokhanchi y Z. Noormohammadi. 2008. Karyotype and Chromosome Pairing Analysis in some Iranian Upland Cotton (*Gossypium hirsutum*) Cultivars. *Cytologia* 73: 275-281.
- Shim, J., P.K. Mangat y R. B Angeles-Shim. 2018. Natural variation in wild *Gossypium* species as a tool to broaden the genetic base of cultivated cotton. *Journal of Plant Science: Current Research* 2:1-9
- Silva-Castro. 2005. Algodón genéticamente modificado. Copyright AGRO-BIO. Bogotá, Colombia.
- Silva, C. T., N. C. Contreras y D. J. Fonseca. 2008. Utilidad de la citogenética en la medicina actual. Visión histórica y aplicación. *Acta Médica Colombiana* 33: 309-316.
- Sliwiska, E., J. D. Bewley y R. S. Gallagher RS. 2014. Overview of seed development, anatomy and morphology, 1-17 p. En: Gallangher, R. S. (ed) *Seeds: The Ecology of Regeneration in Plant Communities*. CAB International, Oxfordshire.
- Sofaer, H. R., C. S. Jarnevich, I. S. Pearse, R. L. Smyth, S. Auer, G. L. Cook, T. C. Edwards, G. F. Guala, T. G. Howard, J. T. Morissette y H. Hamilton. 2019. Development and delivery of species distribution models to inform decision-making. *BioScience*, 69: 544-557.
- Steensels, J., B. Gallone, K. Voordeckers y K. J. Verstrepen. 2019. Domestication of industrial microbes. *Current Biology* 29: 381-393.
- Stebbins, G. L. 1971. *Chromosomal evolution in higher plants*. Edward Arnold, London.

- Stipanovic, R. D., J. D. Lopez, M. K. Dowd, L.D. Puckhaber y S. E. Duke. 2006. Effect of racemic and (+)-and (-)-gossypol on the survival and development of *Helicoverpa zea* larvae. *Journal of Chemical Ecology* 32: 959-968.
- The Angiosperm Phylogeny Group (APG). 2016. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. *Botanical Journal of the Linnean Society* 181: 1–20.
- Tahir, A., F. Hussain, N. Ahmed, A. Ghorbani y A. Jamil. 2018. Assessing universality of DNA barcoding in geographically isolated selected desert medicinal species of Fabaceae and Poaceae. *PeerJ*. Doi: [10.7717/peerj.4499](https://doi.org/10.7717/peerj.4499).
- Tian, X., J. X. Ruan, J. Q. Huang, C. Q. Yang, X. Fang, Z. W. Chen, H. Hong, L. J. Wang, Y. B. Mao, S. Lu, T. Z. Zhang y X. Y. Chen. 2018. Characterization of gossypol biosynthetic pathway. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 115:1-9
- Ulloa, M., I. Y. Abdurakhmonov, C. Pérez-M, R. Percy y J. M. Stewart. 2013. Genetic diversity and population structure of cotton (*Gossypium* spp.) of the New World assessed by SSR markers. *Botany* 91: 251-259
- Ulloa, M. 2014. The Diploid D Genome Cottons (*Gossypium* spp.) of the New World 203-212 p. En: Abdurakhmonov I. (Ed.), *World cotton germplasm resources*. InTech. Rijeka, Croacia.
- Ulloa, M., J. M. Stewart, A. E. García, S. Godoy-A, A. Gaytan-M y N. S. Acosta. 2006. Cotton genetic resources in the western states of Mexico: in situ conservation status and germplasm collection for ex situ preservation. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 53: 653-668.
- United State Department of Agriculture (USDA). Classification of *Gossypium* L. (<https://plants.usda.gov/core/profile?symbol=GOSSY>).
- Vigil, E. L., W. S. Anthony, E. Columbus, E. Erbe y W. P. Wergin. 1996. Fine structural aspects of cotton fiber attachment to the seed coat: morphological factors affecting saw ginning of lint cotton. *International Journal of Plant Sciences* 157: 92-102.
- Vu, H. T. y L. Le. 2019. Bioinformatics Analysis on DNA Barcode Sequences for Species Identification: A Review. *Annual Research & Review in Biology* 34: 1-12.
- Wang, K., B. Guan, B. Zhou, Y. Hu, Y. Zhu y T. Zhang. 2008. Completely distinguishing individual A-genome chromosomes and their karyotyping analysis by multiple bacterial artificial chromosome–fluorescence in situ hybridization. *Genetics* 178: 1117-1122
- Wang, K, J. F. Wendel y J. Hua. 2018. Designations for individual genomes and chromosomes in *Gossypium*. *Journal of Cotton Research* 1: 1-5.
- Wattoo, J. I., M. Z. Saleem, M. S. Shahzad, A. Arif, A. Hameed y M. A. Saleem. 2016. DNA Barcoding: Amplification and sequence analysis of rbcL and matK genome regions in three divergent plant species. *Advancements in Life Sciences* 4: 03-07.
- Wegier-Biuolo, A. L. 2013. Diversidad genética y conservación de *Gossypium hirsutum* silvestre y cultivado en México. Tesis de doctorado. Universidad Nacional Autónoma de México. Instituto de Ecología. D. F., México.

