



03041
7

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
UNIDAD DE LOS CICLOS PROFESIONAL
Y DE POSGRADO DEL C.C.H.**

**"ESTRUCTURA GENETICA DE DOS CACTACEAS COLUMNARES DEL
DESIERTO SONORENSE: *STENOCEREUS GUMMOSUS* Y *S. ERUCA*
(CACTACEAE)"**

TESIS
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
MAESTRO EN ECOLOGIA

Presenta:
Ricardo Clark Tapia

Director de Tesis:
Dr. Francisco Molina Frenaner

278003

MEXICO, D.F.

abril del 2000



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

A Cecilia

Con amor

AGRADECIMIENTOS

- ❖ Al Dr. Francisco Molina Freaner, quién fue el director de esta tesis y me ha brindado todo su apoyo durante estos últimos cuatro años. Gracias por su paciencia, amistad y apoyo económico para conmigo.
- ❖ Al Dr. Luis Eguiarte y Dr. Alfonso Valiente les agradezco mucho haber aceptado ser parte del comité tutorial. Les agradezco también sus valiosos comentarios durante el desarrollo de la investigación, los cuales ayudaron a mejorar la calidad de la misma.
- ❖ A los miembros del jurado, Dra. Teresa Valverde, Dra. María del Carmen Mandujano, Dr. Jorge Gonzales Astorga, Dr. Luis Eguiarte y Dr. Alfonso Valiente, les agradezco la minuciosa revisión que hicieron del manuscrito. Gracias a sus sugerencias se pudo mejorar la versión final.
- ❖ Agradezco también los valiosos comentarios del Dr. Jorge E. Campos. de la M.C. Irene León y del Biol. Gabriel Valencia.
- ❖ A mis compañeros de laboratorio: Grethel Ramírez por su apoyo en la preparación de buffers y diversas soluciones, las cuales facilitaron en gran medida mi trabajo. A Toño Hernández por haberme enseñado la técnica de electroforesis y haberme asesorado con algunos análisis estadísticos. A Mauricio Cervantes principalmente por sus conversaciones, ya que estás junto a las bromas de Grethel y Toño hicieron más llevadera la vida en laboratorio.
- ❖ A Jesús Vargas por haberme facilitado su tiempo y computadora para la elaboración de fenogramas.
- ❖ A Carolina Espinoza por resolver miles de problemas y trámites académicos, siempre de buen humor y con la mejor disposición.
- ❖ A mi madre (María) y hermanos (Judith, Carlos y César) por brindarme siempre su apoyo y cariño. También a mi tía (Socorro) y primas (Elena y Socorro) por sus consejos y ayuda incondicional, en los momentos difíciles.
- ❖ Por último, agradezco y dedico esta tesis a Cecilia Alfonso por su paciencia, amor y sobre todo su presión para titularme.
- ❖ Este trabajo fue realizado gracias a una beca de maestría del CONACYT (agosto de 1996 a junio de 1998), así como el apoyo económico otorgado por DGAPA proyecto PAPIIT IN-211997 y al apoyo otorgado por la CONABIO al proyecto "Estructura genética y biología reproductiva de *Stenocereus eruca*: cactácea endémica amenazada de las planicies de Magdalena, B.C.S." dirigido por el Dr. Francisco Molina Freaner.

INDICE

RESUMEN.....	i
INTRODUCCION.....	1
Filogenia de cactáceas.....	1
Especiación.....	2
Genética de poblaciones.....	5
Variación genética.....	5
Fuerzas evolutivas.....	6
Patrones de variación.....	7
Genética de la conservación.....	11
Genética de poblaciones del Desierto Sonorense.....	11
Historia del Desierto Sonorense.....	12
Problemas a estudiar.....	14
Objetivos.....	15
ESPECIE DE ESTUDIO.....	16
MATERIAL Y METODOS.....	20
RESULTADOS.....	26
DISCUSION.....	42
Comparación de la variación genética de <i>S. gummosus</i> y <i>S. eruca</i> con otras especies.....	42
Frecuencias alélicas de <i>S. gummosus</i> y <i>S. eruca</i>	45
Diferenciación genética entre poblaciones de <i>S. gummosus</i> y <i>S. eruca</i>	46
Índices de fijación F y estadísticos F de Weir y Cockerham de <i>S. gummosus</i> y <i>S. eruca</i>	49
Especiación y movimientos migratorios de <i>S. gummosus</i>	50
Factores históricos que influyen en la variación genética de <i>S. gummosus</i>	52
Genética de la conservación para las poblaciones de <i>S. eruca</i>	54
Estructura clonal de <i>S. gummosus</i> y <i>S. eruca</i>	55
¿Pueden ser los altos niveles de endogamia producto de la clonalidad?.....	58
Origen de <i>S. eruca</i>	60
CONCLUSIONES.....	62
LITERATURA CITADA.....	63
APENDICE 1.....	69
APENDICE 2.....	72

RESUMEN

En este estudio se caracteriza la estructura genética de dos cactáceas columnares del Desierto Sonorense estrechamente relacionadas: *Stenocereus gummosus* y *S. eruca*. La estructura genética se caracterizó usando isoenzimas como marcadores. *S. gummosus* es una especie que se reproduce sexual y clonalmente y presenta un patrón de distribución geográfica disyunta que sugiere movimientos de migración de Baja California a Sonora. En cambio, *S. eruca* es una especie endémica de las planicies de Magdalena, B.C.S, que presenta también ambas alternativas de reproducción. En este trabajo se puso a prueba la hipótesis de los movimientos migratorios de *S. gummosus* y la hipótesis de las relaciones filogenéticas entre *S. gummosus* y *S. eruca* propuestas por Gibson (1989). Se evaluó además, el estado actual de la estructura genética de *S. eruca* con la finalidad de plantear algunas estrategias viables para su conservación. El análisis de las frecuencias alélicas y los fenogramas de las poblaciones de *S. gummosus* apoyan parcialmente la hipótesis de Gibson (1989) sobre el origen peninsular y la colonización de la costa de Sonora a través de las islas del golfo. De igual forma, el análisis de isoenzimas en ambas especies muestra que la composición alélica de *S. eruca* representa un subconjunto de la observada en *S. gummosus* y que las medidas de variabilidad genética (%P y H_e) son más altas en *S. gummosus*. Estos resultados sugieren que ambas especies son filogenéticamente muy cercanas y apoyan la hipótesis de Gibson (1989) sobre el origen reciente de *S. eruca* a partir de un ancestro similar a *S. gummosus*. Los niveles de diferenciación genética (θ) fueron moderados ($\theta = 0.102$ para *S. gummosus* y $\theta = 0.069$ para *S. eruca*) mientras que la endogamia local fue relativamente alta ($f = 0.608$ para *S. gummosus* y $f = 0.739$ para *S. eruca*). También se caracterizó la estructura clonal mediante índices de diversidad genotípica. Se encontró que la tasa de descubrimiento genotípica (G/N) promedio de *S. gummosus* y *S. eruca* fue de 0.72 y 0.54, respectivamente. Este resultado sugiere que ambas especies presentan eventos de reproducción sexual y vegetativa, e indica que *S. eruca* es más clonal que *S. gummosus*. Finalmente, el análisis de la variación genética de las poblaciones de *S. eruca* sugieren que esta especie no se encuentra depauperada genéticamente. Se propone una estrategia de conservación *in-situ* para la población más grande de la especie (Salinas) mediante su protección permanente y una estrategia *ex-situ* para las poblaciones en riesgo inminente de extinción.

INTRODUCCION

La biología evolutiva pretende describir y analizar la historia de la evolución y determinar sus causas y mecanismos (Futuyma 1998). Esta disciplina ha sido históricamente dividida en dos áreas: la macroevolución y la microevolución. La macroevolución estudia la evolución a gran escala, como son el origen de nuevos órganos o de nuevas taxa (por arriba del nivel de especie), basándose en el estudio del registro fósil. Por otro lado, la microevolución estudia la evolución en una escala de tiempo ecológico analizando los cambios en las frecuencias génicas dentro de una población. La división convencional entre macro y microevolución es la especiación: los eventos por debajo de este nivel se consideran como microevolutivos y por arriba de este nivel corresponden a macroevolutivos (Ridley 1995). En esta introducción se revisa brevemente los escasos trabajos sobre la filogenia y especiación de cactáceas para luego pasar al tema principal de esta tesis: el estudio de la estructura genética, el cual se encuentra inmerso en el contexto de la microevolución.

Filogenia de cactáceas

La clasificación taxonómica de las cactáceas ha despertado gran interés desde la época de la colonia (Bravo 1978). Estas clasificaciones han ido modificándose con el transcurso del tiempo, desde las primeras divisiones genéricas propuestas por Miller en 1798 (en Bravo 1978), hasta las de Buxbaum (1958) y Britton y Rose (1963) realizadas con caracteres morfológicos. Recientemente algunas de las ideas filogenéticas dentro de la familia han sido analizadas usando caracteres moleculares (Wallace 1995).

Estudios recientes en sistemática molecular han identificado una inversión en el ADN del cloroplasto de aproximadamente 6 kilo bases (Kb) en la región de la copia sencilla grande en la familia Cactaceae. Esta rara inversión representa un carácter filogenético útil que han permitido inferir el origen monofilético de la familia y contradicen la posible relación filogenética entre familias del orden *Caryophyllales* (*Portulacaceae*, *Didieriaceae*, *Basellaceae*, *Aizoaceae*, *Phytolaccaceae* y *Nyctaginaceae*) sugerida por Rodman *et al.* (1984) con la familia *Cactaceae* (Cota y Wallace 1996).

La familia Cactaceae fue dividida por Buxbaum (1958) en tres subfamilias: *Pereskioideae*, *Opuntioideae* y *Cactoideae*. Los estudios comparativos de las secuencias del gene cloroplástico *rbcl* han aportado evidencia que apoyan la idea de que las subfamilias *Opuntioideae* y *Cactoideae* son monofiléticas. Sin embargo, el origen monofilético de la subfamilia *Pereskioideae* no está bien comprobado y necesita ser reevaluado (Wallace 1995).

Buxbaum (en Gibson 1988) estableció dentro de la subfamilia *Cactoideae* a la tribu *Pachycereae*. Gibson y Horak (1978) sugieren que la tribu *Pachycereae* está cercanamente relacionada a especies del género *Armatocereus* (de la tribu *Leptocereae*) de Centro América.

Estudios recientes realizados por Cota y Wallace (1997) usando sitios de restricción en el ADN del cloroplasto apoyan la idea de que la tribu *Pachycereae* es monofilética.

Buxbaum (en Gibson 1988) reconoció además a cuatro grupos dentro de la tribu *Pachycereae*, conformados por las subtribus: *Pterocereinae*, *Myrtillocactinae*, *Pachycereinae* y *Stenocereinae*. Basándose en datos bioquímicos y morfológicos, Gibson y Horak (1978) propusieron que las subtribus *Pachycereinae* y *Stenocereinae* tenían un origen monofilético. Los resultados obtenidos por Cota y Wallace (1997) aportan evidencia que permiten reconocer como monofiléticas a estas subtribus.

Recientemente, Cornejo y Simpson (1997) construyeron una filogenia de la tribu *Pachycereae* (Fig. 1) basándose principalmente en trabajos realizados por Arthur Gibson con caracteres morfológicos. Esta filogenia incluye a 47 especies de las 68 especies generalmente reconocidas para la tribu *Pachycereae*. Aún cuando esta filogenia no está completamente resuelta, ni incluye información de la longitud de las ramas, concuerda en topología con la filogenia desarrollada por Wallace (ver Cornejo y Simpson 1997). En esta filogenia se puede apreciar cómo las especies de estudio en esta tesis, *Stenocereus gummosus* y *S. eruca*, están cercanamente relacionadas y estas a su vez, están cercanas a *S. treleasei* y *S. stellatus*.

Especiación

La especiación es el proceso evolutivo que da origen a nuevas especies. El estudio de los procesos de especiación se ha enfocado principalmente al análisis de los mecanismos de aislamiento reproductivo y poco a la determinación de los cambios morfológicos y genéticos propios del proceso de formación de especies (Rice y Hoester 1993). La especiación es considerada como la clave para la comprensión de los procesos evolutivos (Templeton 1981), debido a que este proceso subyace al origen de la diversidad (Futuyma 1998). Sin embargo, el estudio de la especiación presenta serios problemas, tales como la dificultad para realizar trabajo experimental, la complejidad del material y la escala de tiempo involucrada (Barton y Charlesworth 1984).

Un mecanismo universalmente aceptado de formación de especies es la especiación alopátrica (Templeton 1981; Futuyma 1998). La condición básica para que ésta opere, es que una población debe ser separada por una barrera geográfica. Las poblaciones fragmentadas irán acumulando diferencias genéticas a través del tiempo, desarrollando distintos sistemas de reconocimiento y adaptación local hasta que se conviertan en diferentes especies. Se considera que la especiación alopátrica es el principal modo de especiación que se da en la mayoría de las plantas y animales (Hartl y Clark 1989).

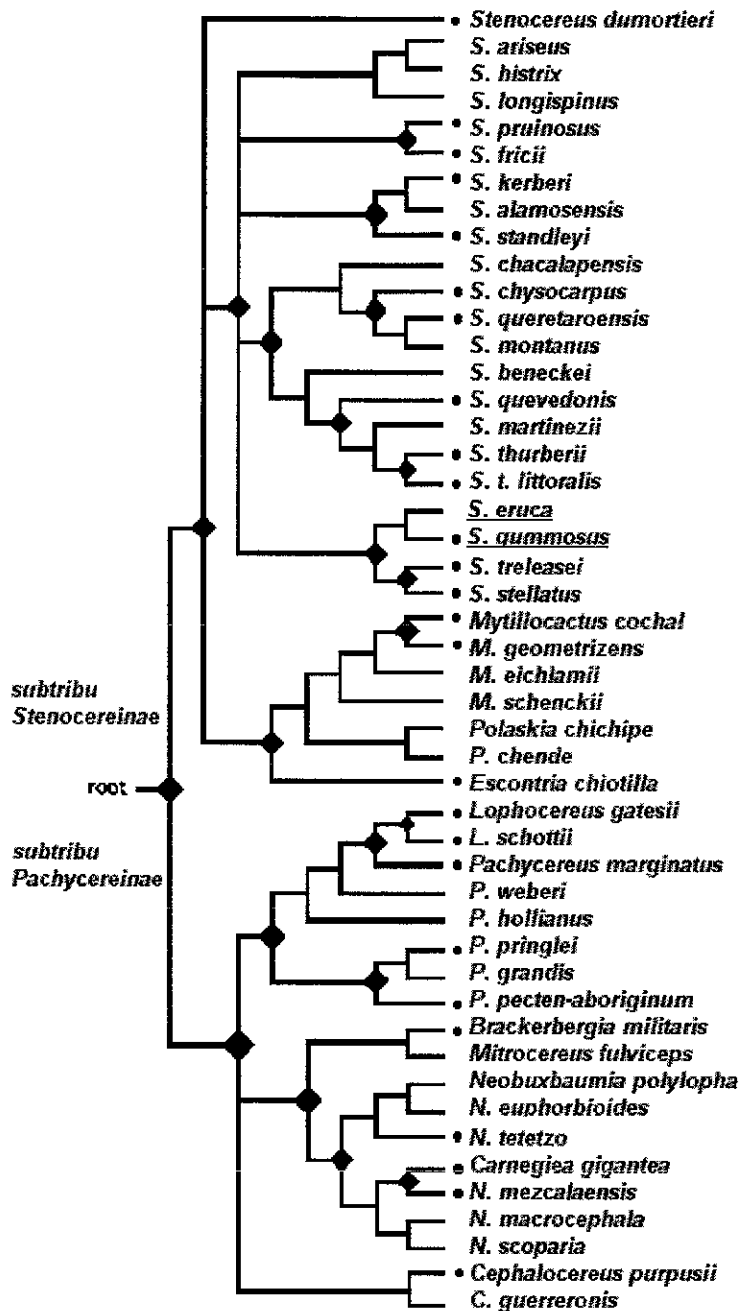


Fig. 1.- Filogenia de la tribu Pachycereae. Los puntos en las uniones de la topografía filogenética identifica los 21 nodos ancestrales usados en la transformación filogenética (Tomado de Cornejo y Simpson 1997).

Gibson y Nobel (1986) proponen que este modo de especiación es probablemente el más importante en la familia Cactaceae. Estos autores sugieren que este mecanismo de especiación alopátrico fue importante en el origen de tres especies del género *Stenocereus* (*S. standleyi*, *S. kerberi* y *S. alamosensis*) de un ancestro común similar a miembros del género *Rathbunia* que involucró una selección de la morfología floral por polinizadores. El primer

escenario involucra la divergencia de *S. standleyi* de las *Rathbunias* debido probablemente a una separación geográfica de las especies y a una selección de la morfología floral de acuerdo a formas diferentes de polinización.

Bajo el modelo propuesto por Gibson y Nobel (1986) el segundo escenario involucra un ancestro de las *Rathbunias* polinizado por esfingidos, el cual dio origen a *S. alamosensis* de Sinaloa y Sonora y a *S. kerberi* del eje neovolcánico ambas especies polinizadas por colibríes.

Otro ejemplo de especiación alopátrica es el propuesto por Gibson (1989) que involucra a una de nuestras especies de estudio: *S. gummosus*. Dicho autor propone que ésta se originó probablemente a partir de un ancestro similar a *S. stellatus* (actualmente distribuido en el Valle de Tehuacán) debido a la separación física que se produjo entre Baja California y el continente hace alrededor de 5 millones de años (M.a). Al separarse Baja California se creó una barrera geográfica que ocasionó que el ancestro similar a *S. stellatus* especiara a *S. gummosus*.

La especiación simpátrica es otro de los mecanismos de especiación (Templeton 1981; Futuyma 1998). En este modelo, las especies se originan o divergen sin que exista una barrera geográfica que separe a la población original. El factor más importante que se ha identificado como causante de este tipo de especiación es la segregación ecológica.

La poliploidia es un fenómeno que puede funcionar como mecanismo de especiación. Este fenómeno es reconocido mundialmente debido a que es el único modo de especiación instantánea que involucra eventos genéticos que ocurren en un solo individuo (Futuyma 1998). La poliploidia se caracteriza por el incremento en el número de cromosomas. Este mecanismo de especiación está ampliamente distribuido en las angiospermas, donde más del 50% de las especies son poliploides (Grant 1971; Futuyma 1998). Los poliploides naturales están en un continuum entre dos extremos llamados autopoliploidia y aloploidia (Futuyma 1998). Las plantas autopoliploides son poliploides derivados de la unión de gametos de individuos genética y cromosómicamente compatibles que provienen de la misma especie. En cambio, las plantas aloploides son poliploides derivados de dos ancestros de especies diferentes que forman híbridos; estos híbridos son parcialmente estériles debido a incompatibilidad genética y cromosómica (Futuyma 1998).

En las subfamilias *Pereskioideae* y *Cactoideae* se considera que la poliploidia es un mecanismo de formación de especies poco importante, ya que menos del 12% de las especies de estas subfamilias son poliploides (Pinkava *et al.* 1985). Sin embargo, en la subfamilia *Opuntioideae* se cree que la poliploidia es un modo de especiación muy importante, ya que más del 60% de las especies son poliploides (Pinkava *et al.* 1985).

Genética de Poblaciones

El estudio de la genética de poblaciones está enmarcado dentro de la microevolución. La genética de poblaciones es, junto con la ecología, una de las pocas disciplinas biológicas que cuentan tanto con un desarrollo teórico como con uno observacional o empírico (Lewontin 1974).

La genética de poblaciones trata de explicar, en términos cuantitativos y predictivos, el proceso de adaptación (Eguiarte 1988, 1990; Hartl y Clark 1989), y ayuda a comprender el proceso de especiación (Hartl y Clark 1989; Futuyma 1998). Los genetistas de poblaciones han definido la evolución como el cambio sucesivo en las frecuencias alélicas en una población. Por lo tanto, cualquier fuerza o fenómeno que haga que cambien estas frecuencias, genera evolución (Eguiarte 1988). Este cambio en las frecuencias alélicas puede producir un incremento en la adaptación de los organismos al ambiente en donde se encuentran (Eguiarte 1988; Hartl y Clark 1989).

La manera como se distribuye la variación genética dentro y entre poblaciones de la misma especie constituye su estructura genética. Describir la estructura genética de las poblaciones de organismos es el paso previo para entender qué fuerzas evolutivas han prevalecido en la evolución de estas poblaciones (Loveless y Hamrick 1984).

Variación Genética

El estudio moderno de los procesos evolutivos está basado en comprender los niveles de variación genética, los procesos por los cuales ésta se origina y los factores que alteran los patrones de variación en las poblaciones (Futuyma 1998). Las técnicas de la biología molecular desarrolladas a partir de los años 60's han permitido observar una gran variabilidad genética en poblaciones naturales (Lenay 1994; Hartl y Clark 1989). El procedimiento más utilizado para estimar niveles de variación ha sido principalmente la electroforesis de proteínas (Eguiarte y Piñero 1990; Hartl y Clark 1989, Leberg 1992).

Esta técnica puede detectar algunas diferencias en la secuencia de nucleótidos cuando ésta tiene efectos en la sustitución de uno o varios aminoácidos y éstos a su vez, en la estructura final de la proteína. Las diferencias en la composición de aminoácidos de las proteínas se pueden detectar por diferencias en polaridad y peso al aplicársele una corriente eléctrica. Ciertas sustituciones de aminoácidos alteran la carga neta de la proteína, lo que genera variantes (alelos) que pueden ser distinguidos por su movilidad electroforética. En el caso de que todos los individuos analizados presenten la misma movilidad electroforética, se considera que el gen (locus) es monomórfico. Si, por el contrario, la movilidad varía, se considera al locus polimórfico, en el que pueden distinguirse genotipos homocigos y heterocigos (Hedrick 1985; Futuyma 1998).