- Wegier, A., A. Piñero-Nelson, J. Alarcón, S. A. Gálvez-Mariscal, E. T. Álvarez-Buylla y D. Piñero. 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
- Wegier, A., V. Alavez y D. Piñero. 2016. Cotton traditional and modern uses. 441 y 453 p. En: Lira, R., Casas, A., Blancas, B. (Eds.). *Ethnobotany of Mexico. Interactions of people and plants in Mesoamerica*. Springer
- Wegier, A., V. Alavez y M. Vega. 2018. *Gossypium turneri*. The IUCN Red List of Threatened Species 2018 Doi: <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2018-1.RLTS.T71775005A71775008.en>.
- Wendel, J. F., C. L. Brubaker y T. Seelanan. 2010. The origin and evolution of *Gossypium*. 1-18 p. En: Stewart, J. M., Oosterhuis, d. M., Heitholt, J. J., Maurer, J. R., (Eds.), *Physiology of cotton*. Springer, Dordrech
- Wendel, J. F. y R.C Cronn. 2003. Polyploidy and the evolutionary history of cotton. *Advances in Agronomy* 78: 139-186
- Wendel, J. F., y C. E. Grover. 2015. Taxonomy and evolution of the cotton genus, *Gossypium*. 25-44 p. En: Fang, D. D., Percy, R. G. (Eds), *Cotton. Agronomy Monograph* 57. Estados Unidos.
- Wulchafu, K. 2019. Review paper on genetic diversity and domestication of cotton (*Gossypium* spp. L) crop. *International Journal of Current Research and Academic Review* 7: 68-74.
- Yu, J., J.H. Xue y S. L. Zhou. 2011. New universal matK primers for DNA barcoding angiosperms. *Journal of Systematics and Evolution* 49: 176-181.
- Yu, X. Q., B. T. Drew, J. B. Yang, L. M. Gao y D. Z. Li. 2017. Comparative chloroplast genomes of eleven Schima (Theaceae) species: Insights into DNA barcoding and phylogeny. *PLOS ONE* 12: 1-18.
- Zaidi, S. S., S. Mansoor y A. Paterson. 2018. The rises of cotton genomics. *Trend in Plant Science* 23: 953-955.
- Zhang, H. B., Y. Li, B. Wang y P.W. Chee. 2008. Recent advances in cotton genomics. *International Journal of Plant Genomics* 2008: 1-20.
- Zarco, C. R. 1986. A new method for estimating karyotype asymmetry. *Taxon* 35: 526-530.

X. APÉNDICES

Apéndice A

Objetivos planteados inicialmente en el proyecto de tesis

- I. Evaluar la diversidad genética intra e interespecífica utilizando microsatélites de *G. davidsonii* y *G. turneri* en el Noroeste de México.
- II. Evaluar el código de barras de ADN de las especies *G. davidsonii* y *G. turneri* en base a las secuencias *rbcL*, *matK* y *ycf1*.
- III. Evaluar el cariotipo (número de cromosomas) de la especie *G. turneri*

Los objetivos I y II planteados inicialmente en el proyecto de tesis tuvieron que modificarse debido a que no se pudo continuar con el trabajo experimental por causa de la pandemia generada por el COVID-19 durante el presente año. Dichos objetivos se contemplaron para realizar una estancia de investigación en Cinvestav-Unidad Irapuato y Cinvestav-UGA LANGEBIO del 24 de febrero del 2020 al 29 de mayo del 2020. Sin embargo, por la contingencia en la República Mexicana por el COVID-19 la estancia de investigación duro hasta el 19 de marzo del 2020. Durante el tiempo de la estancia se logró estandarizar los microsatélites para *G. turneri* y para *G. davidsonii* se estandarizó la extracción de ADN y seis microsatélites, como se puede observar en los resultados.

Debido a la situación, el objetivo I no se pudo llevar a cabo. En cuanto al objetivo II se modificó debido a que no se pudo realizar el análisis para la especie *G. davidsonii*, por lo que se reportaron resultados solo para la especie *G. turneri*.

De los objetivos planteados inicialmente en el proyecto de tesis, se cumplió completamente el objetivo III y parcialmente el objetivo II. A pesar de los inconvenientes con los objetivos planteados inicialmente, durante el transcurso de la maestría se obtuvieron resultados que no se contemplaron en el proyecto de tesis inicial (morfología de semillas y distribución potencial). Dichos resultados se plasmaron en los nuevos objetivos planteados para el proyecto de tesis.

Objetivos planteados para el proyecto de tesis:

- I. Evaluar la morfología de las semillas de la especie *G. turneri*.
- II. Evaluar el cariotipo (número y morfología de cromosomas) de la especie *G. turneri*.
- III. Describir el código de barras de ADN de la especie *G. turneri* en base a las secuencias *rbcL*, *matK* y *ycf1*.
- IV. Modelar la distribución potencial de la especie *G. turneri* en el litoral del estado de Sonora.

Apéndice B

Distancias genéticas por pares entre secuencias de rbcL de *G. turneri* y grupos externos. Número en la parte inferior izquierda representan las distancias genéticas y números en la parte superior derecha el error estándar.

Especies	GT5MA	GT7MA	GT13MI	GT14MI	GT16MA	GT16MI	GT17MA	GT20MI	GA	GH_CK	GH_HA	GH_FP	GH_P	GH_MG	DZ
GT5MA	0.002	0.002	0.002	0.002	0.002	0.002	0.002	0.002	0.003	0.003	0.003	0.003	0.003	0.003	0.006
GT7MA	0.002	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.003	0.003	0.003	0.003	0.003	0.003	0.006
GT13MI	0.002	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.003	0.003	0.003	0.003	0.003	0.003	0.006
GT14MI	0.002	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.003	0.003	0.003	0.003	0.003	0.003	0.006
GT16MA	0.002	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.003	0.003	0.003	0.003	0.003	0.003	0.006
GT16MI	0.002	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.003	0.003	0.003	0.003	0.003	0.003	0.006
GT17MA	0.002	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.003	0.003	0.003	0.003	0.003	0.003	0.006
GT20MI	0.002	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.003	0.003	0.003	0.003	0.003	0.003	0.006
GA	0.005	0.007	0.007	0.007	0.007	0.007	0.007	0.007	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.006
GH_CK	0.005	0.007	0.007	0.007	0.007	0.007	0.007	0.007	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.006
GH_HA	0.005	0.007	0.007	0.007	0.007	0.007	0.007	0.007	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.006
GH_FP	0.005	0.007	0.007	0.007	0.007	0.007	0.007	0.007	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.006
GH_P	0.005	0.007	0.007	0.007	0.007	0.007	0.007	0.007	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.006
GH_MG	0.005	0.007	0.007	0.007	0.007	0.007	0.007	0.007	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.006
DZ	0.021	0.023	0.023	0.023	0.023	0.023	0.023	0.023	0.023	0.023	0.023	0.023	0.023	0.023	0.023

GT5MA: *G. turneri* (individuo 5 - La Manga). GT7MA: *G. turneri* (Individuo 7 - La Manga). GT13MI: *G. turneri* (Individuo 13 - El Mirador). GT14MI: *G. turneri* (Individuo 14 - El Mirador). GT16MA: *G. turneri* (Individuo 16 - La Manga). GT16MI: *G. turneri* (Individuo 16 - El Mirador). GT17MA: *G. turneri* (Individuo 17 - La Manga). GT20MI: *G. turneri* (Individuo 20 - El Mirador). GA: *G. arboreum*. GH_CK: *G. hirsutum* cultivar coker 310. GH_HA: *G. hirsutum* cultivar Hainansijimain. GH_FP: *G. hirsutum* f palmeri (raza). GH_P: *G. hirsutum* var. punctatum. GH_MG: *G. hirsutum* var. marie-galante. DZ: *D. zibethinus*.

Apéndice C

Número de diferencias nucleotídicas por pares entre secuencias de rbcL de *G. turneri* y grupos externos. Número de sitios polimórficos en las secuencias: 15

Especies	GT5MA	GT7MA	GT13MI	GT14MI	GT16MA	GT16MI	GT17MA	GT20MI	GA	GH_CK	GH_HA	GH_FP	GH_P	GH_MG	DZ
GT5MA															
GT7MA	1														
GT13MI	1	0													
GT14MI	1	0	0												
GT16MA	1	0	0	0											
GT16MI	1	0	0	0	0										
GT17MA	1	0	0	0	0	0									
GT20MI	1	0	0	0	0	0	0								
GA	3	4	4	4	4	4	4	4							
GH_CK	3	4	4	4	4	4	4	4	0						
GH_HA	3	4	4	4	4	4	4	4	0	0					
GH_FP	3	4	4	4	4	4	4	4	0	0	0				
GH_P	3	4	4	4	4	4	4	4	0	0	0	0			
GH_MG	3	4	4	4	4	4	4	4	0	0	0	0	0		
DZ	12	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13

GT5MA: *G. turneri* (individuo 5 - La Manga). GT7MA: *G. turneri* (Individuo 7 - La Manga). GT13MI: *G. turneri* (Individuo 13 - El Mirador). GT14MI: *G. turneri* (Individuo 14 - El Mirador). GT16MA: *G. turneri* (Individuo 16 - La Manga). GT16MI: *G. turneri* (Individuo 16 - El Mirador). GT17MA: *G. turneri* (Individuo 17 - La Manga). GT20MI: *G. turneri* (Individuo 20 - El Mirador). GA: *G. arboreum*. GH_CK: *G. hirsutum* cultivar coker 310. GH_HA: *G. hirsutum* cultivar Hainansijimain. GH_FP: *G. hirsutum* f palmeri (raza). GH_P: *G. hirsutum* var. punctatum. GH_MG: *G. hirsutum* var. marie-galante. DZ: *D. zibethinus*.

Apéndice D

Distancias genéticas por pares entre secuencias de matK de *G. turneri* y grupos externos. Número en la parte inferior izquierda representan las distancias genéticas y números en la parte superior derecha el error estándar.

Especies	GT5MA	GT7MA	GT13MI	GT14MI	GT16MA	GT16MI	GT17MA	GT20MI	GA	GH_CK	GH_HA	GH_FP	GH_P	GH_MG	DZ
GT5MA	0.007	0.004	0.004	0.004	0.004	0.005	0.005	0.005	0.005	0.005	0.005	0.005	0.005	0.005	0.009
GT7MA	0.032	0.006	0.006	0.007	0.007	0.006	0.008	0.006	0.007	0.007	0.007	0.007	0.007	0.007	0.011
GT13MI	0.013	0.025	0.003	0.002	0.003	0.003	0.004	0.003	0.003	0.003	0.003	0.003	0.003	0.003	0.008
GT14MI	0.013	0.025	0.005	0.003	0.003	0.003	0.004	0.004	0.003	0.003	0.003	0.003	0.003	0.003	0.008
GT16MA	0.013	0.027	0.003	0.005	0.003	0.003	0.004	0.003	0.003	0.003	0.003	0.003	0.003	0.003	0.008
GT16MI	0.014	0.027	0.005	0.006	0.005	0.004	0.004	0.004	0.003	0.003	0.003	0.003	0.003	0.003	0.008
GT17MA	0.021	0.035	0.011	0.013	0.011	0.013	0.014	0.005	0.004	0.004	0.004	0.004	0.004	0.004	0.009
GT20MI	0.019	0.027	0.008	0.011	0.008	0.011	0.017	0.004	0.004	0.004	0.004	0.004	0.004	0.004	0.009
GA	0.016	0.030	0.006	0.008	0.006	0.008	0.014	0.013	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.008
GH_CK	0.016	0.030	0.006	0.008	0.006	0.008	0.014	0.013	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.008
GH_HA	0.016	0.030	0.006	0.008	0.006	0.008	0.014	0.013	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.008
GH_FP	0.016	0.030	0.006	0.008	0.006	0.008	0.014	0.013	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.008
GH_P	0.016	0.030	0.006	0.008	0.006	0.008	0.014	0.013	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.008
GH_MG	0.016	0.030	0.006	0.008	0.006	0.008	0.014	0.013	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.008
DZ	0.057	0.072	0.047	0.048	0.047	0.048	0.055	0.053	0.043	0.043	0.043	0.043	0.043	0.043	0.043

GT5MA: *G. turneri* (individuo 5 - La Manga). GT7MA: *G. turneri* (Individuo 7 - La Manga). GT13MI: *G. turneri* (Individuo 13 - El Mirador). GT14MI: *G. turneri* (Individuo 14 - El Mirador). GT16MA: *G. turneri* (Individuo 16 - La Manga). GT16MI: *G. turneri* (Individuo 16 - El Mirador). GT17MA: *G. turneri* (Individuo 17 - La Manga). GT20MI: *G. turneri* (Individuo 20 - El Mirador). GA: *G. arboreum*. GH_CK: *G. hirsutum* cultivar coker 310. GH_HA: *G. hirsutum* cultivar Hainansijimain. GH_FP: *G. hirsutum* f palmeri (raza). GH_P: *G. hirsutum* var. punctatum. GH_MG: *G. hirsutum* var. marie-galante. DZ: *D. zibethinus*.