Fuerzas Evolutivas

La interpretación de la variación genética en las poblaciones de organismos diploides se fundamenta en el principio de Hardy-Weinberg, el cual establece que en poblaciones panmíticas y en ausencia de fuerzas evolutivas como selección natural, migración, deriva génica, endogamia y mutación, las frecuencias alélicas permanecen constantes de generación a generación (Hedrick 1985; Hartl y Clark 1989). Si se cumplen los supuestos de Hardy-Weinberg, las frecuencias de alelos y/o genotipos permanecen constantes y no hay evolución (Eguiarte 1988; Futuyma 1998).

La selección natural es básicamente un proceso que ocurre cuando existe una sobrevivencia y reproducción diferencial de genotipos; es decir, cuando los genotipos difieren en su habilidad para sobrevivir y reproducirse en un ambiente. Como resultado de esto, las frecuencias de alelos pueden cambiar gradualmente o permanecer estables, promoviendo una mayor adaptación al ambiente (Hartl y Clark 1989).

La deriva génica es una fuerza que cambia las frecuencias alélicas simplemente por errores de muestreo durante la transmisión de genes de una generación a otra. Entre más pequeña sea la población, más drásticos pueden ser estos errores de muestreo y con mayor rapidez pueden cambiar las frecuencias alélicas. Este proceso reduce la variación genética (medida por la frecuencia de heterócigos) dentro de las poblaciones pequeñas y puede ocasionar eventualmente que se fijen o pierdan alelos (Eguiarte 1988, Hartl y Clark 1989). La dispersión de las frecuencias génicas producida en la deriva es mayor cuando el número de individuos es muy reducido y, por lo tanto, la deriva puede considerarse de importancia en todas las poblaciones naturales cuyo tamaño es pequeño y/o en poblaciones que han pasado por un cuello de botella (Hartl y Clark 1989; Futuyma 1998). La deriva génica se asemeja considerablemente a la endogamia, en el sentido de que en ambos casos se produce una deficiencia de heterócigos (Eguiarte 1988; Futuyma 1998).

La endogamia es un fenómeno que reduce la frecuencia de heterócigos e incrementa la frecuencia de homócigos dentro de una población (Eguiarte 1988; Hartl y Clark 1989; Futuyma 1998). Los efectos de la endogamia en las frecuencias genotípicas son especialmente evidentes en especies de plantas que se autopolinizan, ya que la autopolinización reduce la heterocigosis (Futuyma 1998). La endogamia puede ser ocasionada también por cruza entre parientes causada por tamaños efectivos pequeños en poblaciones naturales (Ellstrand y Ellam 1993).

La migración o flujo génico puede contrarrestar los efectos de la deriva génica, debido a que la migración tiene un fuerte efecto homogenizador entre las distintas poblaciones y si esta continúa por mucho tiempo, eventualmente las poblaciones quedarán idénticas (Eguiarte 1988; Futuyma 1998). Este proceso depende de dos cosas: a) la tasa de migración (m), definida como

la proporción de inmigrantes que llegan a la población; y b) la frecuencia alélica de los individuos migrantes. El flujo génico puede aumentar la variabilidad genética existente en una población y dicha variación puede ser importante desde el punto de vista selectivo. Sin embargo, la migración puede introducir genes adaptados a otras condiciones y en consecuencia disminuir la adaptación promedio de la población (Eguiarte 1988; Slatkin 1987).

El movimiento de genes entre poblaciones tiene una influencia significativa sobre la estructura genética de las mismas. Las altas tasas de flujo génico incrementan los tamaños efectivos de población y reducen la diferenciación genética entre poblaciones, que podría darse por procesos de deriva génica o selección. De esta forma, las especies con mayor flujo génico muestran una menor diferenciación entre poblaciones que las especies con un flujo génico restringido (Hamrick 1989).

La mutación es una fuerza evolutiva muy importante, ya que es la fuente original de la variación. Sin embargo, las tasas de mutación en la naturaleza son muy bajas: en promedio un locus presenta una tasa cercana a 10^{-6} a 10^{-5} mutaciones por gameto por generación, mientras que la tasa de mutación promedio para pares de bases es de aproximadamente 10^{-9} . Se considera que la mutación es una fuerza que produce pocos cambios en las frecuencias alélicas (Eguiarte 1988; Futuyma 1998).

Patrones de variación

Se han observado diversos patrones de variación asociados con caracteres ecológicos y de historia de vida de las especies que repercuten en la estructura genética de las poblaciones (Loveless y Hamrick 1984; Hamrick 1989). Entre los factores ecológicos más importantes podemos mencionar: sistemas reproductivos, morfología floral, mecanismos de polinización, dispersión de semillas, ciclo de vida y área geográfica de distribución (Loveless y Hamrick 1984). Por ejemplo, se conoce que las especies leñosas presentan una mayor variación genética entre poblaciones que las herbáceas (Hamrick 1989; Hamrick *et al.* 1992) y que las especies polinizadas por viento presentan un índice de polimorfismo y variación mayor que aquellas polinizadas por animales (Hamrick *et al.* 1979; Loveless y Hamrick 1984).

Uno de los enfoques que ha sido usado para estudiar el efecto de características ecológicas sobre la estructura genética de poblaciones de plantas es la comparación de especies del mismo género que difieren en uno o más atributos ecológicos (Loveless y Hamrick 1984; Hamrick 1989). Aunque con limitaciones, este enfoque ha permitido establecer algunas generalidades sobre la influencia de características ecológicas y de historia de vida en la estructura genética. Debido a la relevancia de las especies estudiadas en esta tesis, aquí se discuten cuatro características ecológicas que son: a) comparaciones entre especies de reproducción exclusivamente sexual contra especies de reproducción sexual y asexual; b)

comparaciones entre especies con hábitat restringido contra especies con amplia distribución; c) comparaciones de poblaciones (o especies) de islas contra poblaciones (o especies) continentales y d) comparaciones entre especies que se supone se originaron recientemente contra especies que se supone son ancestrales.

Reproducción Sexual vs. Sexual/Asexual

La reproducción es el mecanismo que permite la perpetuación de las especies a través de una sucesión de generaciones y un período prolongado de tiempo (Grant 1971). La reproducción sexual involucra la formación y fusión de gametos; en cambio la reproducción asexual no necesariamente presenta formación de gametos e involucra una gran gama de estructuras vegetativas.

Existen dos tipos de reproducción asexual (Silander 1985): la agamosperma, que es cuando se producen semillas o embriones sin fertilización y la reproducción vegetativa o clonal, la cual involucra la reproducción a través de estructuras vegetativas tales como rizomas, estolones, chupones, vástagos y bulbillos (Grant 1971; Silander 1985).

Aún cuando las especies con reproducción asexual han sido poco estudiadas desde un punto de vista genético, se ha observado que estas mantienen más o menos los mismos niveles de diversidad genética que las especies con reproducción sexual (Ellstrand y Roose 1987; Hamrick y Godt 1989; Parker y Hamrick 1992). Por ejemplo, las especies de larga vida de estados sucesionales tardíos que se reproducen sexual y asexualmente, muestran una tendencia a tener mayor variabilidad dentro de sus poblaciones y menor subdivisión poblacional que las especies con reproducción exclusivamente sexual (Loveless y Hamrick 1984; Hamrick y Godt 1989).

Existen pocos estudios comparativos de variación genética entre poblaciones sexuales y asexuales dentro de la misma especie o entre especies relacionadas cercanamente. Por ejemplo, Usberti y Jain (1978) compararon poblaciones sexuales y asexuales de *Panicum maximum* y encontraron pocas diferencias en variación genética entre ellas. Por otra parte, Breese y Hayward (en Silander 1985) demostraron que existe mayor variación genética en poblaciones asexuales de algunas especies de pastos que en especies predominantemente sexuales.

Sin embargo, estudios recientes en plantas clonales han demostrado que estas en general, tienen una estructura genética constituida por un mosaico de clones donde cada una de las poblaciones pareciera ser única en su composición genética y ello podría tener implicaciones adaptativas y ser importantes en el contexto evolutivo de las especies clonales (Alper *et al.* 1993; Lokker *et al.* 1994). Si la especie no presenta muchos eventos recombinatorios, la variabilidad

genética clonal puede ocasionar una disminución en la carga genética por un lado, y garantizar el mantenimiento de cierta diversidad genética por otro (Bayer 1991).

El supuesto de que las especies clonales presentan menores niveles de variación genética es probable que se deba a la escasa evidencia empírica de que se dispone. Las diferencias en variación genética entre poblaciones sexuales y asexuales pueden ser debidas a otros factores tales como diferencias en los sistemas reproductivos, características ecológicas de la población, régimen de selección u otros factores (ver Silander 1985).

Distribución amplia y restringida

Estudios comparativos con especies de plantas que presentan áreas de distribución geográfica de tamaños contrastantes muestran que las especies con una distribución restringida, tales como las endémicas (Kruckeberg y Rabinowitz 1985; Hamrick y Godt 1989) o las especies que han pasado recientemente por un cuello de botella (Eguiarte y Piñero 1990), presentan por lo general bajos niveles de diversidad genética comparadas con especies ampliamente distribuidas (Karron 1987; Waller *et al.* 1987). Sin embargo, en estos casos no es posible saber si la especificidad en el hábitat es una causa o una consecuencia de los bajos niveles de variación genética. Diversos autores opinan que los factores históricos pueden explicar de mejor manera los niveles de variación de especies con diferentes tipos de distribución geográfica (Hamrick *et al.* 1979). Por el contrario, otros como Primack (1980) sugieren que las especies restringidas en ocasiones tienen una mayor variación genética dentro de sus poblaciones que especies de amplia distribución, ya que estas pueden tener una dispersión restringida de semillas y adaptaciones locales al ambiente, factores que contribuyen a que una población sea genéticamente heterogénea.

A pesar de que son pocos los estudios comparativos entre especies cercanas filogenéticamente y con distribuciones geográficas contrastantes, se ha observado que el patrón encontrado generalmente es el de una mayor diversidad genética en especies ampliamente distribuidas con relación a especies de hábitat restringido (Karron 1987). Por ejemplo, Pleasants y Wendel (1989) encontraron que la especie *Erythronium albidum* presenta mayor diversidad genética que la especie endémica *E. propullans*. Sin embargo, existen excepciones en las que se observa mayor variación genética en especies con distribución restringida, como por ejemplo en el estudio realizado por Sytsma y Schaal (1985) con cuatro especies de hábitat restringido y una de amplia distribución del género *Lisianthus*. Ellos encontraron que las especies restringidas presentaban una mayor variabilidad en términos de polimorfismo y número de alelos por locus, con respecto a la especie de amplia distribución en la que no se detectó variación en ninguno de los loci analizados.

Islas y Continentes

Los estudios comparativos de poblaciones continentales y de islas pueden proveer información valiosa de procesos ecológicos y evolutivos involucrados en la colonización de islas (Affre et al. 1997). Frankham (1997) encontró que la gran mayoría de las poblaciones de islas estudiadas (165 de 202) presentan bajos niveles de variación genética en comparación con sus contrapartes continentales.

De acuerdo a Jaenike (1973) y Frankham (1997) estas diferencias en variación genética entre islas y continentes pueden ser determinadas por el número de fundadores, tamaño de la población después de la fundación, por las tasas de inmigración y nuevas mutaciones. Por otra parte, estas diferencias en variación pueden ser debidas al tamaño de la isla, tasas de dispersión y distancia de la isla al continente (Jaenike 1973; Frankham 1997). Los casos en que las islas presentan mayor variabilidad son cuando las poblaciones continentales son derivadas de poblaciones de islas (Tsumura y Ohba 1993 en Frankham 1997), cuando las poblaciones de islas son más grandes que las continentales (Chung 1994 en Frankham 1997) o cuando ocurren eventos de especiación en las islas (Giddings et al. 1989 en Frankham 1997).

Especie derivada y ancestral

En los últimos años, se ha visto que los datos moleculares son importantes para inferir relaciones filogenéticas, debido a que algunos de ellos (*i.e.* secuencias de ADN) pueden proporcionar más caracteres y más información que los datos morfológicos (especialmente para especies morfológicamente muy similares).

La variación genética dentro y entre poblaciones de dos especies nos permite conocer el grado de divergencia entre ellas. Esta divergencia genética puede ser estimada a través de los parámetros que se usan para describir la estructura genética (Gottlieb 1973a). Este mismo autor sugiere que si una especie ha sido derivada recientemente de otra, uno puede esperar: 1) que ambos taxa exhiban alta similitud isoenzimática; 2) que la especie derivada contenga un subconjunto de la variación genética de su supuesto progenitor; 3) que el supuesto progenitor contenga ciertos alelos (probablemente presentes en bajas frecuencias) no presentes en la especie derivada; y 4) que la especie derivada contenga uno o pocos alelos únicos debido al tiempo insuficiente para acumular nuevas mutaciones que generarán variación en la especie.

Crawford y Smith (1982) realizaron un estudio con *Coreopsis nuecensoides* y *C. nuecensis*, especies supuestamente relacionadas como progenitor y derivada, con base en características morfológicas y cromosómicas. Ellos encontraron que *C. nuecensis* es menos variable que su supuesto progenitor. Además, el supuesto progenitor posee alelos adicionales que no están incorporados en la especie derivada y la proporción de loci heterocigos por individuo es de 0.083 en *C. nuecensis* mientras que en *C. nuecensoides* es de 0.153. Este tipo

de evidencia ha sido interpretada como un indicio de que la especie derivada es menos variable genéticamente que su supuesto progenitor.

Los resultados obtenidos por Crawford y Smith (1982) son en general similares a los reportados para pares de especies que se suponen están relacionadas como progenitora y derivada en los géneros *Clarkia* (Gottlieb 1973a, 1974), *Stephanomeria* (Gottlieb 1973b), *Gaura* (Gottlieb y Pilz 1976) y *Erythronium* (Pleasants y Wendel 1989).

Genética de la Conservación

La diversidad del planeta está siendo reducida de una forma acelerada como consecuencia directa o indirecta de las diferentes acciones humanas (Frankham 1995). La acción antropogénica que tiene un impacto directo sobre la abundancia de los individuos en poblaciones naturales puede estar ocasionando una pérdida de la variación genética por endogamia y deriva génica, lo cual hace a las especies vulnerables a la extinción (Barrett y Kohn 1991; Eguiarte *et al.* 1992).

En la última década ha surgido un gran interés en la biología de la conservación considerando criterios genéticos para la conservación de las poblaciones como la heterocigosidad y diversidad alélica. Diversos investigadores sugieren que la heterocigosidad es más importante, ya que representa el potencial evolutivo, mientras que otros opinan que es necesario mantener la diversidad alélica. Sin embargo, aunque la diversidad alélica y la heterocigosis están estrechamente relacionadas, cuando las poblaciones pasan a través de un cuello de botella la diversidad alélica resulta más afectada que la heterocigosis (Frankham 1995). Consecuentemente, los estudios de genética de poblaciones pueden ser una herramienta útil para decidir el número de individuos por población y el número de poblaciones que se deben muestrear para conservación en bancos de germoplasma o reintroducciones, así como para determinar cuáles son las poblaciones críticas para conservación *in-situ* y delimitación de áreas protegidas (Lande 1988).

Genética de poblaciones en el Desierto Sonorense

Los desiertos constituyen uno de los ecosistemas de más amplia distribución en nuestro planeta, cubriendo alrededor del 30% de la superficie terrestre (Kigel 1995). El estudio de la flora y fauna de los desiertos ha mostrado que son lugares con alta diversidad biológica (Polis 1991) y que se caracterizan por presentar un alto porcentaje de endemismos (Bravo y Scheinvar 1995). Pese a su importancia, los desiertos han recibido poca atención en estudios de tipo genético poblacional en comparación con ambientes templados y tropicales.

El Desierto Sonorense no ha sido la excepción, ya que los trabajos realizados en esta región son escasos. Parker y Hamrick (1992) estudiaron la estructura genética de *Lophocereus schottii*. Ellos encontraron valores altos de diversidad genética ($H_e = 0.145$), similares a los

encontrados por Hamrick y Godt (1989) para especies con características ecológicas similares. Sus resultados sugieren que la presencia de ambos tipos de reproducción (sexual y asexual) ha sido importantes para el mantenimiento de la diversidad genética de la especie. En otro trabajo, Schuster *et al.* (1994) estudiaron la estructura genética de cuatro especies perennes del Desierto Sonorense (*Encelia farinosa*, *Larrea tridentata*, *Gutierrezia microcephala* y *Coleogyne ramosissima*). En este estudio se obtuvieron valores de H_e promedio para todas las especies de 0.173, que son comparables o mayores a los reportados por Hamrick y Godt (1989) para especies con características ecológicas similares. Estos resultados indican que en las especies de zonas áridas pueden encontrarse niveles altos de variación génica, comparables a otros ecosistemas. En los últimos años, el grupo de trabajo de Hamrick y Fleming (Hamrick *et al.* 2000) ha venido estudiando la estructura genética de cuatro cactáceas columnares del Desierto Sonorense (*Carnegiea gigantea*, *Lophocereus schottii*, *Pachycereus pringlei* y *Stenocereus thurberi*). Uno de los resultados más importantes de este trabajo es que los niveles de diferenciación genética entre poblaciones son mayores para especies polinizadas por insectos (*L. schottii* que tiene valores de $G_{ST}=0.242$), que para especies polinizadas por murciélagos y aves (como en *C. gigantea*, *P. pringlei* y *S. thurberi* que presentan valores de G_{ST} de 0.075, 0.076 y 0.112 respectivamente).

En otros estudios realizados con plantas en el Desierto Sonorense, Neel *et al.* (1996) evaluaron la diferenciación de un taxón supuestamente raro de *Echinocereus engelmannii* var. *munzii*, y la de otras variedades comunes de la misma especie. Aunque obtuvieron una variabilidad intrapoblacional substancial, no encontraron ninguna diferencia isoenzimática importante entre las poblaciones muestreadas. Recientemente Navarro (1999) realizó un trabajo sobre la estructura genética y procesos de especiación de *Agave cerulata* y *A. subsimplex* utilizando RAPD's, encontrando que ambas especies de Agaves presentan altos niveles de heterocigosis esperada (0.181 y 0.143 para *A. cerulata* y *A. subsimplex*, respectivamente). González (1999) realizó un trabajo similar con *Agave deserti*, y encontró que esta especie presenta también altos valores de heterocigosis esperada (0.210).

Historia del Desierto Sonorense

El Desierto Sonorense es uno de los biomas más jóvenes de Norte América, resultado de cambios climáticos hacia climas más secos ocurridos durante el Mioceno Tardío hace unos 8 a 15 millones de años (M.a.). Durante este período se desarrolló la vegetación desértica en Norteamérica y particularmente la del Desierto Sonorense (Van Devender 1998). Evidencias obtenidas de registros fósiles documentan que la vegetación en el noroeste de México durante el Oligoceno medio y tardío era tropical, de selva baja caducifolia (Van Devender 1998).

Por otra parte, estudios de paleovegetación realizados en diversas zonas del Desierto Sonorense, muestran que la extensión de este desierto no fue siempre la misma y sugieren que en cada uno de los 15-20 períodos glacial-interglacial del Pleistoceno ocurrieron cambios secuenciales en la vegetación (Van Devender 1997). Por ejemplo, en Cataviña y San Fernando, en Baja California, se han registrado bosques de pinos-juníperos y chaparral en el Wisconsiniano Tardío y junípero y chaparral en el Holoceno temprano seguido de la vegetación desértica moderna (Van Devender 1997; Peñalba y Van Devender 1998). Asimismo, registros obtenidos en las montañas de Puerto Blanco en Arizona indican que las especies *Carnegiea gigantea* y *Encelia farinosa* se reinstalaron tras una migración desde Sonora, poco después del inicio del presente periodo interglacial (el Holoceno), hace alrededor de 11,000 años (Van Devender 1998).

El matorral del Desierto Sonorense se formó hace cerca de 9,000 años con la desaparición de los últimos pinos y juníperos e incluso la fisionomía actual del matorral es relativamente moderna, formada hace cerca de 4,500 años con la instalación de *Cercidium microphyllum*, *Olneya tesota* y *Stenocereus thurberi* (Van Devender 1998).

Otro capítulo importante en la historia del Desierto Sonorense es la separación de la península de Baja California del continente. La formación del Golfo de California transformó radicalmente la geografía del noroeste de México en los últimos 5 a 12 M.a. como resultado del choque entre las placas tectónicas del Pacífico, de Norteamérica y la de Rivera (Lonsdale 1989; García 1997). Originalmente la península se encontraba unida al continente a 480 Km al sureste de su posición actual, sobre el margen continental de Jalisco (García 1997). Posterior a la separación de la península se dió la formación de diversas islas producto de transgresiones marinas o de eventos tectónicos. Islas como San Lorenzo Sur, San Esteban y Tiburón se formaron hace 2-3.3 M.a. (Gastil *et al.* 1983; Lonsdale 1989). De acuerdo a Cody *et al.* (1983) estas islas han funcionado como un puente para la migración de especies procedentes de la península de Baja California a Sonora y viceversa.

Los cambios climáticos y eventos geológicos que marcaron al continente Norteamericano en el Mioceno Tardío sugieren eventos de especiación de muchas de las plantas desérticas antes y durante la formación del Desierto Sonorense (Van Devender 1998). La formación de nuevas especies durante el período de separación de Baja California del continente (5 a 12 M.a), es parcialmente compatible con la escala de tiempo promedio de permanencia de las especies en el registro fósil, aproximadamente de 3 a 3.5 M.a. (Niklas 1997; Futuyma 1998).

El conocimiento de la historia de la vegetación y de los eventos geológicos que marcaron la configuración particular de los ecosistemas del noroeste de México, hace del Desierto Sonorense un excelente escenario para someter a prueba diversos modelos sobre el efecto de

una barrera geográfica (golfo de California) sobre la estructura y diferenciación genética de poblaciones de plantas.