Apéndice E

Número de diferencias nucleotídicas por pares entre secuencias de matK de *G. turneri* y grupos externos. Número de sitios polimórficos en las secuencias: 61

Especies	GT5MA	GT7MA	GT13MI	GT14MI	GT16MA	GT16MI	GT17MA	GT20MI	GA	GH_CK	GH_HA	GH_FP	GH_P	GH_MG	DZ
GT5MA															
GT7MA	20														
GT13MI	8	16													
GT14MI	8	16	3												
GT16MA	8	17	2	3											
GT16MI	9	17	3	4	3										
GT17MA	13	22	7	8	7	8									
GT20MI	12	17	5	7	5	7	11								
GA	10	19	4	5	4	5	9	8							
GH_CK	10	19	4	5	4	5	9	8	0						
GH_HA	10	19	4	5	4	5	9	8	0	0					
GH_FP	10	19	4	5	4	5	9	8	0	0	0				
GH_P	10	19	4	5	4	5	9	8	0	0	0	0			
GH_MG	10	19	4	5	4	5	9	8	0	0	0	0	0		
DZ	35	44	29	30	29	30	34	33	27	27	27	27	27	27	27

GT5MA: *G. turneri* (individuo 5 - La Manga). GT7MA: *G. turneri* (Individuo 7 - La Manga). GT13MI: *G. turneri* (Individuo 13 - El Mirador). GT14MI: *G. turneri* (Individuo 14 - El Mirador). GT16MA: *G. turneri* (Individuo 16 - La Manga). GT16MI: *G. turneri* (Individuo 16 - El Mirador). GT17MA: *G. turneri* (Individuo 17 - La Manga). GT20MI: *G. turneri* (Individuo 20 - El Mirador). GA: *G. arboreum*. GH_CK: *G. hirsutum* cultivar coker 310. GH_HA: *G. hirsutum* cultivar Hainansijimain. GH_FP: *G. hirsutum* f palmeri (raza). GH_P: *G. hirsutum* var. punctatum. GH_MG: *G. hirsutum* var. marie-galante. DZ: *D. zibethinus*.

Apéndice F

Distancias genéticas por pares entre secuencias de ycf1 de *G. turneri* y grupos externos. Número en la parte inferior izquierda representan las distancias genéticas y números en la parte superior derecha el error estándar.

Especies	GT5MA	GT7MA	GT13MI	GT14MI	GT16MA	GT16MI	GT17MA	GT20MI	GA	GH_CK	GH_HA	GH_FP	GH_P	GH_MG	DZ
GT5MA	0.384	0.047	0.212	0.057	0.047	0.051	0.052	0.375	0.375	0.375	0.375	0.375	0.375	0.375	0.071
GT7MA	0.974	0.368	0.518	0.309	0.368	0.279	0.425	0.272	0.272	0.272	0.272	0.272	0.272	0.272	0.401
GT13MI	0.109	0.942	0.179	0.048	0.000	0.041	0.018	0.303	0.303	0.303	0.303	0.303	0.303	0.303	0.042
GT14MI	0.754	1.257	0.638	0.116	0.179	0.123	0.177	0.471	0.471	0.471	0.471	0.471	0.471	0.471	0.236
GT16MA	0.150	0.934	0.110	0.451	0.048	0.032	0.051	0.364	0.364	0.364	0.364	0.364	0.364	0.364	0.065
GT16MI	0.109	0.942	0.000	0.638	0.110	0.041	0.018	0.303	0.303	0.303	0.303	0.303	0.303	0.303	0.042
GT17MA	0.129	0.880	0.091	0.483	0.053	0.091	0.045	0.284	0.284	0.284	0.284	0.284	0.284	0.284	0.065
GT20MI	0.129	1.033	0.017	0.605	0.130	0.110	0.110	0.303	0.303	0.303	0.303	0.303	0.303	0.303	0.048
GA	0.942	0.846	0.864	1.123	1.011	0.864	0.846	0.864	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.409
GH_CK	0.942	0.846	0.864	1.123	1.011	0.864	0.846	0.864	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.409
GH_HA	0.942	0.846	0.864	1.123	1.011	0.864	0.846	0.864	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.409
GH_FP	0.942	0.846	0.864	1.123	1.011	0.864	0.846	0.864	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.409
GH_P	0.942	0.846	0.864	1.123	1.011	0.864	0.846	0.864	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.409
GH_MG	0.942	0.846	0.864	1.123	1.011	0.864	0.846	0.864	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.409
DZ	0.214	1.035	0.090	0.804	0.192	0.090	0.110	1.001	1.001	1.001	1.001	1.001	1.001	1.001	1.001

GT5MA: *G. turneri* (individuo 5 - La Manga). GT7MA: *G. turneri* (Individuo 7 - La Manga). GT13MI: *G. turneri* (Individuo 13 - El Mirador). GT14MI: *G. turneri* (Individuo 14 - El Mirador). GT16MA: *G. turneri* (Individuo 16 - La Manga). GT16MI: *G. turneri* (Individuo 16 - El Mirador). GT17MA: *G. turneri* (Individuo 17 - La Manga). GT20MI: *G. turneri* (Individuo 20 - El Mirador). GA: *G. arboreum*. GH_CK: *G. hirsutum* cultivar coker 310. GH_HA: *G. hirsutum* cultivar Hainansijimain. GH_FP: *G. hirsutum* fpalmeri (raza). GH_P: *G. hirsutum* var. punctatum. GH_MG: *G. hirsutum* var. marie-galante. DZ: *D. zibethinus*.