Problemas a estudiar

En este trabajo se caracteriza la estructura genética de dos cactáceas columnares estrechamente relacionadas entre sí, *Stenocereus gummosus* y *S. eruca* por medio de un análisis de isoenzimas. Este par de especies proveen de una excelente oportunidad para examinar los efectos del hábito clonal, el área de distribución y los posibles efectos de fundador en la estructura genética de ambas especies.

S. gummosus (Fig. 2) es una especie con reproducción sexual y asexual, que presenta un patrón de distribución geográfica que sugiere movimientos de migración, dado que está ampliamente distribuida en casi toda la península de Baja California, está presente en la mayoría de las islas del Golfo de California y de manera muy restringida a la costa del estado de Sonora entre Bahía Kino y Desemboque (Fig. 3). Este patrón de distribución sugiere que esta especie migró de Baja California a Sonora a través de las islas, tal como lo propone Gibson (1989). Por otro lado, *S. eruca* (Fig. 4) es una especie endémica de una pequeña región de B.C.S., la cual se supone que se reproduce predominantemente por la vía asexual y que tiene una distribución restringida a las Planicies de Magdalena, B.C.S. (Fig. 5).

Un primer objetivo de este trabajo es el examinar la variación genética en ambas especies para investigar las relaciones filogenéticas entre *S. gummosus* y *S. eruca*. Una característica que comparten casi todas las especies del género *Stenocereus* es el hábito erecto o semierecto de sus tallos. *S. gummosus* presenta tallos semierectos (Fig. 2), mientras que *S. eruca* ha perdido este hábito sustituyéndolo por uno rastrero (Fig. 4). De acuerdo a un análisis hecho con caracteres morfológicos y químicos de *S. gummosus* y *S. eruca*, Gibson (1989) propone que *S. eruca* es una especie derivada recientemente de un ancestro similar a *S. gummosus*. La evidencia generada a partir de isoenzimas nos permitirá poner a prueba esta hipótesis, comparando la composición alélica y los niveles de variación genética de ambas especies. Diversos estudios han demostrado que las medidas de variabilidad genética (Heterocigosis esperada y polimorfismos) son menores en la especie derivada, y que la composición alélica de esta especie es un subconjunto de la composición alélica del supuesto ancestro (Gottlieb 1973a, 1973b, 1974; Gottlieb y Pilz 1976; Crawford y Smith 1982; Pleasants y Wendel 1989). Si la hipótesis de Gibson (1989) es correcta, en este trabajo esperamos encontrar un patrón de diversidad genética y alélica similar al encontrado entre pares de especies supuestamente relacionadas como progenitora y derivada.

Un segundo objetivo es evaluar la hipótesis propuesta por Gibson (1989) sobre el origen y los movimientos migratorios de *S. gummosus* y sus consecuencias en la estructura genética.

Con base en caracteres morfológicos y químicos, Gibson (1989) sugiere que la especie más cercana de *S. gummosus* es un *Stenocereus* que actualmente se encuentra en Tehuacan (*S. stellatus*), y que supuestamente estuvo distribuido por el Pacífico Mexicano. El escenario propuesto por este autor es que *S. gummosus* se originó de un ancestro parecido a *S. stellatus*, a través de un proceso de especiación alopátrico ocurrido durante la separación de Baja California del continente y posteriormente migró hacia Sonora a través de las islas del Golfo de California. Si lo propuesto por Gibson es correcto, se espera encontrar una estructura genética que refleje esta historia de colonización: una mayor diversidad y variación genética en la parte sur de la Península de Baja California y muy poca diversidad y variación genética en Sonora, debido a los posibles eventos de fundador asociados a la colonización.

El tercer objetivo es evaluar la diversidad clonal dentro de las poblaciones de *S. gummosus* y *S. eruca*. Este par de especies presentan ambos tipos de reproducción (sexual y vegetativa), lo que permite realizar un estudio comparativo entre especies cercanas filogenéticamente.

El último objetivo de este estudio es evaluar el estado actual de la estructura genética de *S. eruca*, especie amenazada y endémica de una región de B.C.S. incluida en la Norma Oficial Mexicana (NOM059 1994). Esta especie, ofrece una excelente oportunidad para evaluar la relación entre la variación genética y la distribución geográfica al comparársele con *S. gummosus*, especie de amplia distribución, y además, para generar información básica que nos permitan plantear estrategias de conservación viables para *S. eruca*.

Objetivos particulares

- 1.- Estimar los parámetros de variación genética poblacional: polimorfismos, número de alelos por loci, heterocigosis observada y esperada e índices de fijación, para ambas especies.
- 2.- Estimar los parámetros de la estructura genética: f , F y θ , de ambas cactáceas.
- 3.- Evaluar las relaciones filogenéticas entre las dos especies bajo estudio.
- 4.- Estimar los parámetros de variación genotípica: N_g , G/N y D , para ambas especies
- 5.- Hacer recomendaciones sobre las estrategias de conservación más viables para *S. eruca*.

Especies de estudio

El género *Stenocereus* pertenece a la subtribu *Stenocereae* de la familia *Cactaceae* (Gibson y Horak 1989).

Stenocereus gummosus (Engelmann) Gibson y Horak [= *Machaerocereus gummosus* (Engelm.) Britton y Rose]. Nombres comunes: pitahaya, pitahaya agria (Fig. 2).

Esta especie es una cactácea con reproducción sexual y asexual, que presenta crecimiento desordenado, con múltiples tallos que crecen de 1 a 3 (ocasionalmente 5) metros de longitud y con diámetros de 5 a 8 cm (Gibson 1989). Los grupos de espinas son de 8-12 en las radiales y de 3-6 en las centrales, la más larga alcanza unos 4 cm de longitud (Turner et al. 1995). Las flores son blancas a púrpuras y tienen de 10-15 cm de longitud y 6-8 cm de ancho. Los frutos son globosos de 6-8 cm de diámetro, de color rojos y pierden las espinas al madurar (Turner et al. 1995). El número de cromosomas haploide es de 11 (Pinkava et al. 1977). Está distribuida a lo largo de casi toda la península de Baja California, en la mayoría de las islas del mar de Cortés y de manera restringida en las costas de Sonora (Fig. 3) (Turner et al. 1995).



Fig. 2. – Individuos de *Stenocereus gummosus*, en Punta Onah, Sonora, México.

Tabla 1.- Ubicación geográfica de los sitios de colecta de *S. gummosus*.

SITIO DE COLECTA	UBICACION GEOGRAFICA
A.- EJIDO FRANCISCO VILLA, B.C.N.	30°26'25'' N y 115°52'49'' W
B.- BAHIA DE LOS ANGELES, B.C.N.	29°03'15'' N y 113°58'22'' W
C.- EL ABULON (SAN IGNACIO), B.C.S.	27°17'34'' N y 113°01'54'' W
D.- LORETO Km. 34, B.C.S.	26°15'12'' N y 111°29'29'' W
E.- SAN CARLOS, B.C.S.	24°54'45'' N y 111°59'28'' W
F.- SAN BARTOLO, B.C.S.	23°43'13'' N y 109°46'39'' W
G.- ISLA SAN LORENZO SUR	28°35'12'' N y 112°46'06'' W
H.- ISLA SAN ESTEBAN	28°40'34'' N y 112°35'50'' W
I.- ISLA TIBURON	28°44'57'' N y 112°18'25'' W
J.- ESTERO SANTA ROSA, SONORA	28°58'37'' N y 112°09'12'' W
K.- PUNTA ONAH, SONORA	29°05'21'' N y 112°09'20'' W
L.- CERRO PINTO, SONORA	29°23'48'' N y 112°17'10'' W

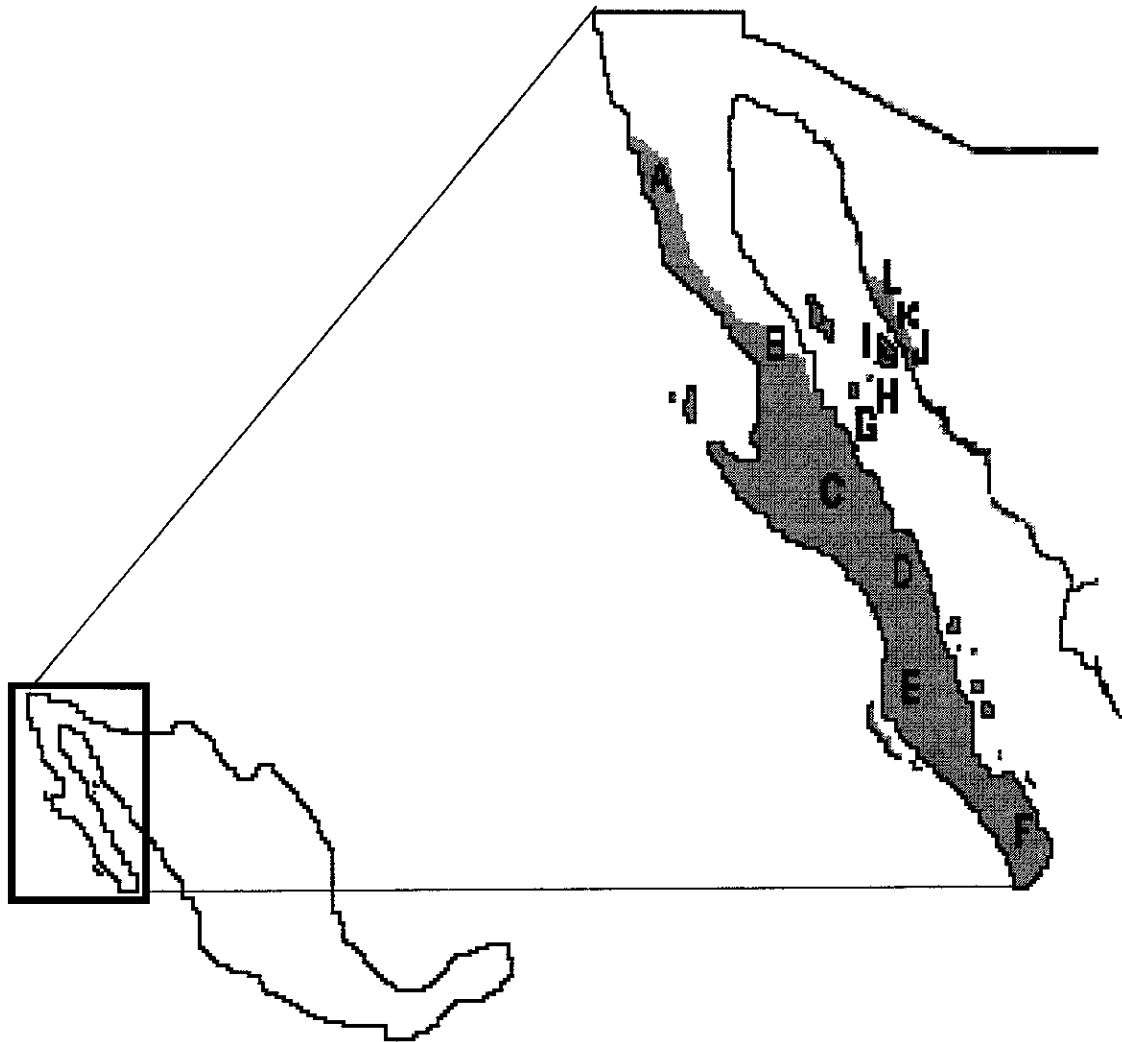


Fig.- 3.- Distribución geográfica de *S. gummosus* y sitios de colecta. Tomado de Turner *et al.* 1995. (ver tabla 1 para identificar a las poblaciones).

Stenocereus eruca (Brandege) Gibson & Horak [=*M. eruca* (Brandege) Britton & Rose]. Nombres comunes: chirinola, casa de ratas, "creeping devil". La especie toma su nombre del latín (*erucam*) debido a su similitud con una oruga (Fig. 4).

Esta especie es una cactácea con reproducción sexual y asexual, que presenta tallos procumbentes, excepto por las puntas erectas o ascendentes. Presenta ramas de 1-3 m de largo y 4-8 cm de diámetro, por lo común simples, enraizadas sobre la superficie inferior y mueren en el extremo más viejo y crecen en el otro. A veces varias ramas parten de una principal, que funciona como centro. Presenta de 12-18 costillas, con areolas grandes a distancias de 2 cm entre ellas. Sus espinas son corpulentas de color gris a plateado, las exteriores son prolongadas y cilíndricas, las interiores gruesas y aplanadas; la más larga alcanza unos 3 cm de longitud. Las flores tienen forma funeliforme de color crema amarillento, con 10-12 cm de longitud y 8-10 cm de ancho y con un pericarpio muy espinoso. Los frutos son globosos de 3-4 cm de diámetro, color escarlata con espinas al madurar (Turner *et al.* 1995). El número de cromosomas de la especie aún no se ha determinado pero, a juzgar por el patrón de bandas observadas en la mayoría de las enzimas ensayadas y su similitud con *S. gummosus*, es muy probable que sea diploide (R. Clark, obs. pers.). Su distribución está restringida a las planicies de Magdalena, Baja California Sur (Fig. 5) (Turner *et al.* 1995; Cancino *et al.* 1995).



Fig. 4.- Individuos de *Stenocereus eruca* en Poza Grande, B.C.S., México.

Tabla 2.- Ubicación geográfica de los sitios de colecta de *S. eruca*.

SITIO DE COLECTA	UBICACIÓN GEOGRAFICA
A.- LA BOCANA	26°03'28'' N y 112°17'21'' W
B.- LA POZA GRANDE	25°45'25'' N y 112°02'48'' W
C.- SANTO DOMINGO	25°29'44'' N y 111°53'12'' W
D.- ADOLFO LOPEZ MATEOS	25°11'42'' N y 112°05'27'' W
E.- SAN CARLOS Km. 35	24°54'47'' N y 111°59'32'' W
F.- SAN CARLOS-TERMOELECTRICA	24°49'35'' N y 112°05'09'' W
G.- ESTERO SALINAS	24°36'39'' N y 111°46'49'' W
H.- EL CAYUCO	24°34'20'' N y 111°41'56'' W

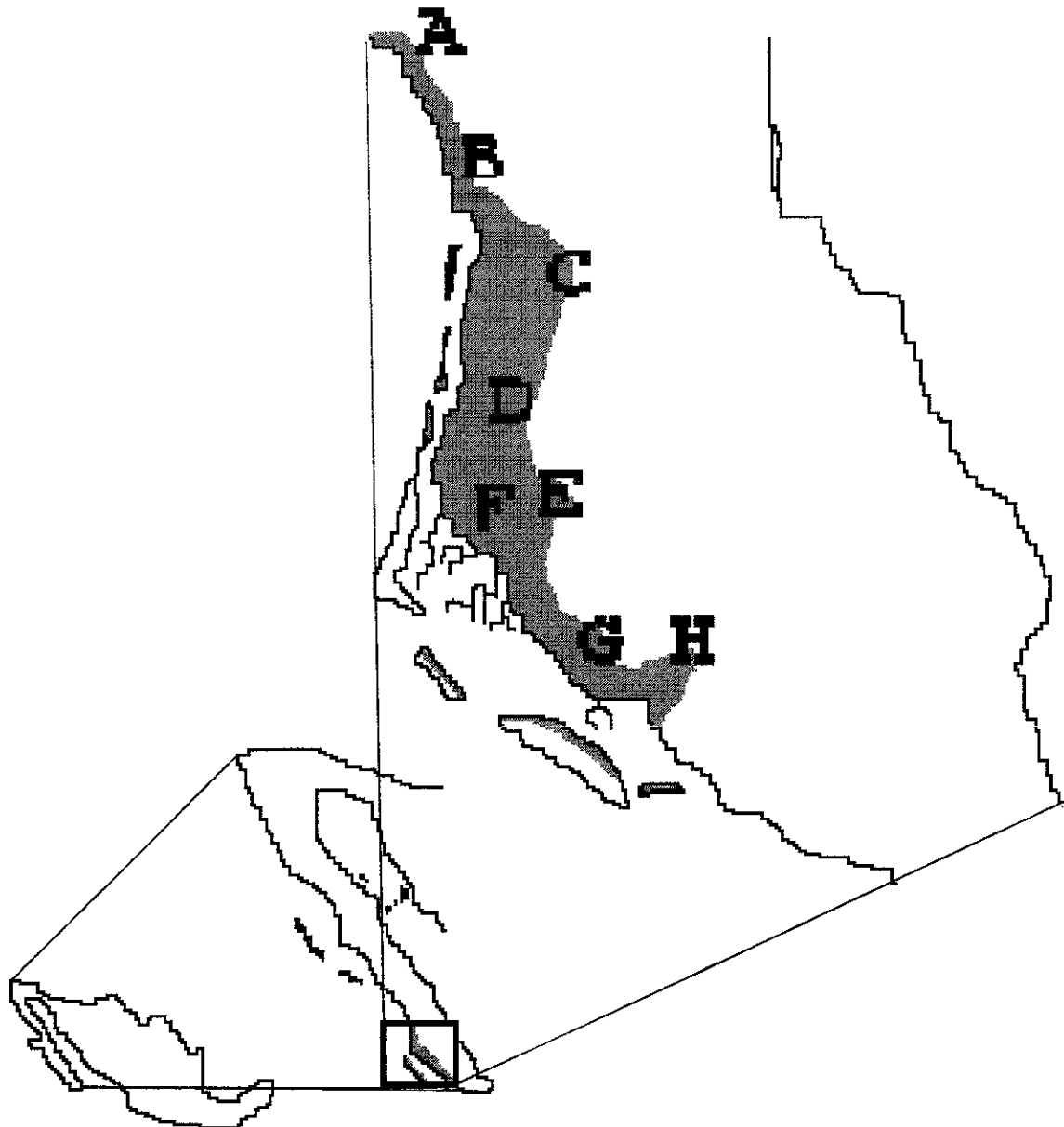


Fig. 5.- Distribución geográfica de *S. eruca* y sitios de colecta. Tomado de Turner *et al.* 1995 y Cancino *et al.* 1995. (ver tabla 2 para identificar a las poblaciones)

MATERIAL Y METODOS

Area de estudio

Considerando las áreas de distribución de *S. gummosus* (Turner *et al.* 1995, Fig. 3) y *S. eruca* (Turner *et al.* 1995; Cancino *et al.* 1995, Fig. 5), se colectó material biológico de 12 poblaciones de *S. gummosus* (Tabla 1) y 8 poblaciones de *S. eruca* (Tabla 2). Se trató que las colectas realizadas incluyeran todo el área de distribución de ambas especies. En el caso de *S. gummosus*, se muestreo en seis poblaciones de Baja California, tres de islas y tres poblaciones de Sonora (Tabla 1). Por otro lado, para *S. eruca* primeramente se realizó un recorrido por toda su área de distribución y con base en esta prospección, se colectó en ocho poblaciones (Tabla 2). No se pudo colectar en las poblaciones de isla Santa Margarita e isla Magdalena, por lo que nuestro muestreo no incluyó realmente toda la distribución geográfica de esta especie.

La posición geográfica de las localidades se obtuvo con un geoposicionador (modelo Magellan GPS Satellite Navigator). La distancia entre las poblaciones muestreadas de *S. gummosus* varía de 13 a 1030 km, mientras que en *S. eruca* varía de 27 a 220 km.

Caracterización de la estructura y variación genética

La colecta del material biológico de cada especie se realizó en septiembre de 1997. En cada población muestreada se colectó una porción de clorénquima de una costilla (aproximadamente 2 cm³ de cada uno) de 50 individuos. Para la colecta, cada individuo debía estar separado por lo menos de 3 a 5 m del siguiente individuo colectado para reducir la probabilidad de muestrear al mismo clon. Además, para tener representada en lo posible a toda la población, la colecta se realizó recorriendo un transecto de por lo menos 200 metros. El tejido colectado se mantuvo en nitrógeno líquido hasta llegar al laboratorio, en donde se almacenó en un ultracongelador a -70°C hasta ser utilizado.

El método de extracción de isoenzimas utilizado consistió en macerar 0.5 cm² de clorénquima de cada individuo colectado en 0.3 ml. de buffer de extracción. El buffer de extracción utilizado fue el de Mitton *et al.* (1979), debido a que en ensayos preliminares fue el buffer que dió mejor resolución entre varios ensayados (Apéndice 1). El extracto obtenido fue absorbido en "wicks" de papel filtro de 2 x 10 mm, los cuales se colocaron en geles de 12% de almidón y 5% de sacarosa.

La electroforesis en geles de almidón fue utilizada para analizar 12 sistemas enzimáticos en tres sistemas de buffer electroforéticos. El sistema 6 de Wendel y Weeden (1989) fue utilizado para analizar a G6PDH, MDH, PGI, EST, ADH, GDH y DIA. El sistema D de Stubber *et al.* (1988) fue usado para analizar a APH, PGM y MNR, y el sistema PP de Mitton *et al.* (1977) para analizar a SOD y LAP (Apéndice 1). El protocolo de tinción fue idéntico al de Wendel y Weeden (1989) para G6PDH, EST, MDH, ADH, GDH y SOD, al de Morden *et al.* (1987) para LAP, APH,

PGM y PGI y al de Stubber *et al.* (1988) para MNR y DIA. Dado que SOD mostró poca resolución en *S. gummosus*, se descartó esta enzima para esta especie. Por otra parte, DIA y GDH se descartaron para *S. eruca* por presentar muy pobre resolución. El apéndice 1 presenta una descripción del método seguido para realizar las extracciones y las electroforesis (Mitton *et al.* 1979; Stuber *et al.* 1988; Wendel y Weeden 1989), así como las condiciones de corrida. El apéndice 1 también muestra los procedimientos de los métodos utilizados y las soluciones de tinción para cada una de las enzimas ensayadas. Una vez teñidos los geles para cada enzima se fijaron en alcohol etílico al 35% durante 24 horas en el refrigerador.

A partir de los geles teñidos de cada enzima, se realizó una lectura visual de los mismos. Los geles presentaron un patrón de bandas, del cual se pueden inferir el genotipo de cada individuo. En un locus, el número de bandas que se observan depende de si los individuos son homocigos o heterocigos y de la estructura cuaternaria de la enzima. Si se trata de un monómero, los homocigos presentan una banda, mientras que los heterocigos dos bandas. En el caso de una enzima dimérica, los heterocigos presentan tres bandas (Wendel y Weeden 1989).

Para la interpretación de los geles se enumeraron los loci y los alelos. Se asignó la letra A al locus que tuvo una mayor migración, la letra B al siguiente y así sucesivamente.

Análisis Estadístico

La base de datos con la distribución de los genotipos en las poblaciones estudiadas se analizó usando el programa TFGA (Miller 1997). Debido a los problemas de resolución ya mencionados anteriormente, para *S. gummosus* se obtuvieron datos de 11 enzimas codificadas por 11 loci mientras que para *S. eruca* sólo se lograron 10 enzimas codificadas por 13 loci. Para estimar la variación genética en las diferentes poblaciones de ambas especies, se obtuvieron los siguientes parámetros poblacionales:

Proporción de loci polimórficos (P): Un locus se consideró polimórfico, si la frecuencia del alelo más común no excedía 0.99. *P* toma valores entre 0 y 1; si es cero no existe variación genética y cuando el valor es 1, todos los loci analizados son polimórficos.

Se obtiene mediante la fórmula $P = x/m$, donde: *x* es el número de loci polimórficos en una muestra de *m* loci (Hedrick 1985).

Heterocigosis promedio esperada (He): La heterocigosis esperada en el equilibrio de Hardy-Weinberg para un locus con *n* alelos puede estimarse como (Hedrick 1985):

$$He = 1 - \sum_{i=1}^n p_i^2, \text{ donde: } p_i \text{ representa la frecuencias del alelo } i \text{ para el locus en estudio.}$$

Posteriormente, se obtuvo una heterocigosis promedio esperada por población con las heterocigosis esperadas para todos los loci estudiados. El error estándar de *He* se obtuvo utilizando el programa BIOSYS (Sworford y Silander 1989).

Heterocigosis observada (H_o): Puede calcularse como (Hedrick 1985): $H_o = \sum_{i=1}^N \sum_{j=1}^m H_{ij}$

donde: H_{ij} representa la heterocigosis observada específica para el j -ésimo locus (m) en el i -ésimo individuo (N). El error estándar de H_o se obtuvo utilizando el programa BIOSYS (Sworford y Silander 1989).

Número promedio de alelos por locus (A). Es simplemente el promedio aritmético de alelos por locus. Se puede estimar como:

$A = \sum_{i=1}^m a_i / n$, donde: a_i es el número de alelos observados en el locus i , y m es el número de loci analizados (Hedrick 1985).

Frecuencias alélicas: Se calcularon las frecuencias alélicas en cada locus, para cada población (Hedrick 1985) como:

$$p = \frac{(a_{11} + 1/2a_{12})}{N} \quad q = \frac{(a_{22} + 1/2a_{12})}{N}$$

Donde: a_{11} , a_{12} y a_{22} son las frecuencias absolutas de los tres genotipos y N es el tamaño de la muestra. Se realizó una prueba de RxC de Fisher utilizando el programa de TFPGA (Miller 1997) para determinar si existen diferencias significativas en las frecuencias alélicas entre poblaciones de la misma especie.

Para explorar si existían diferencias en variación genética ($\%P$, A , H_e y H_o) entre Baja California, islas y Sonora en las poblaciones de *S. gummosus*, se realizó una prueba no paramétrica de Wilcoxon y Kruskal-Wallis agrupando a las poblaciones de esas regiones. Además, se realizó un análisis de regresión para determinar si existía una relación entre la heterocigosis esperada (H_e) y latitud en las poblaciones de *S. gummosus*. Estos análisis se realizaron utilizando el programa JMP (SAS Institute 1995).

Índice de fijación (F): Este índice propuesto por Wright en 1951 (Hedrick 1985), es una medida de la desviación del equilibrio de Hardy-Weinberg y se define para el caso de un locus con dos alelos como:

$F = 1 - (H_o/H_e)$ donde: H_o , es la proporción de heterocigos observados y H_e es la proporción de heterocigos esperados. Este índice toma valores de -1 a +1. Tiene un valor de cero si la población se encuentra en equilibrio de Hardy-Weinberg. Los valores positivos indican una deficiencia de heterocigos, mientras que los negativos indican un exceso (Hedrick 1985; Hartl y Clark 1989).

Estadísticos F , f y θ de Weir y Cockerham (1984): Estos estadísticos son equivalentes a las F_{IT} , F_{IS} y F_{ST} de Wright, respectivamente. Los estimados de Weir y Cockerham, asignan peso al número de individuos y al número de localidades muestreadas, y por ello los estimadores que se generan no tienen sesgo. El modelo parte de la premisa de que un número r de poblaciones del

mismo tamaño ha descendido en forma independiente de una sola población ancestral que estaba en equilibrio de Hardy-Weinberg y de ligamiento. Estas, poblaciones se mantienen bajo las mismas condiciones y las diferencias observadas tienen que ver con el muestreo genético entre generaciones y el estadístico de los individuos. El cálculo de estos estimadores se realizó mediante el programa de TFPGA (Miller 1997).

Para evaluar si F y f eran estadísticamente diferentes de 0, se utilizó una prueba de chi-cuadrada: $X^2 = F^2 N (k-1)$, con $k(k-1)/2$ grados de libertad, donde N es el tamaño de la muestra y k el número de alelos (Li y Horvitz 1953). Para el caso del parámetro θ se utilizó la prueba de chi-cuadrada: $X^2 = 2N F_{ST} (k-1)$, con $(k-1)(s-1)$ grados de libertad, donde N es el tamaño de muestra, k el número de alelos y s el número de subpoblaciones (Workman y Niswander 1970).

Para cada uno de los parámetros (F , f y θ) se calculó también el intervalo de confianza del 95% utilizando el programa TFPGA (Miller 1997). TFPGA obtiene la desviación estándar de los estimados mediante un "jackknife" sobre todos los loci, y al mismo tiempo obtiene el intervalo de confianza de los estimados (al 95%) mediante la técnica de remuestreo denominada "Bootstrap".

A partir del índice θ se estimó Nm (que es un estimador indirecto del flujo génico), con la fórmula de Crow y Aoki (1984), que toma en cuenta el número de subpoblaciones:

$$Nm = ((1/\theta) - 1)/4\alpha$$

donde: N es el tamaño de la población, m es la fracción de inmigrantes a N y $\alpha = (n/n-1)^2$, donde n es el número de subpoblaciones.

Los valores de $Nm \ll 1$ indican una fuerte diferenciación entre las subpoblaciones (i.e. deriva genética actuando independientemente en cada subpoblación; Slatkin 1994). Por otro lado, si $Nm > 1$ las subpoblaciones se comportan como una sola población panmítica y el flujo génico restringe el efecto de la deriva génica y la diferenciación genética entre poblaciones (Kimura y Maruyama 1971; Hartl y Clark 1989; Slatkin 1994).

Utilizando el programa de Slatkin (1993) de aislamiento por distancia DIST, se realizó un análisis para explorar si el flujo génico y la separación geográfica de cada especie seguía un patrón de aislamiento por distancia. Para estimar esto, primero se realiza una estimación indirecta de los niveles de flujo génico (\hat{M}) para pares de poblaciones (Slatkin 1993), calculado como:

$$\hat{M} = (1/\theta - 1/4), \text{ donde } \theta \text{ es la diferenciación genética entre pares de poblaciones.}$$

Después de calcular \hat{M} , se hizo una regresión de los valores de \hat{M} contra las distancias geográficas entre las poblaciones. Para realizar este análisis se calcularon los logaritmos en

base diez de las distancias geográficas ($\log_{10}D$) y de la estimación indirecta del flujo génico ($\log_{10}\hat{M}$). Si se cumple el patrón de aislamiento por distancia, la pendiente de la regresión tendría que ser de -1.0 para una distribución lineal de las poblaciones y de -0.5 para el caso de dos dimensiones (Slatkin 1993).

Para determinar si la relación entre flujo génico (\hat{M}) y distancia geográfica (D) era estadísticamente significativa, se obtuvo el coeficiente de determinación r^2 para la regresión lineal y se realizó una prueba de Mantel (Mantel 1967; Sokal 1995) mediante el programa TFPGA. Esta prueba genera n permutaciones (en este caso se aplicaron 1000 permutaciones) de matrices distintas con la que se obtiene el estadístico Z .

$Z = \sum_i \sum_j m_{ij} e_{ij}$ donde m corresponde a los elementos de la matriz 1 (distancia genética) y e a los elementos de la matriz 2 (distancia geográfica). A partir de este análisis se obtiene el coeficiente de correlación de Pearson (r); sin embargo no puede ser interpretada la significancia de manera usual y por eso se interpreta a partir de la distribución de Z (Manly 1991).

Distancias e identidades genéticas.

La identidad genética I se calculó con la fórmula de Nei (1978):

$I = J_{xy}/(J_x J_y)^{1/2}$, donde: $J_{xy} = \sum p_x p_y$, que es la probabilidad de escoger un par de alelos idénticos, uno de la población x y uno de la población y . $J_x = \sum p_x^2$ y $J_y = \sum p_y^2$, que son las probabilidades de escoger un par idéntico dentro de cada población (Hedrick 1985; Hartl y Clark 1989). La identidad genética I toma valores de 0 (si no comparten alelos) a 1 (si las poblaciones tienen frecuencias alélicas idénticas) (Hedrick 1985).

A partir de las identidades se puede obtener la distancia genética D de Nei (1972):

$$D = -\ln I$$

Las distancias genéticas toman valores de 0, si las poblaciones tienen frecuencias alélicas idénticas, hasta infinito si las poblaciones no tienen ningún alelo en común (Hedrick 1985).

Estructura clonal

Debido a que *S. gummosus* y *S. eruca* se reproducen vegetativamente, se evaluó la diversidad clonal dentro de las poblaciones de cada especie. Todos los individuos muestreados fueron analizados para obtener su genotipo multilocus. Se partió de la suposición de que cada genotipo multilocus detectado representaba a un clon. En términos estadísticos un gran número de loci polimórficos analizados y un gran número de alelos detectados aumentan el poder de detección de genotipos únicos. Para estimar la diversidad genotípica se utilizaron tres medidas:

Primeramente, se estimó el número de genotipos posible (N_g). Cuando los alelos son codominantes esta variable se calcula como (Cheliak y Pitel 1984):

$$N_g = \prod_{i=1}^L \{n_i(n_i+1)\}/2, \text{ donde: } N_g \text{ es el número de genotipos únicos, } n_i \text{ es el número}$$

de alelos detectados en el i ésimo locus y L es el número de loci analizados.

La segunda medida es la tasa de descubrimiento de nuevos genotipos o probabilidad de que el siguiente individuo muestreado sea un nuevo genotipo multilocus, denominada como "proporción distinguible" por Ellstrand y Roose (1987). Esta medida tiene un estimador sencillo que consiste en G/N donde G es el número de genotipos distintos en una población y N el número de individuos muestreados. Esta medida tiene un intervalo de 0 a 1; un valor de 1 significa que todas las plantas muestreadas son de genotipo multilocus distinto y un valor cercano a 0 implica que se detectaron muy pocos genotipos en la población.

La última medida de diversidad genotípica multiloci que se usó está basada en el índice de diversidad de Simpson ($D = 1/\sum p_i^2$) pero corregida para tamaños de muestra pequeños ($D = 1 - \sum (n_i(n_i-1)/N(N-1))$ donde n_i es el número de individuos del genotipo i y N el número total de individuos (Pielou 1969). Si el valor de D es 1, indica que no existe replicación de genotipos y valores de D cercanos a 0 implica que existe dominancia de un genotipo.

En el caso de especies que se reproducen exclusivamente por la vía sexual, se espera que los estadísticos G/N y D sean iguales a 1, debido a que es poco probable que por recombinación sexual se genere el mismo genotipo multilocus entre diferentes individuos (Ellstrand y Roose 1987).

Diversidad Genética

Se analizaron los datos usando el enfoque de diversidad génica de Nei (1977). En este caso se calculó, para cada especie, la diversidad total (H_T) así como sus componentes de variación dentro y entre poblaciones (H_S y D_{ST}). Se calculó también G_{TS} , que es una medida de la diferenciación entre poblaciones. Estos estadísticos se calcularon utilizando el programa GDIS de Ritland (1989).

Relaciones genéticas entre poblaciones y especies

Con el fin de analizar las relaciones genéticas entre todas las poblaciones de cada especie, y entre especies, se utilizaron las distancias genéticas de Nei (1978) para construir dos tipos de fenogramas. El primero se construyó con el método de promedio aritmético no ponderado de par-grupo (UPGMA) usando el programa TFPGA (Miller 1997). El segundo fenograma se construyó usando el algoritmo "Neighbor-joining" de Saitou y Nei (1977), usando el programa PHYLIP (Phylogeny Inference Package elaborado por Felsenstein, Felsenstein 1993).

RESULTADOS

Variación Genética dentro de poblaciones

De un total de 24 sistemas enzimáticos ensayados, sólo 11 tuvieron buena resolución en *S. gummosus*, los cuales están codificados por un mínimo de 11 loci. Por otra parte, en *S. eruca* sólo 10 enzimas tuvieron buena resolución. Los 10 sistemas enzimáticos ensayados para *S. eruca* están codificados por un mínimo de 13 loci. Las frecuencias alélicas de cada locus utilizado en ambas especies se muestran en el Apéndice 2.

En *S. gummosus*, 9 loci (81.8 %) fueron polimórficos en al menos una población utilizando el criterio de 99%. Los loci que fueron monomórficos en todas las poblaciones de *S. gummosus* fueron DIA-1 y LAP-1. Por otra parte, en *S. eruca* 7 loci (53.85%) fueron polimórficos en al menos una población utilizando el criterio de 99%. Los loci que fueron monomórficos en todas las poblaciones de *S. eruca* fueron LAP-1, MDH-1, EST-1, PGI-1, MNR-1 y APH-1. El número total de alelos detectados en los loci analizados de *S. gummosus* fue de 24 en 11 loci (en un intervalo de 1-4 por locus) (Apéndice 2). En cambio, para *S. eruca* el número fue de 22 en 13 loci (en un intervalo de 1-3 por locus) (Apéndice 2).

Las poblaciones E y C de *S. gummosus* en Baja California presentan el alelo raro PGI-1-D, el cual está ausente en las poblaciones restantes. Asimismo, la población F de Baja California, se caracteriza por tener los alelos APH-2-C y MNR-2-C, los cuales no se encuentran en las demás poblaciones (Fig. 3; Apéndice 2). Por otro lado, las frecuencias alélicas obtenidas en *S. eruca* muestra que las poblaciones B y H presentan los alelos raros SOD-1-A y SOD-1-B, ausentes en las poblaciones restantes, mientras que la población C tiene los alelos raros SOD-1-A y SOD-1-C, y la población G el alelo MNR-2-D, el cual esta ausente en las demás poblaciones (Fig. 5; Apéndice 2).

En *S. gummosus* el número de alelos por locus polimórfico (A) varió de 1.8 a 2.1, con un promedio de 1.96. En cambio, *S. eruca* tuvo un promedio de A de 1.48 (en un intervalo de 1.4 a 1.5 por población). La heterocigosis esperada (He) en *S. gummosus* presenta un intervalo entre poblaciones de 0.207 a 0.351, con un promedio de 0.261, mientras que la heterocigosis observada (Ho) tuvo un promedio de 0.103 (en un intervalo de 0.063 a 0.175). En cambio, en *S. eruca* se obtuvo una He promedio de 0.158 en un intervalo de 0.135 a 0.200, en tanto que la Ho presento un intervalo de 0.026 a 0.055, con un promedio de 0.040 (Tabla 3 y 4).

El análisis de heterogeneidad en las frecuencias alélicas por locus para cada especie se presenta en el Apéndice 2. En el caso de *S. gummosus*, los análisis señalan diferencias significativas ($X^2=178.26$; $P<0.001$) entre las poblaciones en las frecuencias alélicas de todos los loci polimórfico (9 loci), mientras que en *S. eruca* se encontraron diferencias significativas ($X^2=112.72$; $P<0.001$) entre poblaciones para 6 de los 7 loci polimórficos (Apéndice 2). Las

frecuencias alélicas en el locus ADH no fueron significativos ($P=0.819$), posiblemente debido a que en tres poblaciones (Poza Grande, Santo Domingo y el Cayuco) no se obtuvo buena resolución para este locus y por lo tanto no se estimaron las frecuencias alélicas (Apéndice 2).

En el caso de *S. gummosus*, el promedio de la heterocigosis observada (H_o) fue significativamente menor al promedio de la heterocigosis esperada (ver Fig. 6). Al comparar los valores de H_o entre los grupos conformados por las poblaciones de Baja California, Sonora y las Islas del Golfo, se detectaron diferencias significativas ($X^2=7.65$, $P=0.02$). De igual forma, al comparar los valores de polimorfismos (P) entre los mismos grupos, se detectaron diferencias significativas ($X^2=6.58$, $P=0.04$). Este patrón se debe principalmente a las diferencias existentes entre las poblaciones de Sonora con respecto a las poblaciones de Baja California e Islas. Al comparar las poblaciones de Sonora con las de Baja California, se detectaron diferencias significativas para H_o ($X^2=6.75$, $P=0.009$) y P ($X^2=5.4$, $P=0.02$), así como diferencias entre las poblaciones de Sonora y las insulares en número promedio de alelos/locus ($X^2=4.37$, $P<0.04$) y heterocigosis observada ($X^2=3.86$, $P<0.05$) a juzgar por el análisis no paramétrico de Wilcoxon y Kruskal-Wallis. En cambio, no se detectaron diferencias significativas entre las poblaciones de Baja California e Islas para H_o ($X^2=0.60$, $P=0.44$).

Tabla 3.- Medidas de variación genética dentro de las poblaciones de *S. gummosus*. Número de individuos analizados por población (N), porcentaje de loci polimórficos* (%P), número de alelos promedio por locus polimórfico (A), heterocigosis observada (H_o), heterocigosis esperada** (H_e). Entre paréntesis se dan los errores estándar.

POBLACION	N	%P	A	H_o	H_e
A	50	66.6	1.8 (0.2)	0.105 (0.030)	0.207 (0.063)
B	51	72.7	1.8 (0.2)	0.068 (0.022)	0.249 (0.054)
C	50	72.7	2.0 (0.3)	0.089 (0.020)	0.245 (0.050)
D	50	72.7	1.9 (0.2)	0.095 (0.022)	0.246 (0.055)
E	50	72.7	2.1 (0.3)	0.067 (0.017)	0.236 (0.063)
F	50	72.7	2.1 (0.3)	0.100 (0.025)	0.291 (0.063)
G	50	72.7	1.8 (0.2)	0.096 (0.036)	0.225 (0.057)
H	49	72.7	1.9 (0.2)	0.063 (0.023)	0.224 (0.056)
I	50	81.8	2.0 (0.2)	0.111 (0.026)	0.293 (0.050)
J	50	81.8	2.1 (0.2)	0.147 (0.028)	0.280 (0.048)
K	50	81.8	2.1 (0.2)	0.175 (0.033)	0.351 (0.055)
L	50	81.8	2.1 (0.2)	0.120 (0.029)	0.290 (0.053)
PROMEDIO	50	75	1.96	0.103	0.261

* Un locus es considerado polimórfico si se detectó más de un alelo

** Estimado (ver Nei 1978).

Tabla 4.- Medidas de variación genética dentro de las poblaciones de *S. eruca*. Número de individuos analizados por población (N), porcentaje de loci polimórficos* (%P), número de alelos promedio por locus polimórfico (A), heterocigosis observada (Ho), heterocigosis esperada** (He). Entre paréntesis se dan los errores estándar.

POBLACION	N	%P	A	Ho	He
A	52	46.2	1.5 (0.1)	0.053 (0.021)	0.159 (0.053)
B	50	46.2	1.4 (0.1)	0.026 (0.013)	0.136 (0.054)
C	50	46.2	1.5 (0.2)	0.029 (0.016)	0.135 (0.059)
D	50	46.2	1.5 (0.1)	0.040 (0.014)	0.200 (0.063)
E	49	46.2	1.5 (0.1)	0.034 (0.012)	0.165 (0.053)
F	50	46.2	1.5 (0.1)	0.034 (0.011)	0.170 (0.057)
G	100	46.2	1.5 (0.2)	0.055 (0.018)	0.154 (0.050)
H	35	46.2	1.4 (0.1)	0.039 (0.018)	0.144 (0.056)
PROMEDIO	54.5	46.2	1.48	0.040	0.154

* Un locus es considerado polimórfico si se detectó más de un alelo

** Estimado (ver Nei 1978).

La heterocigosis esperada en *S. gummosus* aparentemente disminuye con la latitud; es decir las poblaciones más norteñas tienden a tener menor variación. Al analizar las poblaciones de Baja California junto con la de las islas San Lorenzo y San Esteban la regresión que se obtiene entre estas dos variables es significativa ($F=8.37$, $P=0.02$, Fig. 7). Sin embargo, al incluir en este análisis a las poblaciones de la isla Tiburón y las poblaciones de Sonora la regresión que se obtiene de estas dos variables no es significativa ($F=0.002$, $P>0.961$, no se muestra figura). En La figura 7 se incluyen las poblaciones de isla Tiburón y Sonora (indicadas con cruz) con la finalidad de ubicarlas en el espacio, y observar como estas forman un grupo aparte.