Apéndice G

Número de diferencias nucleotídicas por pares entre secuencias de *ycf1* de *G. turneri* y grupos externos. Número de sitios polimórficos en las secuencias: 50

Especies	GT5MA	GT7MA	GT13MI	GT14MI	GT16MA	GT16MI	GT17MA	GT20MI	GA	GH_CK	GH_HA	GH_FP	GH_P	GH_MG	DZ
GT5MA															
GT7MA	31														
GT13MI	6	30													
GT14MI	28	35	25												
GT16MA	8	31	6	20											
GT16MI	6	30	0	25	6										
GT17MA	7	30	5	21	3	5									
GT20MI	7	31	1	24	7	1	6								
GA	30	29	29	34	32	29	29	29							
GH_CK	30	29	29	34	32	29	29	29	0						
GH_HA	30	29	29	34	32	29	29	29	0	0					
GH_FP	30	29	29	34	32	29	29	29	0	0	0				
GH_P	30	29	29	34	32	29	29	29	0	0	0	0			
GH_MG	30	29	29	34	32	29	29	29	0	0	0	0	0		
DZ	11	32	5	29	10	5	10	6	31	31	31	31	31	31	31

GT5MA: *G. turneri* (individuo 5 - La Manga). GT7MA: *G. turneri* (Individuo 7 - La Manga). GT13MI: *G. turneri* (Individuo 13 - El Mirador). GT14MI: *G. turneri* (Individuo 14 - El Mirador). GT16MA: *G. turneri* (Individuo 16 - La Manga). GT16MI: *G. turneri* (Individuo 16 - El Mirador). GT17MA: *G. turneri* (Individuo 17 - La Manga). GT20MI: *G. turneri* (Individuo 20 - El Mirador). GA: *G. arboreum*. GH_CK: *G. hirsutum* cultivar coker 310. GH_HA: *G. hirsutum* cultivar Hainansijimain. GH_FP: *G. hirsutum* f palmeri (raza). GH_P: *G. hirsutum* var. punctatum. GH_MG: *G. hirsutum* var. marie-galante. DZ: *D. zibethinus*.

Apéndice H

Distancias genéticas por pares entre secuencias de rbcL+matK de *G. turneri* y grupos externos. Número en la parte inferior izquierda representan las distancias genéticas y números en la parte superior derecha el error estándar.

Especies	GT5MA	GT7MA	GT13MI	GT14MI	GT16MA	GT16MI	GT17MA	GT20MI	GA	GH_CK	GH_HA	GH_FP	GH_P	GH_MG	DZ
GT5MA	0.004	0.002	0.002	0.002	0.002	0.002	0.003	0.003	0.003	0.003	0.003	0.003	0.003	0.003	0.006
GT7MA	0.017	0.003	0.003	0.003	0.003	0.003	0.004	0.003	0.004	0.004	0.004	0.004	0.004	0.004	0.006
GT13MI	0.007	0.011	0.002	0.002	0.001	0.001	0.002	0.002	0.002	0.002	0.002	0.002	0.002	0.002	0.005
GT14MI	0.009	0.014	0.004	0.002	0.002	0.002	0.003	0.002	0.003	0.003	0.003	0.003	0.003	0.003	0.006
GT16MA	0.007	0.012	0.002	0.004	0.001	0.001	0.002	0.002	0.002	0.002	0.002	0.002	0.002	0.002	0.005
GT16MI	0.007	0.012	0.002	0.005	0.002	0.002	0.002	0.002	0.002	0.002	0.002	0.002	0.002	0.002	0.005
GT17MA	0.011	0.016	0.006	0.008	0.006	0.007	0.003	0.003	0.003	0.003	0.003	0.003	0.003	0.003	0.006
GT20MI	0.010	0.012	0.004	0.007	0.004	0.006	0.009	0.003	0.003	0.003	0.003	0.003	0.003	0.003	0.006
GA	0.010	0.017	0.007	0.009	0.007	0.007	0.011	0.010	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.006
GH_CK	0.010	0.017	0.007	0.009	0.007	0.007	0.011	0.010	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.006
GH_HA	0.010	0.017	0.007	0.009	0.007	0.007	0.011	0.010	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.006
GH_FP	0.010	0.017	0.007	0.009	0.007	0.007	0.011	0.010	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.006
GH_P	0.010	0.017	0.007	0.009	0.007	0.007	0.011	0.010	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.006
GH_MG	0.010	0.017	0.007	0.009	0.007	0.007	0.011	0.010	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.006
DZ	0.039	0.046	0.036	0.038	0.036	0.036	0.040	0.039	0.034	0.034	0.034	0.034	0.034	0.034	0.034

GT5MA: *G. turneri* (individuo 5 - La Manga). GT7MA: *G. turneri* (Individuo 7 - La Manga). GT13MI: *G. turneri* (Individuo 13 - El Mirador). GT14MI: *G. turneri* (Individuo 14 - El Mirador). GT16MA: *G. turneri* (Individuo 16 - La Manga). GT16MI: *G. turneri* (Individuo 16 - El Mirador). GT17MA: *G. turneri* (Individuo 17 - La Manga). GT20MI: *G. turneri* (Individuo 20 - El Mirador). GA: *G. arboreum*. GH_CK: *G. hirsutum* cultivar coker 310. GH_HA: *G. hirsutum* cultivar Hainansijimain. GH_FP: *G. hirsutum* f palmeri (raza). GH_P: *G. hirsutum* var. punctatum. GH_MG: *G. hirsutum* var. marie-galante. DZ: *D. zibethinus*.