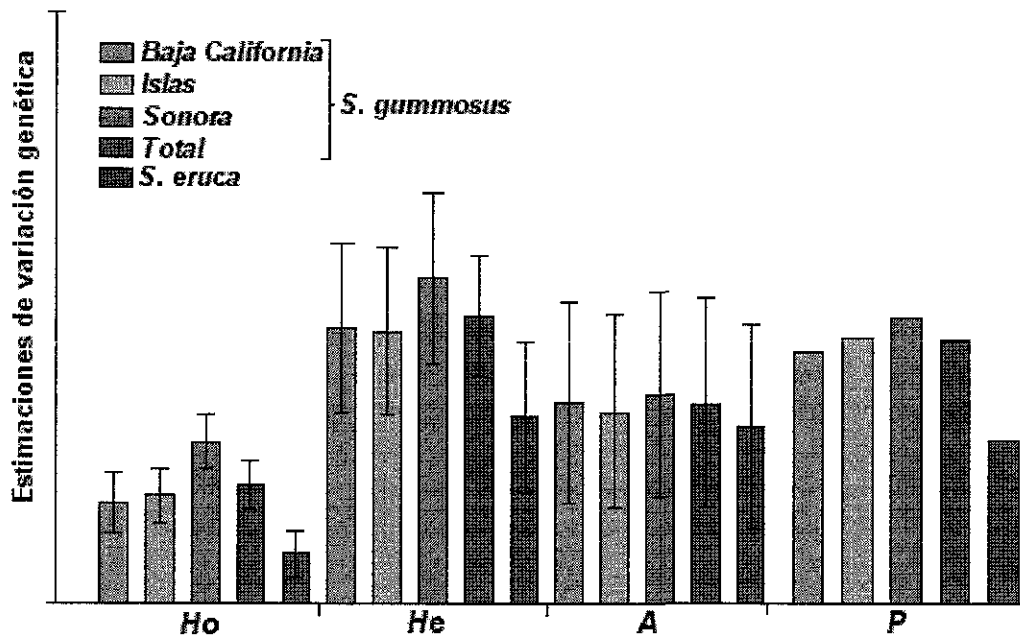


Fig. 6.- Heterocigosis promedio esperada (H_e) y observada (H_o), número de alelos promedio por locus polimórfico (A) y porcentaje de loci polimórficos (P) para las poblaciones de Baja California, Islas y Sonora así como el promedio global de *S. gummosus* y para las de *S. eruca*. Las barras representan el error estándar.

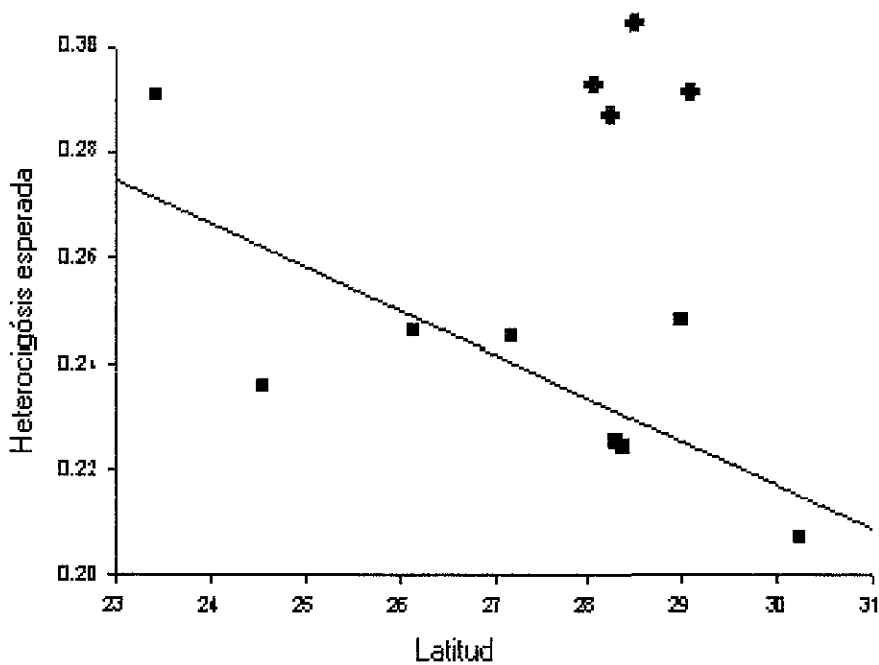


Fig. 7.- Relación entre la heterocigosis esperada y la latitud para las poblaciones de *S. gummosus* de Baja California e Islas San Lorenzo y San Esteban (en cuadro) y poblaciones de isla Tiburón y Sonora (en cruz). $r^2 = 0.583$.

Diversidad Clonal

Debido a que tanto *S. gummosus* como *S. eruca* se reproducen vegetativamente, se estimaron parámetros de diversidad genotípica con el objeto de describir y comparar la estructura clonal de las poblaciones de cada especie. En cerca de 600 individuos analizados de todas las poblaciones de *S. gummosus*, se detectaron un total de 362 genotipos multilocus distintos (G_m) con un promedio por población ($N=50$) de 39.8 (Tabla 5). Por otro lado, en cerca de 400 individuos analizados de todas las poblaciones de *S. eruca* se detectaron 189 genotipos multiloci distintos (G_m) con un promedio de 28.6 por población (Tabla 6). En contraste, el número de genotipos multilocus distintos (N_g) que son teóricamente posibles en *S. gummosus* fue de 1,049,760, con un promedio para todas las poblaciones de 66,521 (Tabla 6). En cambio, para *S. eruca* este parámetro (N_g) fue de 8748 con un promedio para todas las poblaciones de 518 (Tabla 6).

La diversidad genotípica encontrada en las poblaciones de *S. gummosus*, medida como G/N varió de 0.64 a 0.96, con un valor promedio de 0.72 (Tabla 5). Por otro lado, los valores de G/N para las poblaciones de *S. eruca* fluctúan de 0.42 a 0.68 con un promedio de 0.54 (Tabla 6). El promedio del parámetro G/N sugiere que para el esquema de muestreo utilizado, la probabilidad de detectar un genotipo diferente al muestrear individuos separados por 3 a 5 metros es del 72% para *S. gummosus*, mientras que para *S. eruca* es del 54%.

Las estimaciones de diversidad genotípica, medidas como D , varían de 0.96 a 1.00 en *S. gummosus*, con un promedio de 0.98 (Tabla 5). En cambio, *S. eruca* presenta valores de D entre 0.78 a 0.98, con un promedio de 0.92 (Tabla 6). Los valores promedio obtenido por este estadístico nos sugieren que en ninguna de las dos especies, existe dominancia de un genotipo en particular, sino que la diversidad genotípica es repartida por múltiples clones.

Tabla 5.- Medidas de variación genotípica dentro de poblaciones de *S. gummosus*. Número posible de genotipos multilocus (N_g), número observado de genotipos multilocus (G_m), tasa de descubrimiento de nuevos genotipos (G/N) e índice de diversidad (D).

POBLACION	N_g	G_m	G/N	D
A	4374	39	0.78	0.98
B	6561	34	0.68	0.98
C	43740	40	0.80	0.98
D	13122	38	0.76	0.99
E	52488	32	0.64	0.96
F	87480	47	0.94	1.0
G	13122	42	0.84	0.99
H	26244	32	0.64	0.98
I	78732	42	0.84	0.99
J	157464	47	0.94	1.0
K	157464	48	0.96	1.0
L	157464	36	0.72	0.97
PROMEDIO	66521	39.8	0.72	0.98

Tabla 6.- Medidas de variación genotípica dentro de poblaciones de *S. eruca*. Número posible de genotipos multilocus (N_g), número observado de genotipos multilocus (G_m), tasa de descubrimiento de nuevos genotipos (G/N) e índice de diversidad (D).

POBLACION	N_g	G_m	G/N	D
A	243	25	0.48	0.94
B	729	22	0.44	0.93
C	729	21	0.42	0.90
D	729	34	0.68	0.98
E	243	28	0.57	0.95
F	243	32	0.64	0.95
G	729	48	0.48	0.78
H	1458	20	0.57	0.94
PROMEDIO	518	28.6	0.54	0.92

Índice de Fijación (F)

Los índices de Fijación F por locus y población en *S. gummosus* se muestran en la tabla 7. Los índices de Fijación F presentan valores positivos en 95 de 99 casos, mientras que sólo en cuatro casos (MNR-2 de la población A, y PGI-1 en las poblaciones D, G y H) se obtuvieron valores negativos (Tabla 7). De los 99 índices, 87 fueron significativamente diferentes de cero, mientras que sólo en 12 casos estos fueron estadísticamente iguales a cero (Tabla 7). De los valores promedio para cada población, 10 fueron positivos y significativamente diferentes de cero ($P < 0.05$), indicando que estas poblaciones están fuera del equilibrio de Hardy-Weinberg. En contraste, los valores promedio de las poblaciones J y K en Sonora, indican que estas están en equilibrio de Hardy-Weinberg (Tabla 7).

Tabla 7.- Índices de fijación (F) por locus polimórfico, en las poblaciones de *S. gummosus*.

locus	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L
PGM-1	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	0.543**	0.579**	0.675**	0.502**
MDH-1	-----	0.691**	0.663**	0.314*	0.732**	0.518**	0.097 ^{ns}	0.880**	0.475**	0.323*	0.441**	0.147 ^{ns}
APH-2	0.519**	0.759**	0.675**	0.740**	0.527**	0.633**	0.579**	0.489**	0.745**	0.412*	0.380**	0.429*
G6PDH	0.486**	0.417*	0.627**	0.604**	0.714**	0.717**	0.757**	0.890**	0.675**	0.405*	0.578**	0.757**
ADH-1	0.451**	0.865**	0.381*	0.702**	0.232 ^{ns}	0.733**	1.000**	0.728**	0.729**	0.675**	0.653**	0.816**
EST-1	1.000**	0.865**	0.819**	0.718**	1.000**	0.829**	1.000**	0.597**	0.597**	0.127 ^{ns}	0.445**	0.546**
MNR-2	-0.111 ^{ns}	1.000**	0.627**	0.608**	0.834**	0.534**	0.785**	0.864**	0.834**	0.688**	0.486**	0.792**
PGI-1	0.525**	0.338*	0.415**	-0.111 ^{ns}	0.647**	0.517**	-0.013 ^{ns}	-0.077 ^{ns}	0.111 ^{ns}	0.131 ^{ns}	0.269 ^{ns}	0.234 ^{ns}
GDH-1	0.639**	0.873**	0.757**	0.840**	0.839**	0.774**	0.625**	0.954**	0.831**	0.619**	0.578**	0.745**
PROM	0.501**	0.726**	0.625**	0.552**	0.691**	0.657**	0.604**	0.666**	0.533**	0.440 ^{ns}	0.501 ^{ns}	0.552*

Las poblaciones que fueron monomorfas para un locus particular están indicadas con guiones.

Chi-cuadrada *= $P < 0.05$, **= $P < 0.01$ y $ns > 0.05$

Los valores de los índices de fijación F por locus y para cada población de *S. eruca* se muestran en la tabla 8. Para esta especie, se encontró que de 46 de estos índices, 45 son positivos, y solo uno de estos índices resultó estadísticamente indistinguible de cero (ADH-1 en la población A). El único índice negativo no difiere de cero (PGM-1 en población C). Por otra parte, los valores promedio por población fueron positivos y significativamente diferentes de cero en todos los casos, indicando que las poblaciones están fuera del equilibrio de Hardy-Weinberg.

Tabla 8.- Índices de fijación (F) por locus polimórfico, en las poblaciones de *S. eruca*.

Locus	A	B	C	D	E	F	G	H
SOD-1	-----	1.000**	1.000**	-----	-----	-----	-----	1.000**
G6PDH	0.435*	0.848**	0.671**	0.724**	0.779**	0.802**	0.545**	0.745**
PGM-1	0.769**	-----	-0.010 ^{ns}	0.871**	0.851**	0.819*	0.621**	0.650**
PGM-2	0.852**	0.864**	0.840*	0.605**	0.734**	0.634*	0.610**	-----
ADH-1	0.257 ^{ns}	+	+	0.781**	0.644**	0.883*	0.601**	+
MNR-2	0.675**	0.790**	0.826**	0.919**	0.795**	0.785*	0.631**	0.755*
APH-2	0.790**	0.745**	0.636**	0.826**	0.772**	0.790*	0.803**	0.701**
PROM	0.630**	0.849**	0.636**	0.788**	0.763**	0.786*	0.635**	0.770**

Las poblaciones que fueron monomorfas para un locus particular están indicadas con guiones.

Chi-cuadrada *= $P < 0.05$, **= $P < 0.01$ y $ns > 0.05$

+Sin resolución en la población

Estadísticos F de Weir y Cockerham y Flujo génico

Los valores de los estadísticos f y F obtenidos para ambas especies fueron significativamente diferentes de cero, indicando un alto nivel de endogamia dentro de las poblaciones de *S. gummosus* (Tabla 9) y *S. eruca* (Tabla 10). El valor promedio de f en *S. gummosus* es de 0.608 con un intervalo de 0.301 a 0.766 entre loci, mientras que el de F es de 0.648 con un intervalo de 0.322 a 0.772 (Tabla 9). Para *S. eruca*, el valor promedio de f y F es de 0.739 y 0.757, respectivamente, con un intervalo de 0.634 a 1 para f y de 0.630 a 1 para F (Tabla 10). Al analizar los valores promedio de endogamia entre las regiones donde habita *S. gummosus*, se observó que las poblaciones de Sonora tienden a tener valores menores de f y F (Fig. 9).

Los valores de θ para *S. gummosus* varían de 0.029 a 0.328 entre loci, con un promedio de 0.102, siendo casi todos los valores (con excepción de GDH) significativamente distintos de cero (Tabla 9). En cambio, en *S. eruca* los valores de θ varían de -0.011 a 0.149 con un promedio de 0.069, siendo significativamente distintos de cero sólo para los loci SOD-1, G6PDH, PGM-1 y MNR-2 (Tabla 10). Los valores promedio de θ por especie indican que aproximadamente 10% y 7% de la variación se debe a diferencias entre poblaciones en *S. gummosus* y *S. eruca*, respectivamente. Por otra parte, no se encontraron diferencias significativas en los valores promedio de θ entre las poblaciones de Baja California, Islas y Sonora para *S. gummosus* (Fig. 9).

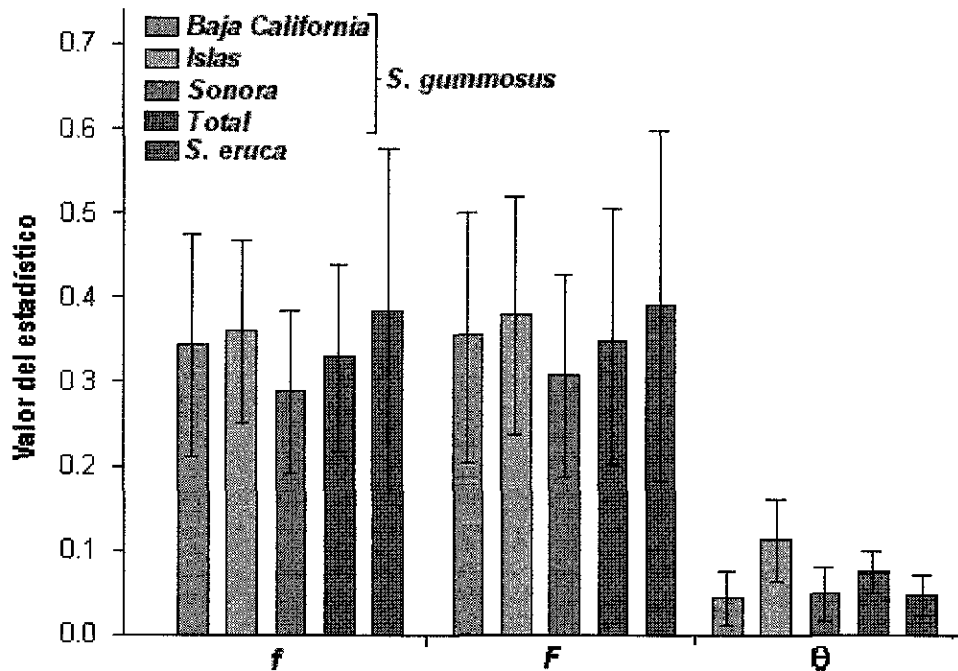


Fig.9.- Estadísticos F de Weir y Cockerham para las poblaciones de Baja California, Islas, Sonora, así como el promedio global de *S. gummosus* y poblaciones de *S. eruca*. Las barras representan la desviación estándar calculados mediante Jackknife sobre todos los loci.

Tabla 9.- Estadísticos F de Weir y Cockerham para las poblaciones de *S. gummosus*. f y F son medidas de la desviación de las proporciones de Hardy-Weinberg dentro de las poblaciones y en la población total, respectivamente. θ es una medida de la diferenciación genética entre poblaciones y Nm es una medida del flujo génico. DE es la desviación estándar.

LOCUS	f	F	θ	Nm
PGM	0.595**	0.728**	0.328**	0.43
MDH	0.495**	0.525**	0.060**	3.31
APH	0.579**	0.603**	0.054**	3.62
G6PDH	0.650**	0.686**	0.103**	1.82
ADH	0.694**	0.686**	0.036*	5.66
EST	0.655**	0.731**	0.222**	0.73
MNR	0.689**	0.740**	0.1648**	1.06
PGI	0.301**	0.322**	0.0301*	6.77
GDH	0.766**	0.772**	0.029 ^{ns}	7.16
PROMEDIO DE	0.608 (0.050)	0.648 (0.048)	0.102 (0.0274)	3.40
IC	(0.466-0.710)	(0.506-0.743)	(0.044-0.187)	---

Chi-cuadrada *: $P < 0.05$ y **: $P < 0.001$, ns: $P > 0.05$. El intervalo de confianza (IC) se calculó mediante "Bootstrap" entre loci al 95%.

Tabla 10.- Estadísticos F de Weir y Cockerham para las poblaciones de *S. eruca*. f y F son medidas de la desviación de las proporciones de Hardy-Weinberg dentro de las poblaciones y en la población total, respectivamente. θ es una medida de la diferenciación genética entre poblaciones y (Nm) es una medida del flujo génico. DE es la desviación estándar.

LOCUS	f	F	θ	Nm
SOD-1	1.000*	1.000*	0.029*	6.37
G6PDH	0.689*	0.736*	0.149*	1.10
PGM-1	0.783*	0.811*	0.126*	1.33
PGM-2	0.708*	0.712*	0.013 ^{ns}	14.43
ADH-1	0.634*	0.630*	0.003 ^{ns}	63.67
MNR-2	0.790*	0.808*	0.087*	2.01
ACPH-2	0.779*	0.787*	0.035 ^{ns}	5.28
PROMEDIO SD	0.739 (0.028)	0.757 (0.027)	0.069 (0.025)	13.46
IC	(0.665-0.798)	(0.672-0.814)	(0.0005-0.139)	-----

Chi-cuadrada *: ($P < 0.001$), ns: ($P > 0.05$). El intervalo de confianza (IC) se calculó mediante "Bootstrap" entre loci al 95%.

Los valores de Nm para los loci de *S. gummosus* son en dos (17%) casos menores a 1 y en 10 (83%) casos mayores a 1, siendo el valor promedio de 3.40 (Tabla 9). En cambio, en *S. eruca*, se obtuvieron para todos los loci valores mayores a 1 y el valor promedio de Nm fue 13.46 (Tabla 10).

Al estimar Nm entre regiones de *S. gummosus*, se encontró que existe una tendencia hacia mayor flujo génico en las islas (Nm de 4.10) con respecto a las poblaciones de Baja California y Sonora donde se obtuvo un Nm de 2.56 y 2.13, respectivamente.

Aislamiento por distancia

La relación del flujo génico entre pares de poblaciones (\hat{M}) y las distancias geográficas en *S. gummosus* mostró una pendiente de 0.065, mientras que la r^2 obtenida fue de 0.011. La prueba de Mantel muestra que no existe relación significativa entre \hat{M} y la distancia geográfica ($Z=118210.10$, $p=0.608$, $r=0.057$). Estos resultados sugieren que no existe aislamiento por distancia. Por otro lado, *S. eruca* tampoco mostró un patrón de aislamiento por distancia ($m=0.123$, $r^2=0.007$). La prueba de Mantel realizada en *S. eruca* ($Z=18244.98$, $p=0.823$, $r=-0.181$) sugiere que para esta especie, tampoco existe aislamiento por distancia. Las gráficas correspondientes a estos análisis no se presentan debido a que no son significativas.

Identities y Distancias genéticas de Nei

Los valores de las identities genéticas (I) entre poblaciones tienen intervalos de 0.93 a 0.98 (con una promedio de 0.96) para pares de poblaciones de *S. gummosus* y de 0.97 a 1.00 para pares de poblaciones de *S. eruca* (con un promedio de 0.98). Por otra parte, el promedio de las distancias (D) de todas las poblaciones de *S. gummosus* es de 0.04 con intervalos de 0.024 a 0.071 entre pares de poblaciones. En cambio, en *S. eruca* se obtuvieron intervalos de 0.0001 a 0.03 para pares de población con un promedio de 0.02.

Los fenogramas contruidos con datos de distancias genéticas de Nei (1978) en UPGMA y "Neighbor-Joining" muestran relaciones diferentes tanto en las poblaciones de *S. gummosus* como en *S. eruca*. En el fenograma de UPGMA de *S. gummosus* se muestran poblaciones intercaladas de Baja California, de las islas y de Sonora, y no se observa una asociación geográfica. Después de 10,000 permutaciones, los valores de proporción de réplicas apoyando cada nodo fueron de entre 0.02 hasta 1, observándose sólo dos ramas robustas: la primera formada por las poblaciones de Fco. Villa y Sn. Bartolo (0.54) y la segunda conformada por Punta Onah con el resto del grupo (1.0) (ver Figs.3 y 10).