Apéndice I

Número de diferencias nucleotídicas por pares entre secuencias de rbcL+matK de *G. turneri* y grupos externos. Número de sitios polimórficos en las secuencias: 168

Especies	GT5MA	GT7MA	GT13MI	GT14MI	GT16MA	GT16MI	GT17MA	GT20MI	GA	GH_CK	GH_HA	GH_FP	GH_P	GH_MG	DZ
GT5MA															
GT7MA	20														
GT13MI	8	13													
GT14MI	11	17	5												
GT16MA	8	14	2	5											
GT16MI	9	14	3	6	3										
GT17MA	13	19	7	10	7	8									
GT20MI	12	14	5	9	5	7	11								
GA	12	20	8	11	8	9	13	12							
GH_CK	12	20	8	11	8	9	13	12	0						
GH_HA	12	20	8	11	8	9	13	12	0	0					
GH_FP	12	20	8	11	8	9	13	12	0	0	0				
GH_P	12	20	8	11	8	9	13	12	0	0	0	0			
GH_MG	12	20	8	11	8	9	13	12	0	0	0	0	0		
DZ	46	54	42	45	42	43	47	46	40	40	40	40	40	40	40

GT5MA: *G. turneri* (individuo 5 - La Manga). GT7MA: *G. turneri* (Individuo 7 - La Manga). GT13MI: *G. turneri* (Individuo 13 - El Mirador). GT14MI: *G. turneri* (Individuo 14 - El Mirador). GT16MA: *G. turneri* (Individuo 16 - La Manga). GT16MI: *G. turneri* (Individuo 16 - El Mirador). GT17MA: *G. turneri* (Individuo 17 - La Manga). GT20MI: *G. turneri* (Individuo 20 - El Mirador). GA: *G. arboreum*. GH_CK: *G. hirsutum* cultivar coker 310. GH_HA: *G. hirsutum* cultivar Hainansijimain. GH_FP: *G. hirsutum* f palmeri (raza). GH_P: *G. hirsutum* var. punctatum. GH_MG: *G. hirsutum* var. marie-galante. DZ: *D. zibethinus*.

Apéndice J

Distancias genéticas por pares entre secuencias de *rbcL+ycf1* de *G. turneri* y grupos externos. Número en la parte inferior izquierda representan las distancias genéticas y números en la parte superior derecha el error estándar.

Especies	GT5MA	GT7MA	GT13MI	GT14MI	GT16MA	GT16MI	GT17MA	GT20MI	GA	GH_CK	GH_HA	GH_FP	GH_P	GH_MG	DZ
GT5MA	0.009	0.004	0.008	0.004	0.004	0.005	0.004	0.004	0.009	0.009	0.009	0.009	0.009	0.009	0.008
GT7MA	0.049	0.008	0.008	0.008	0.008	0.009	0.008	0.009	0.009	0.009	0.009	0.009	0.009	0.009	0.011
GT13MI	0.011	0.046	0.008	0.008	0.000	0.004	0.003	0.001	0.009	0.009	0.009	0.009	0.009	0.009	0.007
GT14MI	0.042	0.042	0.039	0.008	0.008	0.007	0.007	0.008	0.010	0.010	0.010	0.010	0.010	0.010	0.010
GT16MA	0.014	0.047	0.010	0.031	0.004	0.004	0.003	0.004	0.010	0.010	0.010	0.010	0.010	0.010	0.008
GT16MI	0.011	0.046	0.000	0.039	0.010	0.010	0.003	0.001	0.009	0.009	0.009	0.009	0.009	0.009	0.007
GT17MA	0.013	0.046	0.008	0.034	0.005	0.005	0.008	0.004	0.009	0.009	0.009	0.009	0.009	0.009	0.008
GT20MI	0.013	0.047	0.002	0.039	0.011	0.011	0.002	0.010	0.009	0.009	0.009	0.009	0.009	0.009	0.007
GA	0.056	0.054	0.056	0.063	0.061	0.061	0.056	0.056	0.056	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.011
GH_CK	0.056	0.054	0.056	0.063	0.061	0.061	0.056	0.056	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.011
GH_HA	0.056	0.054	0.056	0.063	0.061	0.061	0.056	0.056	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.011
GH_FP	0.056	0.054	0.056	0.063	0.061	0.061	0.056	0.056	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.011
GH_P	0.056	0.054	0.056	0.063	0.061	0.061	0.056	0.056	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.011
GH_MG	0.056	0.054	0.056	0.063	0.061	0.061	0.056	0.056	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.011
DZ	0.039	0.073	0.031	0.068	0.039	0.039	0.031	0.039	0.077	0.077	0.077	0.077	0.077	0.077	0.077

GT5MA: *G. turneri* (individuo 5 - La Manga). GT7MA: *G. turneri* (Individuo 7 - La Manga). GT13MI: *G. turneri* (Individuo 13 - El Mirador). GT14MI: *G. turneri* (Individuo 14 - El Mirador). GT16MA: *G. turneri* (Individuo 16 - La Manga). GT16MI: *G. turneri* (Individuo 16 - El Mirador). GT17MA: *G. turneri* (Individuo 17 - La Manga). GT20MI: *G. turneri* (Individuo 20 - El Mirador). GA: *G. arboreum*. GH_CK: *G. hirsutum* cultivar coker 310. GH_HA: *G. hirsutum* cultivar Hainansijmain. GH_FP: *G. hirsutum* f palmeri (raza). GH_P: *G. hirsutum* var. punctatum. GH_MG: *G. hirsutum* var. marie-galante. DZ: *D. zibethinus*.

Apéndice K

Número de diferencias nucleotídicas por pares entre secuencias de *rbcL+ycf1* de *G. turneri* y grupos externos. Número de sitios polimórficos en las secuencias: 64

Especies	GT5MA	GT7MA	GT13MI	GT14MI	GT16MA	GT16MI	GT17MA	GT20MI	GA	GH_CK	GH_HA	GH_FP	GH_P	GH_MG	DZ
GT5MA															
GT7MA	30														
GT13MI	7	28													
GT14MI	26	26	24												
GT16MA	9	29	6	19											
GT16MI	7	28	0	24	6										
GT17MA	8	28	5	21	3	5									
GT20MI	8	29	1	24	7	1	6								
GA	34	33	34	38	37	34	34	34							
GH_CK	34	33	34	38	37	34	34	34	0						
GH_HA	34	33	34	38	37	34	34	34	0	0					
GH_FP	34	33	34	38	37	34	34	34	0	0	0				
GH_P	34	33	34	38	37	34	34	34	0	0	0	0			
GH_MG	34	33	34	38	37	34	34	34	0	0	0	0	0		
DZ	24	44	19	41	24	19	24	20	46	46	46	46	46	46	46