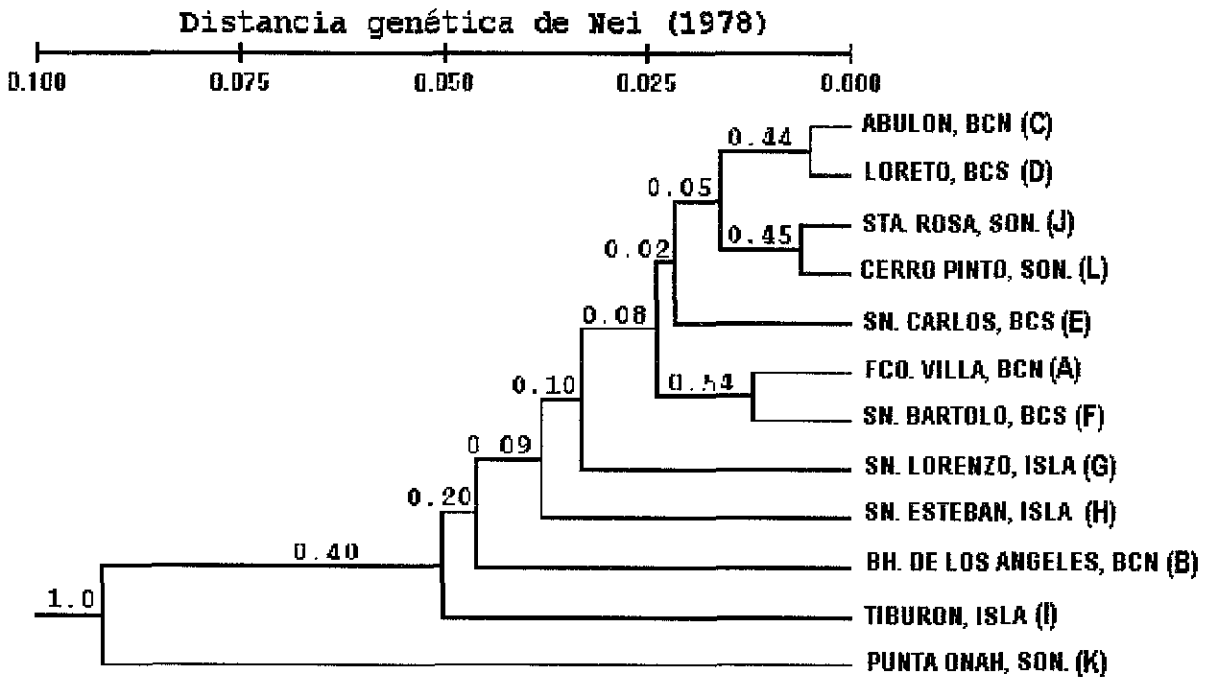


Fig. 10.- Fenograma de las poblaciones de *S. gummosus*, construido con los datos de las distancias genéticas en UPGMA. El porcentaje de los Bootstrap de los nodos a las 10,000 réplicas son indicados arriba de cada rama.

Por otra parte, en el fenograma de "Neighbor-Joining" las poblaciones de *S. gummosus*, muestran la existencia de dos grupos. El primero formado únicamente por las población de Fco. Villa (A) y el segundo conformado por las 11 poblaciones restantes. Después de 1,000 permutaciones, los valores de proporción de réplicas apoyando cada nodo fueron de entre 223 hasta 996, observándose algunas ramas robustas. En este fenograma sí se observa una asociación geográfica, ya que las poblaciones de Sonora y la de una isla permanecen agrupadas (ver Figs. 3 y 11).

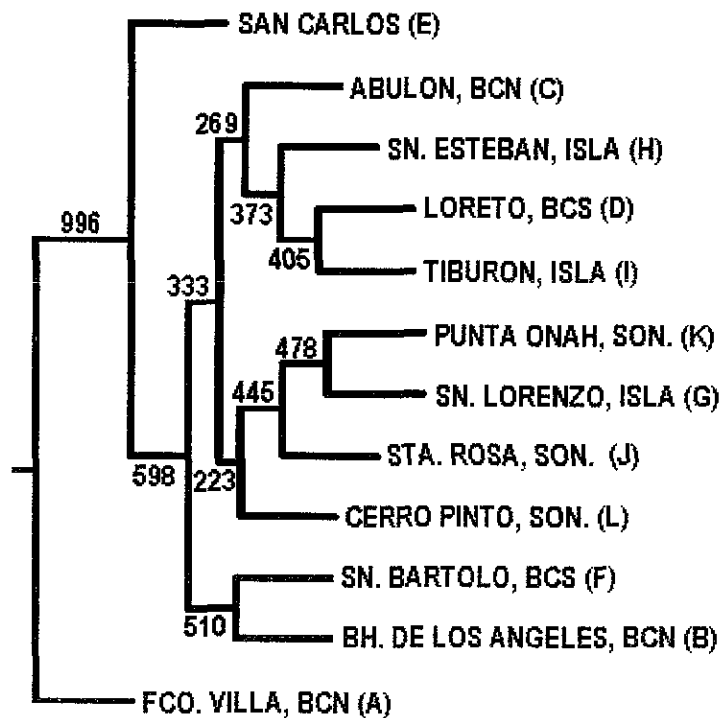


Fig.11.- Fenograma de las poblaciones de *S. gummosus*, construido con los datos de las distancias genéticas de Nei (1978) en "Neighbor-Joining". El porcentaje de los "Bootstrap" de los nodos a las 1000 réplicas son indicados en cada rama.

El fenograma de UPGMA de *S. eruca* muestra la existencia de tres grupos de poblaciones en los que se puede observar una asociación geográfica. Un primer grupo está formado por San. Carlos A (E) , San. Carlos B (F), Salinas (G) y Cayuco (H). El segundo grupo está formado por Sto. Domingo (C), Bocana (A), y A. L. Mateos (D). Finalmente, el tercer grupo está formado sólo por la población Poza Grande (B). Después de 10,000 permutaciones los valores de proporción de réplicas apoyando cada nodo fueron de entre 0.22 hasta 1, observándose algunas ramas robustas (ver Figs. 5 y 12).

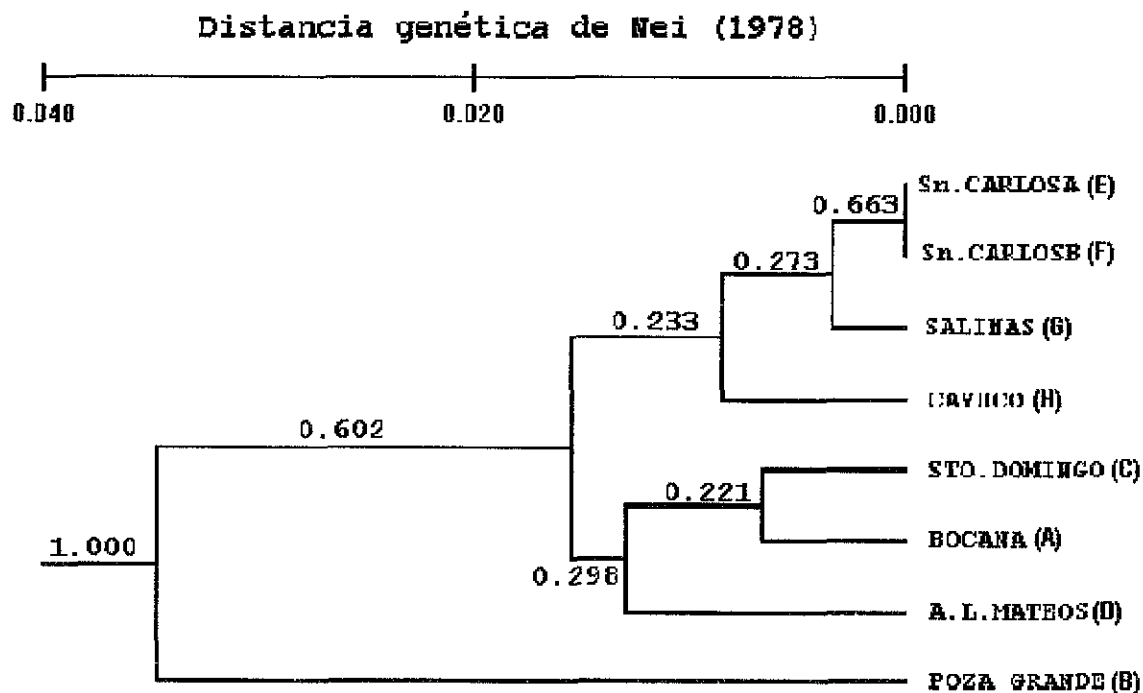


Fig. 12.- Fenograma de las poblaciones de *S. eruca*, contruido con los datos de distancias genéticas en UPGMA. El porcentaje de los Bootstrap de los nodos a las 10,000 réplicas son indicados arriba de cada rama.

En el fenograma de "Neighbor-Joining" para las poblaciones de *S. eruca* se muestra la existencia de dos grupos. El primero conformado por las poblaciones de Bocana (A), Sn. Carlos (E), San. Carlos B (F), Salinas (G), A. L. Mateos (D) y Cayuco (H) y el segundo conformado por Poza Grande (B). Después de 1,000 permutaciones los valores de proporción de réplicas apoyando cada nodo fueron de entre 149 hasta 984, observándose algunas ramas robustas (ver Figs. 5 y 13).

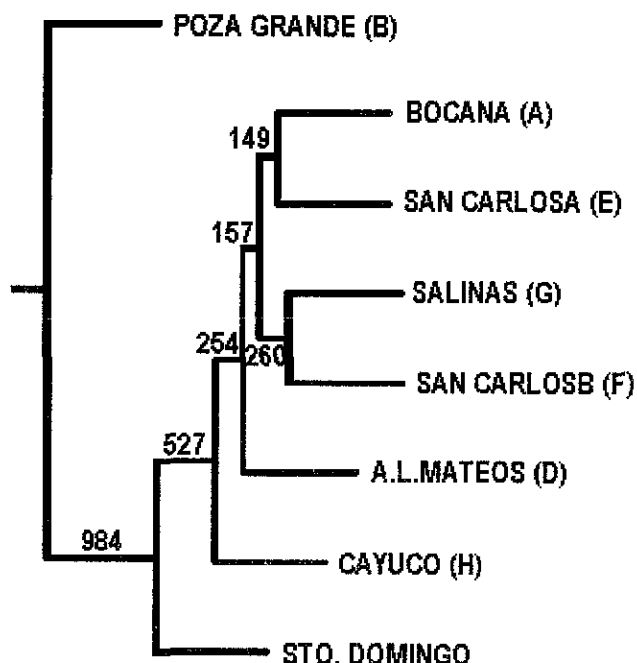


Fig. 13.- Fenograma de las poblaciones de *S. eruca*, construido con los datos de las distancias genéticas de Nei (1978) en "Neighbor-Joining". El porcentaje de los "Bootstrap" de los nodos a las 1000 réplicas son indicadas arriba de cada rama.

Divergencia entre especies

El número total de alelos detectados en los loci analizados en ambas especies fue de 24. De estos, 14 (58.3%) alelos son compartidos entre *S. gummosus* y *S. eruca* (Tabla 11). Por otra parte, los alelos encontrados en *S. eruca* fueron un subconjunto de los encontrados en *S. gummosus*: se detectaron nueve alelos en *S. gummosus* ausentes en *S. eruca* y sólo un alelo único para *S. eruca*, ausente en *S. gummosus* (Tabla 11). Además, se encontró una menor variabilidad genética en *S. eruca* con respecto a *S. gummosus* a juzgar por los valores de H_e y $\%P$ (Tabla 11).

La identidad genética (I) entre pares de poblaciones de ambas especies tuvo valores en un intervalo de 0.77 a 1.00 con un promedio de 0.88, mientras que el valor promedio de la distancia genética (D) fue de 0.12 con intervalos entre pares de poblaciones de 0.002 a 0.25.

Tabla 11.- Frecuencias alélicas de los nueve sistemas enzimáticos ensayados en las poblaciones de *S. gummosus* y *S. eruca*.

Locus/Alelo	Frecuencias alélicas	
	<i>S. gummosus</i>	<i>S. eruca</i>
LAP		
A	1.000	1.000
PGM-2		
A	0.893	0.811
B	0.107	0.189
MDH-1		
A	0.832	1.000
B	0.060	-----
C	0.108	-----
APH-2		
A	0.658	0.390
B	0.336	0.610
C	0.006	-----
G6PDH		
A	0.672	0.292
B	0.328	0.708
ADH-2		
A	0.818	0.794
B	0.182	0.206
EST-1		
A	0.807	-----
B	0.075	-----
C	0.118	1.000
MNR-2		
A	0.721	0.541
B	0.274	0.458
C	0.005	-----
D	-----	0.001
PG1-1		
A	0.794	1.000
B	0.162	-----
C	0.040	-----
D	0.005	-----
<i>He</i> prom.	0.26	0.158
% <i>P</i>	75.0	46.2

Al construirse los fenogramas para ambas especies, se encontró que ambos métodos mostraron relaciones similares, ya que tanto en UPGMA como en "Neighbor-Joinig" existen dos grandes grupos: uno formado por las poblaciones de *S. gummosus* y otro formado por las poblaciones de *S. eruca*. La única diferencia es que en UPGMA se produce una separación robusta entre especies (Fig. 14), mientras que en "Neighbor-Joinig", *S. eruca* queda anidada dentro de *S. gummosus* (Fig. 15).

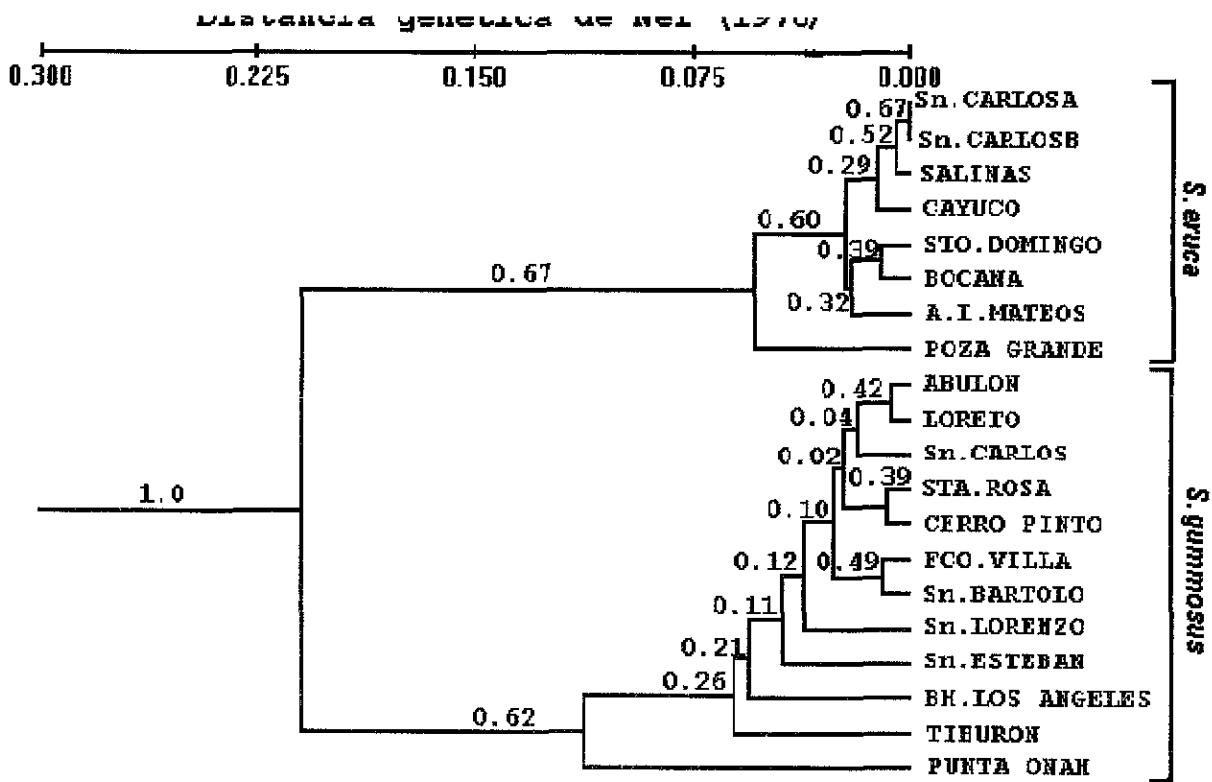


Fig. 14.- Fenograma de las poblaciones de *S. gummosus* y *S. eruca*, construido con los datos de las distancias genéticas en UPGMA. El porcentaje de los Bootstrap de los nodos a las 10,000 réplicas son indicados arriba de cada rama.

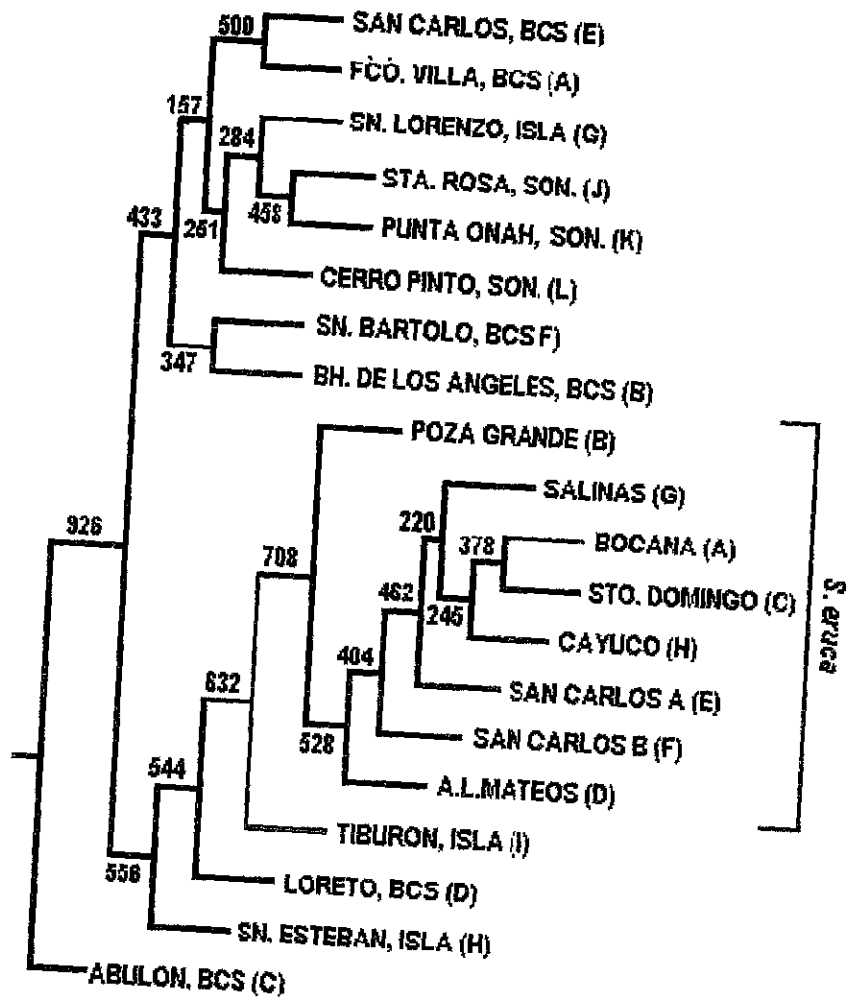


Fig. 15.- Fenograma de las poblaciones de *S. gummosus* y *S. eruca*, construido con los datos de distancias genéticas de Nei (1978) en "Neighbor-Joining". El porcentaje de los "Bootstrap" de los nodos a las 1000 réplicas son indicados arriba de cada rama.

Discusión

Comparación de la variación genética de *Stenocereus gummosus* y *S. eruca* con la de otras especies

De acuerdo con las medidas de variación genética obtenidas dentro y entre poblaciones de *S. gummosus*, se puede observar que esta especie presenta valores ligeramente mayores de porcentaje de loci polimórficos (%P), y heterocigosis esperada (H_e) que los obtenidos en otras cactáceas columnares (Hamrick *et al.* 2000, Tabla 10). Sin embargo, la heterocigosis observada (H_o) y el número promedio de alelos/locus polimórfico (A) en *S. gummosus* es ligeramente menor que los obtenidos en otras cactáceas (con excepción de *S. eruca*, donde $H_o=0.040$ y $A=1.98$). Con lo que respecta a la diferenciación genética entre poblaciones θ (G_{ST}), el promedio obtenido para *S. gummosus* (0.102) está dentro del intervalo observado para otras cactáceas (Hamrick *et al.* 2000). Por el contrario, *S. eruca* muestra valores ligeramente menores en cuanto a porcentaje de loci polimórficos (%P), número promedio de alelos/locus polimórficos (A) y diferenciación genética entre poblaciones θ (G_{ST}), al compararla con otras especies de cactáceas columnares (Tabla 10). Los valores de heterocigosis esperada (H_e) de *S. eruca* están dentro del rango obtenido para las otras cactáceas, pero los valores de heterocigosis observada (H_o) son muy inferiores (0.040) a los encontrados para estas especies. Es también notable que los valores de f , tanto en *S. gummosus* como *S. eruca* son más altos que el de otras cactáceas. (Tabla 10).

Tabla 10. - Niveles de variación genética dentro y entre poblaciones de varias cactáceas columnares. Porcentaje de loci polimórficos (%P), número promedio de alelos/locus polimórfico (A), heterocigosis observada (H_o), heterocigosis esperada (H_e), endogamia local (f) y diferenciación genética entre poblaciones θ (G_{ST}).