GT5MA: *G. turneri* (individuo 5 - La Manga). GT7MA: *G. turneri* (Individuo 7 - La Manga). GT13MI: *G. turneri* (Individuo 13 - El Mirador). GT14MI: *G. turneri* (Individuo 14 - El Mirador). GT16MA: *G. turneri* (Individuo 16 - La Manga). GT16MI: *G. turneri* (Individuo 16 - El Mirador). GT17MA: *G. turneri* (Individuo 17 - La Manga). GT20MI: *G. turneri* (Individuo 20 - El Mirador). GA: *G. arboreum*. GH_CK: *G. hirsutum* cultivar coker 310. GH_HA: *G. hirsutum* cultivar Hainansijimain. GH_FP: *G. hirsutum* f palmeri (raza). GH_P: *G. hirsutum* var. punctatum. GH_MG: *G. hirsutum* var. marie-galante. DZ: *D. zibethinus*.

Apéndice L

Distancias genéticas por pares entre secuencias de matK+ycf1 de *G. turneri* y grupos externos. Número en la parte inferior izquierda representan las distancias genéticas y números en la parte superior derecha el error estándar.

Especies	GT5MA	GT7MA	GT13MI	GT14MI	GT16MA	GT16MI	GT17MA	GT20MI	GA	GH_CK	GH_HA	GH_FP	GH_P	GH_MG	DZ
GT5MA	0.011	0.006	0.008	0.006	0.006	0.006	0.006	0.006	0.009	0.009	0.009	0.009	0.009	0.009	0.010
GT7MA	0.077	0.010	0.011	0.010	0.010	0.010	0.011	0.010	0.010	0.010	0.010	0.010	0.010	0.010	0.013
GT13MI	0.022	0.067	0.008	0.003	0.003	0.002	0.004	0.003	0.008	0.008	0.008	0.008	0.008	0.008	0.008
GT14MI	0.046	0.074	0.040	0.007	0.007	0.008	0.008	0.008	0.010	0.010	0.010	0.010	0.010	0.010	0.011
GT16MA	0.023	0.070	0.007	0.037	0.003	0.003	0.004	0.004	0.008	0.008	0.008	0.008	0.008	0.008	0.009
GT16MI	0.023	0.069	0.004	0.041	0.009	0.009	0.004	0.004	0.008	0.008	0.008	0.008	0.008	0.008	0.008
GT17MA	0.029	0.077	0.013	0.047	0.014	0.014	0.014	0.005	0.009	0.009	0.009	0.009	0.009	0.009	0.009
GT20MI	0.028	0.069	0.007	0.046	0.012	0.010	0.019	0.009	0.009	0.009	0.009	0.009	0.009	0.009	0.009
GA	0.060	0.075	0.046	0.064	0.050	0.047	0.053	0.052	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.011
GH_CK	0.060	0.075	0.046	0.064	0.050	0.047	0.053	0.052	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.011
GH_HA	0.060	0.075	0.046	0.064	0.050	0.047	0.053	0.052	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.011
GH_FP	0.060	0.075	0.046	0.064	0.050	0.047	0.053	0.052	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.011
GH_P	0.060	0.075	0.046	0.064	0.050	0.047	0.053	0.052	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.011
GH_MG	0.060	0.075	0.046	0.064	0.050	0.047	0.053	0.052	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.011
DZ	0.070	0.116	0.050	0.088	0.053	0.052	0.061	0.056	0.085	0.085	0.085	0.085	0.085	0.085	0.085

GT5MA: *G. turneri* (individuo 5 - La Manga). GT7MA: *G. turneri* (Individuo 7 - La Manga). GT13MI: *G. turneri* (Individuo 13 - El Mirador). GT14MI: *G. turneri* (Individuo 14 - El Mirador). GT16MA: *G. turneri* (Individuo 16 - La Manga). GT16MI: *G. turneri* (Individuo 16 - El Mirador). GT17MA: *G. turneri* (Individuo 17 - La Manga). GT20MI: *G. turneri* (Individuo 20 - El Mirador). GA: *G. arboreum*. GH_CK: *G. hirsutum* cultivar coker 310. GH_HA: *G. hirsutum* cultivar Hainansijimain. GH_FP: *G. hirsutum* f palmeri (raza). GH_P: *G. hirsutum* var. punctatum. GH_MG: *G. hirsutum* var. marie-galante. DZ: *D. zibethinus*.

Apéndice M

Número de diferencias nucleotídicas por pares entre secuencias de matK+ycf1 de *G. turneri* y grupos externos. Número de sitios polimórficos en las secuencias: 111

Especies	GT5MA	GT7MA	GT13MI	GT14MI	GT16MA	GT16MI	GT17MA	GT20MI	GA	GH_CK	GH_HA	GH_FP	GH_P	GH_MG	DZ
GT5MA															
GT7MA	51														
GT13MI	15	45													
GT14MI	31	49	27												
GT16MA	16	47	5	25											
GT16MI	16	46	3	28	6										
GT17MA	20	51	9	32	10	10									
GT20MI	19	46	5	31	8	7	13								
GA	40	50	31	43	34	32	36	35							
GH_CK	40	50	31	43	34	32	36	35	0						
GH_HA	40	50	31	43	34	32	36	35	0	0					
GH_FP	40	50	31	43	34	32	36	35	0	0	0				
GH_P	40	50	31	43	34	32	36	35	0	0	0	0			
GH_MG	40	50	31	43	34	32	36	35	0	0	0	0	0		
DZ	47	75	34	58	36	35	41	38	56	56	56	56	56	56	56

GT5MA: *G. turneri* (individuo 5 - La Manga). GT7MA: *G. turneri* (Individuo 7 - La Manga). GT13MI: *G. turneri* (Individuo 13 - El Mirador). GT14MI: *G. turneri* (Individuo 14 - El Mirador). GT16MA: *G. turneri* (Individuo 16 - La Manga). GT16MI: *G. turneri* (Individuo 16 - El Mirador). GT17MA: *G. turneri* (Individuo 17 - La Manga). GT20MI: *G. turneri* (Individuo 20 - El Mirador). GA: *G. arboreum*. GH_CK: *G. hirsutum* cultivar coker 310. GH_HA: *G. hirsutum* cultivar Hainansijimain. GH_FP: *G. hirsutum* f palmeri (raza). GH_P: *G. hirsutum* var. punctatum. GH_MG: *G. hirsutum* var. marie-galante. DZ: *D. zibethinus*.

Apéndice N

Distancias genéticas por pares entre secuencias de rbcL+matK+ycf1 de *G. turneri* y grupos externos. Número en la parte inferior izquierda representan las distancias genéticas y números en la parte superior derecha el error estándar.

Especies	GT5MA	GT7MA	GT13MI	GT14MI	GT16MA	GT16MI	GT17MA	GT20MI	GA	GH_CK	GH_HA	GH_FP	GH_P	GH_MG	DZ
GT5MA	0.005	0.003	0.004	0.003	0.003	0.003	0.004	0.004	0.005	0.005	0.005	0.005	0.005	0.005	0.006
GT7MA	0.042	0.005	0.005	0.005	0.005	0.005	0.005	0.005	0.006	0.006	0.006	0.006	0.006	0.006	0.008
GT13MI	0.013	0.036	0.004	0.002	0.002	0.001	0.002	0.002	0.005	0.005	0.005	0.005	0.005	0.005	0.006
GT14MI	0.026	0.037	0.022	0.004	0.004	0.004	0.004	0.004	0.005	0.005	0.005	0.005	0.005	0.005	0.007
GT16MA	0.013	0.038	0.004	0.021	0.002	0.002	0.003	0.002	0.005	0.005	0.005	0.005	0.005	0.005	0.006
GT16MI	0.013	0.037	0.002	0.023	0.005	0.005	0.003	0.002	0.005	0.005	0.005	0.005	0.005	0.005	0.006
GT17MA	0.017	0.041	0.007	0.026	0.008	0.008	0.008	0.003	0.005	0.005	0.005	0.005	0.005	0.005	0.006
GT20MI	0.016	0.037	0.004	0.026	0.006	0.006	0.010	0.010	0.005	0.005	0.005	0.005	0.005	0.005	0.006
GA	0.035	0.044	0.030	0.036	0.030	0.030	0.032	0.033	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.007
GH_CK	0.035	0.044	0.030	0.036	0.030	0.030	0.032	0.033	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.007
GH_HA	0.035	0.044	0.030	0.036	0.030	0.030	0.032	0.033	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.007
GH_FP	0.035	0.044	0.030	0.036	0.030	0.030	0.032	0.033	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.007
GH_P	0.035	0.044	0.030	0.036	0.030	0.030	0.032	0.033	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.007
GH_MG	0.035	0.044	0.030	0.036	0.030	0.030	0.032	0.033	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.007
DZ	0.049	0.073	0.039	0.060	0.040	0.039	0.044	0.042	0.059	0.059	0.059	0.059	0.059	0.059	0.059

GT5MA: *G. turneri* (individuo 5 - La Manga). GT7MA: *G. turneri* (Individuo 7 - La Manga). GT13MI: *G. turneri* (Individuo 13 - El Mirador). GT14MI: *G. turneri* (Individuo 14 - El Mirador). GT16MA: *G. turneri* (Individuo 16 - La Manga). GT16MI: *G. turneri* (Individuo 16 - El Mirador). GT17MA: *G. turneri* (Individuo 17 - La Manga). GT20MI: *G. turneri* (Individuo 20 - El Mirador). GA: *G. arboreum*. GH_CK: *G. hirsutum* cultivar coker 310. GH_HA: *G. hirsutum* cultivar Hainansijimain. GH_FP: *G. hirsutum* f palmeri (raza). GH_P: *G. hirsutum* var. punctatum. GH_MG: *G. hirsutum* var. marie-galante. DZ: *D. zibethinus*.

Apéndice O

Número de diferencias nucleotídicas por pares entre secuencias de rbcL+ matK+ycf1 de *G. turneri* y grupos externos. Número de sitios polimórficos en las secuencias: 126

Especies	GT5MA	GT7MA	GT13MI	GT14MI	GT16MA	GT16MI	GT17MA	GT20MI	GA	GH_CK	GH_HA	GH_FP	GH_P	GH_MG	DZ
GT5MA															
GT7MA	52														
GT13MI	16	45													
GT14MI	33	46	28												
GT16MA	17	47	5	26											
GT16MI	17	46	3	29	6										
GT17MA	21	51	9	33	10	10									
GT20MI	20	46	5	32	8	7	13								
GA	43	55	37	45	38	38	40	41							
GH_CK	43	55	37	45	38	38	40	41	0						
GH_HA	43	55	37	45	38	38	40	41	0	0					
GH_FP	43	55	37	45	38	38	40	41	0	0	0				
GH_P	43	55	37	45	38	38	40	41	0	0	0	0			
GH_MG	43	55	37	45	38	38	40	41	0	0	0	0	0		
DZ	60	89	48	73	50	49	55	52	72	72	72	72	72	72	72

GT5MA: *G. turneri* (individuo 5 - La Manga). GT7MA: *G. turneri* (Individuo 7 - La Manga). GT13MI: *G. turneri* (Individuo 13 - El Mirador). GT14MI: *G. turneri* (Individuo 14 - El Mirador). GT16MA: *G. turneri* (Individuo 16 - La Manga). GT16MI: *G. turneri* (Individuo 16 - El Mirador). GT17MA: *G. turneri* (Individuo 17 - La Manga). GT20MI: *G. turneri* (Individuo 20 - El Mirador). GA: *G. arboreum*. GH_CK: *G. hirsutum* cultivar coker 310. GH_HA: *G. hirsutum* cultivar Hainansijimain. GH_FP: *G. hirsutum* f palmeri (raza). GH_P: *G. hirsutum* var. punctatum. GH_MG: *G. hirsutum* var. marie-galante. DZ: *D. zibethinus*.