Especie	Variación genética dentro de Poblaciones				Distribución de la variación genética entre poblaciones	
	%P	A	H_o	H_e	f	θ (G_{ST})
<i>Carnegiea gigantea</i> *	53.7	2.20	0.110	0.116	0.057	0.075
<i>Lophocereus schottii</i> *	49.5	2.33	0.142	0.144	-0.003	0.242
<i>Pachycereus pringlei</i> *	62.1	2.50	a	0.200	a	0.076
<i>Pereskia guamacho</i> *	63.4	2.42	0.169	0.202	0.196	0.112
<i>Stenocereus griceus</i> *	57.1	2.36	0.139	0.167	0.202	0.096
<i>Stenocereus thurberi</i> *	62.4	2.36	0.157	0.169	0.036	0.128
<i>Stenocereus gummosus</i>	75.0	2.18	0.103	0.261	0.608	0.102
<i>Stenocereus eruca</i>	46.2	1.98	0.040	0.154	0.739	0.069

* P. Pringlei es autotetraploide por lo que no se puede estimar el índice de fijación (F) y la f .

* Datos tomados de Hamrick *et al.* 2000.

Al comparar los valores obtenidos en *S. gummosus* y *S. eruca* con los de plantas con características ecológicas y de historia de vida semejantes, se observa que *S. gummosus* presenta valores de porcentaje de loci polimórficos (%P) ligeramente mayores que especies con distribución amplia, que son dispersadas por animales o en las que se lleva a cabo polinización

cruzada por animales. El valor de P en *S. gummosus* sólo es comparable al reportado para especies que presentan reproducción sexual y asexual (Tabla 11). En cambio los valores obtenidos en porcentaje de loci polimórficos ($\%P$) y número de alelos por locus (A) en *S. eruca* son semejantes al reportado para especies endémicas (Hamrick *et al.* 1992).

Tabla 11.- Comparación de los niveles promedio de variación genética de *Stenocereus gummosus* y *Stenocereus eruca* con otras plantas con características de historia de vida y ecológicas semejantes. Porcentaje de loci polimórficos ($\%P$), número promedio de alelos/locus polimórfico (A), heterocigosis esperada (He) y diferenciación genética entre poblaciones θ (G_{ST}).

Especie	Variación genética dentro de Poblaciones			Distribución de la variación entre poblaciones
	$\%P$	A	He	θ (G_{ST})
Leñosas de larga vida*	65.0	2.22	0.177	0.228
Endémicas*	42.5	1.82	0.078	0.141
Distribución restringida*	61.5	2.08	0.165	0.124
Distribución amplia*	67.8	2.11	0.257	0.033
Autopolinizan*	11.0	1.15	0.025	--
Entrecruzan (polinización animal)*	63.2	2.18	0.211	0.099
Dispersadas (por ingestión)*	67.8	2.18	0.231	0.051
Reproducción asexual/sexual*	72.7	2.12	0.251	0.051
<i>Stenocereus gummosus</i>	75.0	2.18	0.261	0.102
<i>Stenocereus eruca</i>	46.2	1.96	0.154	0.069

*Datos tomados de Hamrick *et al.* 1992.

-- valor faltante o sin calcular

El valor obtenido de número de alelos promedio (A) de *S. gummosus* (2.18) es similar a los de especies con amplia distribución, que se entrecruzan y que presentan reproducción sexual y asexual. El valor de A en *S. gummosus* fue mayor al promedio observado para especies que se autopolinizan (1.15) y especies endémicas (1.82) (Tabla 11). De igual forma, los valores obtenidos de heterocigosis esperada (He) son ligeramente más altos en *S. gummosus* que en especies con reproducción sexual y asexual y ampliamente distribuidas. El valor de diferenciación genética entre poblaciones θ (G_{ST}) de *S. gummosus* (0.102) es semejante al reportado para especies de polinización cruzada por animales (0.099), pero mayor si se compara con especies de distribución amplia, dispersadas por animales o que presentan reproducción sexual y asexual (Tabla 11).

En cambio, el valor obtenido de θ (G_{ST}) en *S. eruca* es inferior al de especies endémicas o de distribución restringida. Por otra parte, el valor de He en *S. eruca* (0.154) es mayor que el reportado para especies endémicas, siendo este valor más semejante a los obtenidos en especies con distribución restringida (0.165) (Tabla 11). Por otro lado, Frankham (1995) menciona que las especies de plantas amenazadas presentan, en general, bajos niveles de variación genética. Lo expuesto por Frankham (1995) no concuerda con lo observado en *S. eruca*, dado que en esta especie se encontraron valores considerables de variación genética,

superiores a los de otras especies amenazadas tales como *Brighamia insignis* (Gemmill *et al.* 1998) y *Ptilimnium nodosum* (Kress *et al.* 1994).

Hamrick y Godt (1989) encontraron que, al nivel de especie y dentro de poblaciones, las especies endémicas contienen significativamente menor diversidad genética que especies con amplia distribución (*i.e.* en cuanto a la proporción de loci heterocigos por individuo, proporción de loci polimórficos, y alelos por locus polimórfico). Estos investigadores sugieren que las especies con amplia distribución pueden tener una larga historia de poblaciones continuas, mientras que las endémicas pueden consistir de poblaciones más pequeñas y ecológicamente limitadas, por lo que pueden ser susceptibles a la pérdida de variación por deriva o cuellos de botella. Sin embargo, algo interesante es que las especies endémicas mantienen los mismos niveles de diferenciación genética entre poblaciones que especies de amplia distribución.

Los resultados de este estudio al comparar *S. gummosus* y *S. eruca*, especies cercanas filogenéticamente y con distribuciones contrastantes, indican que existe una relación clara entre la distribución geográfica de una especie y su variación genética. Los niveles de variación genética encontrados en *S. eruca*, son inferiores en todos los aspectos (%*P*, *A*, *H_o* y *H_e*) a los encontrados en *S. gummosus*. Este resultado concuerda con lo encontrado por Van Treuren *et al.* (1991) y Karron *et al.* (1988). Sin embargo, no debe generalizarse este resultado debido a que en diversos estudios la distribución geográfica no ha resultado ser un predictor adecuado de la variación genética, como lo es el caso de especies de *Podaechmea* (Izquierdo 1995).

Las características ecológicas de *S. gummosus* y *S. eruca*, tales como ser: especies de larga vida, con reproducción sexual como asexual, apareamiento predominantemente de entrecruzamiento y dispersión de semillas por aves (R. Clark Obs. per.), pudieran estar jugando un papel importante en la determinación de los niveles de variación encontrados dentro y entre poblaciones de estas especies.

Frecuencias alélicas de *S. gummosus* y *S. eruca*

La Tabla de frecuencias alélicas de los diferentes loci en *S. gummosus* (Apéndice 2) muestra que aquellos loci que tienen variación genética en Baja California, también son variables en las Islas y en Sonora, con excepción del loci PGM-1 que sólo fue variable en las poblaciones de Sonora e Isla Tiburón. Sin embargo, también se detectaron alelos únicos en poblaciones de Baja California, los cuales muestran frecuencias muy bajas (Apéndice 2). La ausencia de estos alelos en las poblaciones de las islas y de Sonora puede ser producto del efecto fundador ocurrido durante la colonización de estas poblaciones desde Baja California o debidos a deriva génica posterior a la colonización. Otra posible alternativa con respecto a la ausencia de estos alelos en las poblaciones de las islas y de Sonora es que estos alelos estén presentes en las poblaciones, pero debido a errores de muestreo no hayan sido colectados.

Al comparar las frecuencias alélicas de los loci ADH-1, APH-2, MDH-1, MNR-2, y PGI-1, de *S. gummosus* se observa que las frecuencias del alelo más común son similares entre las poblaciones insulares y las de Baja California. Sin embargo, las frecuencias alélicas de los loci G6PDH y GDH-1 son más semejantes entre las poblaciones de Sonora y de las Islas y difieren con respecto a las de Baja California. La importancia de este patrón observado en las frecuencias alélicas radica en que genera diferencias interpoblacionales entre las tres regiones (Baja California, Islas y Sonora), lo cual se ve reflejado en los resultados de la prueba (RxC) realizada con las frecuencias alélicas, los cuales resultaron significativamente distintas ($X^2=178.26$, $P<0.001$) para todos los loci ensayados. Este resultado sugiere que aunque existe flujo génico entre las poblaciones de *S. gummosus*, este no ha sido suficiente para homogenizar a las frecuencias alélicas.

Por otro lado, la tabla de frecuencias de los diferentes loci en *S. eruca* (Apéndice 2) muestran variabilidad genética para 6 loci (SOD-1, G6PDH, PGM-1, PGM-2, ADH-1, MNR-2 Y APH-2). Se encontró, que las frecuencias alélicas de estos loci difieren significativamente ($X^2=112.7$, $P<0.001$) entre poblaciones (con excepción de ADH-1) (Apéndice 2). Los alelos que carecen de actividad, son generalmente referidos como "alelos nulos". Se ha propuesto que la presencia de estos alelos en poblaciones naturales se debe a que los variantes nulos permanecen protegidos, dado que su presencia está enmascarada en la condición heterociga (Weeden y Wendel 1989). En *S. eruca* desconocemos las causas de la presencia de alelos nulos en ADH-1 para las poblaciones de Poza Grande, Santo Domingo y Cayuco. Sin embargo, descartamos como posibles causas la desnaturalización de las enzimas al momento de realizar la extracción o durante la electroforesis, debido a que cuando se corrieron muestras de otras poblaciones que recibieron el mismo protocolo de extracción junto a muestras de estas poblaciones, sólo los extractos de éstas mostraron actividad "nula".

La presencia de alelos raros (Apéndice 2) en las poblaciones de Poza Grande, Cayuco, Santo Domingo y de Salinas de *S. eruca*, podría ser producto del efecto fundador ocurrido durante la colonización de estas poblaciones o debidos a deriva génica posterior a la colonización.

Diferenciación genética entre poblaciones de *S. gummosus* y *S. eruca*

Los valores de diferenciación genética entre poblaciones (θ) de *S. gummosus* y *S. eruca* fueron significativamente distintos de cero, e indican que aproximadamente un 10% y 7%, de la variación genética total es debida a diferencias entre poblaciones. El valor obtenido de θ en ambas especies es comparable con aquellos que se han reportado en la literatura, en especial al de especies con polinización cruzada efectuada por animales (Hamrick *et al.* 1992; Tabla 11). Por otro lado, las distancias e identidades genéticas de las poblaciones de *S. gummosus* y *S.*

eruca muestran que estas están muy cercanas entre sí. Los valores encontrados para estas especies no están muy alejados de los reportados en la literatura para distancias genéticas entre poblaciones de la misma especie; por ejemplo al encontrado por Linhart et al. (1981) de 0.015 entre poblaciones de *Pinus ponderosa* y al de Eguiarte (1990) de 0.024 en adultos de *Astrocaryum mexicanum*.

Por otra parte, diversos estudios realizados con cactáceas columnares sugieren que especies polinizadas por insectos presentan una mayor diferenciación genética (e.g. *Lophocereus schottii*, tabla 10) que especies polinizadas por una combinación de murciélagos, aves e insectos (e.g. *Carnegiea gigantea*, Tabla 10). Sin embargo, al comparar el valor obtenido de θ en *S. gummosus* y *S. eruca* con el de las demás cactáceas, se observa que es más parecido al de especies polinizadas por murciélagos. Este resultado puede ser debido a que *L. schottii* es polinizada predominantemente por *Upiga virescens* una palomilla, cuya capacidad de desplazamiento es limitada, lo cual seguramente limita la dispersión de polen a grandes distancias (Fleming y Holland 1998), mientras que *S. gummosus* y *S. eruca* son polinizados por esfingidos y abejas, insectos que probablemente recorren una distancia mayor.

La literatura sobre el movimiento de polen en especies polinizadas por insectos revela que, en general, éste rara vez se mueve a grandes distancias. Por ejemplo, en *Cnidoscopus urens*, una hierba anual polinizada por mariposas, se encontró que el movimiento del polen podía llegar a ser de hasta 32.2 m (Webb y Bawa 1983) o en el caso de *Psychotria faxlucens*, una especie polinizada por esfingidos durante la noche y colibríes durante el día, se obtuvieron registros de movimiento de polen de hasta 150 m (Pérez, 1998). En *S. gummosus*, se han registrado movimientos de polen de hasta 600 m y, aunque esta es una distancia relativamente corta, el hecho de que las semillas de *S. gummosus* y *S. eruca* sean dispersadas por aves (R. Clark Obs. per.) probablemente generan en estas especies un mayor flujo génico .

Se conoce que el flujo génico es una fuerza que puede tener una gran influencia en la estructura genética poblacional, ya que determina hasta qué grado una población local de una especie es una unidad evolutiva independiente. Wright (en Hartl y Clark 1989) sugiere que cuando el valor de Nm es mayor a 1, el flujo génico es importante y debe esperarse poca diferenciación genética entre poblaciones. Por otro lado, si Nm es menor a 1 debe esperarse que cada población evolucione independientemente.

En *S. gummosus*, los valores de Nm en la mayoría de los loci fueron mayores a 1 (a excepción de PGM-1 y EST-1), con un valor promedio de Nm de 3.40. En cambio, en *S. eruca* el valor de Nm promedio, es de 13.46. Cabe destacar que este resultado se obtuvo considerando al loci ADH-1, del cual no se obtuvieron frecuencias genotípicas en tres poblaciones, por la razón discutida anteriormente. Por el contrario, el valor de Nm promedio en *S. eruca* sin incluir al loci

ADH-1, es de 4.36. Los resultados obtenidos en ambas especies sugieren que la tasa de migración (vía semilla o polen) entre poblaciones es relativamente alta o que se tiene una población grande con una varianza mínima debida a deriva génica (Hartl y Clark 1989).

Este resultado concuerda con la evidencia detectada tanto en *S. gummosus* y *S. eruca*, en el sentido de que no hay aislamiento por distancia. El coeficiente de determinación (r^2) muestra que la distancia sólo explica el 1.1% y 0.7% de la varianza en \hat{M} de *S. gummosus* y *S. eruca*, respectivamente. Cuando en las poblaciones se presenta aislamiento por distancia, el flujo génico disminuye al aumentar la distancia física que separa las poblaciones (Slatkin 1993). Esta ausencia de aislamiento encontrada entre las poblaciones sugieren que las poblaciones de ambas especies están fuera del equilibrio entre deriva génica y migración (Slatkin 1993), debido a que existe un constante flujo génico entre las poblaciones, que impide que haya una gran diferenciación genética entre ellas, y/o que el tiempo transcurrido ha sido insuficiente para alcanzar el equilibrio. Sugieren además, que la fragmentación a la que están sometidas las poblaciones de *S. eruca* no ha afectado el intercambio genético.

Los resultados obtenidos en *S. gummosus* y *S. eruca* sugieren que la deriva génica no juega un papel muy importante en la diferenciación genética entre poblaciones, debido a que no se observó fijación o pérdida de ningún alelo en las frecuencias alélicas de los loci polimórficos, característica distintiva de la deriva. Por otro lado, al comparar los valores de θ entre regiones en *S. gummosus* no se observaron diferencias notables entre ninguna de ellas (Fig. 4). Esto nos puede sugerir que existe flujo génico constante entre regiones y/o que el tiempo de divergencia geográfica entre Baja California y Sonora no ha sido suficiente como para diferenciar a las poblaciones. Esto se puede observar en el fenograma de UPGMA, donde no existe un patrón geográfico de agrupación de las poblaciones (Figs. 3 y 10), por lo que se puede inferir que la diferenciación no es producto de la distancia, lo cual es confirmado por la ausencia de un patrón de aislamiento por distancia. En cambio, en el fenograma de "Neighbor-Joining" sí se observa cierta asociación geográfica (Figs. 3 y 11). Esto puede deberse a que éste es un método de agrupamiento que construye una matriz de distancias modificada, en la cual la separación entre cada par de nodo se ajusta con base en la divergencia promedio del resto de los nodos y es más relajado que el UPGMA con relación a la premisa de que todos los linajes han divergido simultáneamente (Avice 1994). Sin embargo, el resultado obtenido en el fenograma "Neighbor-Joining" sugiere que la hipótesis sobre el origen de las poblaciones en Sonora y de los movimientos migratorios planteada por Gibson es correcta, lo cual se discutirá posteriormente.

En resumen, la escasa diferenciación genética entre poblaciones de *S. gummosus* ($\theta=0.10$) y *S. eruca* ($\theta=0.069$), los valores altos de Nm y la ausencia de un patrón de

aislamiento por distancia sugiere que existe mucho movimiento de polen y semillas (flujo génico) entre las poblaciones muestreadas.

Índice de Fijación F y Estadísticos f de Weir y Cockerham de *S. gummosus* y *S. eruca*

En plantas la endogamia comúnmente ocurre por diversas causas: i) por autopolinización, ii) a través de cruzas entre parientes (Ellstrand y Elam 1993) y iii) selección a favor de homócigos o subdominancia (Futuyma 1998). La autopolinización puede ser evitada en las plantas por sistemas de autoincompatibilidad o separación espacial o temporal de los sexos (*i.e.* diocismo). Por otro lado, la endogamia biparental puede darse en poblaciones, que presentan tamaños efectivos de población pequeños (N_e) o exhiben una estructura genética espacial (subdivisión). Esta estructura puede ser desarrollada en las poblaciones cuando la dispersión de genes vía polen o semillas es restringida espacialmente (Ellstrand y Elam 1993).

Los valores de los índices de fijación (F) encontrados en *S. gummosus* y *S. eruca* (Tabla 5 y 6, respectivamente) fueron en todas las poblaciones positivos y significativamente diferentes de cero (con excepción de las poblaciones de Santa Rosa y Punta Onah en *S. gummosus*). De igual forma, los estadísticos f y F también fueron en todos los casos positivos y significativos en ambas especies (Tabla 7 y 8). Esto sugiere que las poblaciones estudiadas de *S. gummosus* y *S. eruca* presentan un exceso de homócigos por endogamia al nivel de subpoblación y al nivel de población total.

S. gummosus y *S. eruca* presentan un sistema de autoincompatibilidad, es decir nunca hay producción de frutos o semillas por autopolinización, por lo que este sistema puede ser descartado (R. Clark Obs. per.). No obstante, los altos niveles de endogamia pueden ser producto de cruzas entre parientes, tamaños efectivos pequeños y/o selección a favor de los homócigos. Se ha reportado en diversas especies que muestran una baja dispersión de semillas (*e.g.* Foster y Sork 1997) altos niveles de endogamia a causa de que individuos emparentados quedan muy cerca unos de otros. Este parece no ser el caso de *S. gummosus* y *S. eruca*, pues son dispersadas por aves (R. Clark Obs. per.) que tienen gran capacidad de desplazamiento. Sin embargo, el hecho de que ambas especies presenten reproducción vegetativa puede ser una causa posible de endogamia biparental. Esto debido a que "ramets" de un mismo "genet" pueden estar conectados o muy cercanos entre sí, ocasionando una dispersión de polen muy local y posibles cruzas entre parientes.

Por otra parte, el que las poblaciones de Santa Rosa y Punta Onah en Sonora estén en equilibrio de Hardy-Weinberg, pudiera ser debido a una mayor abundancia de polinizadores. Observaciones preliminares indican la presencia de por lo menos cuatro especies de esfíngidos con altas tasas de visita a las flores de *S. gummosus* en Sonora, mientras que para Baja California aun cuando están reportadas las mismas especies, sólo se han observado a dos

especies durante la época de floración de *S. gummosus* con una densidad mucho menor (R. Clark Obs. per.). Esta puede ser una de las razones por la cual la endogamia es más alta en Baja California que en Sonora (Fig. 4). Al ser la especie autoincompatible, se espera que las tasas de entrecruzamiento sean iguales a 1 en todas las poblaciones de *S. gummosus*, por lo que es posible que en Baja California exista un nivel de endogamia biparental mayor al existir una menor densidad de polinizadores; que la selección a favor de homócigos sea mayor y/o que los tamaños efectivos de población sean pequeños con respecto a Sonora. Sin embargo, harían falta estudios de biología reproductiva, estimaciones de tasas de entrecruzamiento y análisis de paternidad para establecer claramente si existe endogamia biparental en las poblaciones de *S. gummosus* y *S. eruca*.

Especiación y movimientos migratorios en *S. gummosus*

Gibson (1989) propone para *S. gummosus* un escenario de especiación alopátrica, producto de la separación física que se produjo entre lo que hoy es Baja California y el continente, alrededor de hace 5 M.a. cuando la península se encontraba 480 Km. al sureste, sobre el margen continental de Jalisco (García 1997). Bajo este escenario, *S. gummosus* se originó debido al aislamiento provocado por la formación del Golfo para posteriormente colonizar el norte de la península, las islas del golfo y la costa de Sonora. Este mismo autor sitúa a *S. gummosus* estrechamente relacionado a *S. stellatus* y *S. treleasei* de acuerdo a evidencia química y morfológica (ver Fig. 1). Considera como ancestro más probable a una especie similar a *S. stellatus* debido a que presenta caracteres morfológicos y químicos muy similares, además de que esta especie estuvo probablemente distribuida por las costas de Jalisco. Gibson (1989) también plantea un segundo escenario que pudiera explicar la distribución actual de *S. gummosus*. Bajo este escenario, el evento de especiación fue anterior a la separación de la Baja California de las costas del continente. Después de ocurrido este evento las poblaciones de *S. gummosus* quedaron distribuidas en ambos lados del actual Golfo y la distribución actual refleja esta contingencia histórica.

Si alguna de las hipótesis propuestas por Gibson (1989) es correcta, el análisis de la estructura genética deberá reflejar de alguna manera esta historia de colonización. Es decir, si la hipótesis de especiación alopátrica es correcta, se esperaría una mayor variación genética en la parte sur de la Península de Baja California y muy poca diversidad genética en Sonora, debido a los eventos de fundador asociados a la colonización de acuerdo como lo plantea la hipótesis de este autor.

Experimentos realizados para ver el efecto de cuellos de botella en la variación genética realizados por Bryant *et al.* (1986) y por McCommans y Bryant (1990) muestran una reducción de la variación genética, cambios en las frecuencias alélicas y pérdida de alelos en las

poblaciones sujetas a eventos de colonización. En este estudio, se observa una mayor diversidad alélica en las poblaciones de Baja California y una reducción de ésta en las poblaciones de las islas y de Sonora (Apéndice 2). Este resultado, al igual que el fenograma de "Neighbor-Joining", apoyan la primera hipótesis de Gibson (1989), debido a que el fenograma anida a poblaciones de Sonora dentro de un subgrupo, junto con la población de la isla San Lorenzo y las poblaciones de Baja California (Fig. 11).

En algunos casos se ha determinado que el sistema de apareamiento parece ser determinante en los efectos genéticos de la colonización, pues existen casos donde no disminuye la variabilidad e incluso puede aumentar después de un evento de colonización. Por ejemplo, Molina-Freaner y Jain (1992) encontraron altos niveles de variabilidad genética en las poblaciones introducidas de *Trifolium hirtum*. Estos autores observaron que en esta especie, la tasa de entrecruzamiento fue mayor respecto a las poblaciones originales, y se sugiere que este factor es el responsable de encontrar altos niveles de variación genética.

En nuestro estudio, al analizar algunos componentes de la variación genética entre regiones con la prueba no paramétrica de Wilcoxon/Kruskal-Wallis, se encontró un mayor polimorfismo ($X^2=7.65$, $P<0.02$) y heterocigosis observada ($X^2=6.58$, $P<0.04$) en las poblaciones de Sonora (Fig. 4) con respecto a las de Baja California. Este resultado muestra una mayor variabilidad genética en las poblaciones de Sonora, lo cual contradice el efecto esperado de un evento de fundador desde Baja California, como lo sugiere Gibson (1989). Esto se puede deber a que la colonización fue a partir de una muestra grande de semillas y muy diversa genéticamente o bien a una mayor densidad de polinizadores y/o condiciones ecológicas más favorables que propiciaron el intercambio genético. Un indicativo de que en Sonora existe un menor nivel de endogamia son los valores del índice de fijación obtenidos (Tabla 5): dos poblaciones de Sonora (Punta Onah y Santa Rosa) se encontraron en equilibrio de Hardy-Weinberg, a diferencia de las poblaciones de Baja California y de las Islas, en donde en todos los casos se encontraron fuera del equilibrio de Hardy-Weinber (Fig. 5).

El resultado anterior no es del todo compatible con la primera hipótesis propuesta por Gibson (1989). Sin embargo, la amplia distribución geográfica (Fig. 2) y la mayor riqueza alélica (Apéndice 2) en Baja California, así como el fenograma "Neighbor-Joining" (Fig. 11) parecieran indicar que *S. gummosus* pudo originarse en la Península de Baja California y migrar posteriormente a Sonora a través de las islas, utilizando a estas como un puente migratorio, como lo sugiere Cody *et al.* (1983). Sin embargo, este resultado debe tomarse con cuidado dada la falta de evidencia sólida. El hecho que la raíz del UPGMA salga de Punta Onah, Sonora y que las poblaciones de Sonora tengan en general mayor variación genética que las de Baja California permiten especular una hipótesis alternativa: que la especie realmente se originó en Sonora y ha

colonizado Baja California (tal vez varias veces de manera independiente). La manera de contestar está interrogante de manera más confiable sería realizando un estudio más fino, tal vez con cloroplasto.

A pesar de que por el momento el tiempo generacional de *S. gummosus* no se conoce, suponemos que es de alrededor de 20-30 años. Esta suposición está basada en el crecimiento anual de otras cactáceas columnares con hábito de crecimiento similar y estimaciones de sus edades (Parker 1988). Si consideramos el escenario propuesto por Gibson sobre el origen de *S. gummosus*, al darse la separación de la Península del sureste de Jalisco hace alrededor de 5 a 12 M.a. (Lonsdale 1989), es posible estimar que han transcurrido aproximadamente 200,000 a 480,000 generaciones de *S. gummosus* en Baja California, suficientes para colonizarla. Sin embargo, el origen de las islas (*i.e.* San Lorenzo, San Esteban y Tiburón) es más reciente, de hace alrededor de 2.5 M.a. (Lonsdale 1989). Considerando esto, es posible estimar que han transcurrido alrededor de 100,000 generaciones de *S. gummosus* a partir de que se formaron las islas "puente". Esto permite suponer que, si el evento de colonización de esta especie a Sonora se dio a través de las islas, como lo propone Gibson (1989) o ya sea que se consideré la colonización de Sonora a Baja California a través de las islas, esta colonización ha sido relativamente reciente, que concuerda muy bien con el origen reciente de la vegetación desértica de 4500 años en esta región. Además, si se considera que la escala de tiempo de permanencia de las especies en el registro fósil es de 3 a 3.5 M.a. (Niklas 1997; Futuyma 1998), podría pensarse que el origen y movimientos migratorios de *S. gummosus*, tuvieron lugar después de que el Desierto Sonorense se originó como consecuencia de los cambios climáticos ocurridos durante el Mioceno Tardío, cuando la Península ya existía.

Factores históricos que influyen en la variación genética de *S. gummosus*

El Desierto Sonorense aparentemente es el resultado de cambios climáticos hacia climas más secos ocurridos durante el Mioceno tardío (8-15 M.a.). Durante este período se dio la separación de Baja California del continente (5 a 12 M.a.) (Van Devender 1998).

Desde el Mioceno tardío al Pleistoceno temprano, sedimentos marinos al sur de California y fósiles de animales tropicales en el noroeste de Sonora reflejan una inversión a climas más tropicales (Van Devender 1998). Se tienen registros de paleovegetación realizados por Van Devender (1997) en diversas zonas del Desierto Sonorense que muestran que la extensión de este desierto no fue siempre la misma y sugieren que durante cada uno de los 15-20 períodos glaciares-interglaciares del Pleistoceno hubo cambios secuenciales de la vegetación (pinos-juníferos-bosque de encino-chaparral; juníferos-encino chaparral y matorral xerófilo). Con este tipo de estudios se ha podido conocer que el matorral del desierto Sonorense no se

formó sino hasta hace cerca de 9,000 años con la desaparición de los últimos pinos y juníperos (Van Devender 1998).

Estos cambios en los tipos de vegetación durante los períodos glaciares e interglaciares pueden ser otra razón del porqué las poblaciones de *S. gummosus* de Baja California (con excepción de San Bartolo, Tabla 3) presenten una menor variabilidad genética, debida a eventos de extinción y re-colonización de poblaciones generados por cambios climáticos. Al producirse climas fríos en el Norte, se pudo provocar un desplazamiento de las poblaciones hacia el sur de Baja California, sitio que sirvió como refugio para las poblaciones migrantes. Diversos estudios han permitido detectar disminuciones en la variabilidad genética por efectos de extinción-recolonización en el pasado. Por ejemplo, Broyles (1998) encontró que las poblaciones de *Asclepias exaltata* tenían una mayor variabilidad genética en las poblaciones sureñas de Norteamérica que en las poblaciones más boreales. Esto se atribuyó a que el sur funcionó como "refugio" durante el último período glacial, en donde se preservó mayor variabilidad. Posteriormente, al recolonizarse los hábitats del norte, la variabilidad disminuyó por efectos de fundador.

Esta dinámica de extinción-recolonización puede ser una razón del porqué la población de San Bartolo (extremo sur) tenga valores de heterocigosis esperada ligeramente, aunque no significativamente, más altos que las demás poblaciones de Baja California. Si en el escenario de movimientos latitudinales se considera a Baja California junto con las islas San Lorenzo y San Esteban, las diferencias en variabilidad entre poblaciones son significativas ($F=8.37$, $P=0.02$). Los cambios graduales de H_e con la latitud para las poblaciones de Baja California y las islas San Lorenzo y San Esteban parecieran apoyar la hipótesis de un movimiento recolonización a partir de las poblaciones del sur (Fig. 7).

Por otra parte, diversos estudios comparativos entre poblaciones continentales e insulares han demostrado que las poblaciones continentales presentan mayor variación genética que las insulares. En la revisión realizada por Frankhman (1997), se encontró que la gran mayoría de islas estudiadas (165 de 202) presentaban bajos niveles de variabilidad en comparación con sus contrapartes continentales.

Los resultados encontrados en Sonora apoyan la idea anterior, debido que al analizar la variación genética entre regiones con la prueba de Wilcoxon/Kruskall-Wallis, se encontró que existen diferencias entre las poblaciones de Sonora y las insulares en número promedio de alelos/locus ($\chi^2=4.37$, $P<0.04$) y heterocigosis observada ($\chi^2=3.86$, $P<0.05$). Esto puede deberse a que Sonora presenta una mayor densidad de polinizadores y/o condiciones ecológicas más favorables que propician el intercambio genético, o a que su colonización fue a partir de una muestra grande de semillas y muy diversa genéticamente en contraparte de las poblaciones

insulares. Sin embargo, al comparar la población de isla Tiburón con las de Sonora, no se encontraron diferencias significativas, esto puede deberse a que las distancias geográficas entre estas poblaciones son pequeñas. Otra posible explicación a este resultado, puede ser atribuido al contacto directo que hubo entre de las poblaciones de Sonora con la población de Tiburón, durante el último período glacial hace (10,000 años) donde el canal del Infiernillo, estaba ausente como barrera geográfica entre estas poblaciones (Calmus T. com.per.).

Por otro lado, al comparar las poblaciones de Baja California con las insulares no se encontraron diferencias significativas en parámetros de variación genética. Un patrón similar fue encontrado por Hernández (1999) y puede atribuirse a la cercanía de las islas con Baja California, lo cual permitiría un intercambio de genes constante entre ambas. Este resultado podría sugerir, que los eventos climáticos ocurridos durante el último período glacial (10,000 años) ocasionó eventos de extinción en las poblaciones insulares, y su recolonización ocasionó un decremento de su variabilidad genética, de forma similar a lo ocurrido en la recolonización de las poblaciones nortteñas de la Península.

Para lograr un mejor entendimiento de los eventos de migración asociados a cambios climáticos en *S. gummosus*, sería recomendable realizar estudios con marcadores a base de ADN. Este tipo de estudio nos permitiría conocer si han existido expansiones recientes en el área de distribución de la especie, debido a que este marcador es más sensible a efectos fundador que los marcadores nucleares. Por ejemplo, Comes y Abbott (1998) observaron en *Senecio gallicus* que la diferenciación genética entre haplotipos de cpADN era alta. Sin embargo, para isoenzimas la diferenciación era considerablemente menor. Esto podría deberse a que las poblaciones experimentaron expansiones en su distribución durante el último período glacial, que es revelada por la mayor sensibilidad de los marcadores de ADN.

Estos estudios, complementados con investigaciones de paleovegetación en la costa del Pacífico y el Desierto Sonorense, nos ayudaría a conocer: a) si *S. stellatus* estuvo distribuido por las costas de Jalisco hace alrededor de 5-12 M.a., tiempo en que se dio la separación de Baja California del Continente; y b) eventos de extinción y re-colonización de *S. gummosus* en el Desierto Sonorense, lo que permitiría evaluar con mayor claridad la hipótesis planteada por Gibson (1989).

Genética de la Conservación para las poblaciones de *S. eruca*.

S. eruca, es una especie considerada como endémica extrema según los criterios planteados por Rabinowitz (1980), debido a que presenta una distribución geográfica pequeña y está restringida a hábitats específicos en las planicies de Magdalena, B.C.S.. Drury (1980) menciona que este tipo de especies son potencialmente más vulnerable a la extinción. Sin embargo, la información obtenida en este trabajo, sugiere que las poblaciones de *S. eruca* no se

encuentran genéticamente en riesgo de extinción, debido a que los valores de variabilidad genética encontrados en *S. eruca* son relativamente altos comparados a los reportados para otras especies endémicas (ver Pleasants y Wendel 1989; Sipes y Wolf 1997).

Por otra parte, el flujo génico entre las poblaciones de *S. eruca* es alto, por lo que se podría considerar a estas poblaciones como una metapoblación, según el concepto propuesto por Levins (1970), para hacer referencia a un conjunto de poblaciones conectadas por migración.

Considerando la evidencia anterior, la estrategia más viable de conservación de la diversidad genética de esta especie es la protección *in-situ* de los hábitats donde ésta se desarrolla. Esto podría lograrse con la creación de una reserva natural, lo cual permitiría que la especie continúe evolucionando en su hábitat natural. El sitio más viable para la conservación a largo plazo de esta especie, podría ser la población de Salinas, debido a la dificultad de acceso a esta población y a que no presenta evidencia de perturbación humana. Sin embargo, en el resto de las poblaciones sería necesario implementar también un programa de conservación *ex-situ*, debido a que en la actualidad estas poblaciones crecen en áreas rodeadas por zonas agrícolas, ganaderas y urbanas, lo que las expone a un riesgo mayor de extinción. La colecta para el programa de conservación *ex-situ* puede incluir semillas y muestras de tallos de las poblaciones más amenazadas. Las semillas pueden ser preservadas en bancos de germoplasma y los tallos pueden usarse en un programa de conservación vía cultivo de tejidos. Las semillas y el cultivo de tejidos podrían usarse para la propagación masiva y un proyecto de restauración en áreas donde se pueda contar con protección para esta especie.

Lande (1988) sugiere que la conservación de especies raras, requiere del conocimiento demográfico y de la estructura genética. Por este motivo, sería interesante complementar los resultados genéticos obtenidos con estudios demográficos y/o ecológicos que permitan contar con evidencia más sólida para implementar programas de conservación a largo plazo en esta especie.

Estructura clonal de *S. gummosus* y *S. eruca*

La reproducción asexual involucra a todos aquellos mecanismos a través de los cuales se produce progenie sin que ocurra recombinación genética. Este tipo de reproducción permite la producción de nuevos individuos (ramets) genéticamente idénticos a la planta madre (Harper y White 1974). La reproducción sexual, por otro lado, permite la creación de nuevas recombinaciones alélicas que pudieran ser ventajosas para la dispersión de la especie a nuevos lugares (Harper 1985) y para enfrentar diversas presiones de selección en su hábitat.

Debido a que las especies clonales presentan reproducción tanto sexual como vegetativa, la adecuación del genet está determinada por ambas características: la producción de semillas y la propagación vegetativa (Cheplick 1995; Mandujano *et al.* 1998; Mandujano *et al.*

2000). Es probable que ambas estrategias representen alternativas dentro de la historia de vida de una especie y que exista un balance óptimo entre individuos sexuales y asexuales (McIellan *et al.* 1997; Mandujano *et al.* 1998; Mandujano *et al.* 2000). Sin embargo, el reclutamiento de nuevos genets a través del establecimiento de plántulas es un evento esporádico en la mayoría de las poblaciones de plantas clonales (Sarukhán y Gadgil 1974; Callaghan 1984; Mandujano *et al.* 2000).

Un patrón similar ha sido reportado por Gibson (1989) y Turner *et al.* (1995) para *S. eruca*. Ellos sugieren que esta especie presenta una reproducción predominantemente vegetativa, debido a que no se observan en el campo plántulas o reclutamientos vía sexual. En cambio, en *S. gummosus* se han observado ambas estrategias de reproducción (R. Clark Obs. per.).

Diversos estudios han evaluado la importancia relativa de la reproducción sexual y de la propagación vegetativa en especies clonales (*i.e.* Izquierdo 1995; Ellstrand y Roose 1987; Hernández 1999). Esto se ha logrado estimando la diversidad genotípica de esas especies a través de diversos índices de diversidad (*i.e.* G/N y D). Los valores de diversidad encontrados por ellos son similares a los obtenidos en *S. gummosus* y *S. eruca* (Tabla 4). En promedio, se detectaron 39.8 genotipos multilocus único (Gm) por población para *S. gummosus* (Tabla 3) y 28.6 genotipos multilocus únicos en *S. eruca* (Tabla 4). Este resultado sugiere que la recombinación sexual es más frecuente en *S. gummosus* con respecto a *S. eruca*. Este patrón también se observa al comparar la tasa de descubrimiento genotípica (G/N) promedio de *S. gummosus* y *S. eruca*, que es de 0.72 y 0.54, respectivamente. Esto significa que existe una mayor probabilidad de detectar genotipos diferentes en *S. gummosus* (72%), que en *S. eruca* (54%). Lo anterior podría interpretarse como evidencia de que existe un 72% de individuos originados por la vía sexual contra un 28% reclutados vegetativamente en *S. gummosus*. En cambio, en *S. eruca* un 54% de los individuos son reclutados por la vía sexual y un 46% por la vía asexual. Por otra parte, los valores de diversidad (D) en ambas especies son cercanos a 1 y sugieren que en ninguna de ellas hay clones dominantes y que más bien los genotipos replicados son de muchos clones. Este resultado es similar al encontrado en otras especies con crecimiento clonal (Tabla 12).

Los resultados obtenidos en *S. eruca* no apoyan las observaciones hechas por Gibson (1989) y Turner *et al.* (1995) con relación a que esta especie se reproduce predominantemente por la vía vegetativa, debido a que los valores obtenidos de diversidad genotípica indican que con frecuencia o de manera esporádica ocurren eventos de reclutamiento vía sexual.

Por otra parte, diversos investigadores (*i.e.* Widén *et al.* 1994; Cheliak y Pitel 1984) sugieren que un punto problemático en la estimación de la variación genotípica radica en la

estrategia de cómo son colectados los ramets y el número de loci polimórficos utilizados en el análisis. Esto es debido a que: 1) la habilidad para detectar diferencias genotípicas entre individuos depende del número de loci polimórficos examinados y de la frecuencia de alelos de estos loci; y 2) el esfuerzo de muestreo debe ser considerado, esto debido a que al coleccionar más ramets en una escala espacial más fina se incrementa la probabilidad de que los genets sean muestreados de manera repetida.

Con la finalidad de explorar el efecto del número de loci polimórficos en la detección de genotipos multilocus únicos (*Gm*) se calculó el coeficiente de correlación de Kendall (θ) entre ambos parámetros (Menken *et al.* 1995). El resultado obtenido en ambas especies indica que la correlación no es significativa, ni para *S. gummosus* ($\theta = 0.366$, $P = 0.151$), ni para *S. eruca* ($\theta = 0.364$, $P = 0.272$), lo cual sugiere que las estimaciones obtenidas de diversidad clonal en ambas especies no dependen del número de loci polimórficos utilizados.

En la Tabla 12 se pueden apreciar los estimadores de la diversidad genotípica y diferentes estimadores de diversidad genética en algunas plantas clonales. Se puede observar que los valores obtenidos para ambas especies de estudio están dentro del intervalo de valores de diversidad genotípica reportados para otras especies clonales (Tabla 12). *S. gummosus*, presenta valores de diversidad genotípica considerablemente altos con respecto a los de otras plantas clonales, sólo superado por otras plantas clonales de amplia distribución: *Erythronium albidum* y *Populus tremuloides*. En cambio, *S. eruca* presenta valores moderados de diversidad genotípica y ligeramente mayores a los de otras plantas clonales, por ejemplo *E. Propullans*, la cual es una especie que también presenta distribución restringida, pero a diferencia de *S. eruca*, ésta es una especie muy clonal (Tabla 12).

Tabla 12.- Diversidad genotípica y genética de especies clonales. Porcentaje de loci polimórficos (%P), número de alelos por locus (*A*), diversidad genética (H_T), proporción de diversidad genética entre poblaciones θ (G_{ST}), número de poblaciones / individuos muestreados (Pobs/N), genotipos multilocus encontrados (*G*), tasa de descubrimiento de nuevos genotipos (*G/N*) y diversidad genotípica (*D*).

	Diversidad genética				Diversidad genotípica			
	%P	<i>A</i>	H_T	θ (G_{ST})	Pobs/N	<i>G</i>	<i>G/N</i>	<i>D</i>
<i>Lophocereus schottii</i> ^a	44.4	1.55	0.33	0.13	8/336	87	0.43	0.87
<i>Quercus laevis</i> ^b	64	2.36	-	0.032	1/3402	842	0.23	0.99
<i>Q. margaretta</i> ^b	73	2.60	-	-	1/240	84	0.35	0.98
<i>Erythronium albidum</i> [*]	38	3.0	0.42	0.01	7/770	63	0.90	0.96
<i>E. propullans</i> [*]	24	1.8	0.18	0.33	7/93	21	0.23	0.66
<i>Spartina patens</i> [*]	48	-	0.43	0.12	4/34	101	0.29	0.93
<i>Populus tremuloides</i> [*]	92	2.3	0.42	-	7/222	222	1.00	1.00
<i>Alnus incata</i> [*]	40	3.0	0.57	0.07	4/409	5	0.01	0.69
<i>Typha-4 spp.</i> [*]	0	-	0	-	-	1	-	0
<i>Aechmea tuitensis</i> ^c	38.3	2.60	-	0.196	1/109	33	0.30	0.88
<i>Stenocereus gummosus</i>	73.5	1.93	0.30	0.121	12/600	382	0.72	0.98
<i>Stenocereus eruca</i>	46.2	1.48	0.20	0.068	8/400	189	0.54	0.92

- Valores faltantes o sin calcular,

* datos tomados de Pleasants y Wendel 1989; **a** valores tomados de Parker y Hamrick 1992; **b** de Berg y Hamrick 1994 y **c** Izquierdo 1995.

En general, se puede observar que *S. gummosus* y *S. eruca*, al igual que otras plantas clonales, presentan niveles considerables de diversidad genética (Tabla 12). Diversos estudios han encontrado que los niveles de diversidad genética en especies clonales son similares a los encontrados en especies que se reproducen sexualmente (Ellstrand y Roose 1987; Hamrick y Godt 1989). Sin embargo, el origen de estos niveles de variación genética en muchas plantas clonales no está del todo claro. Existen diversas hipótesis al respecto, entre ellas están: un reclutamiento simultáneo dado por eventos tanto sexuales como asexuales, selección, inmigración, mutación y heterogeneidad ambiental, lo que permite que las especies clonales mantengan niveles altos de diversidad genética (Ellstrand y Roose 1987).

Las especies bajo estudio presentan aparentemente ambas alternativas de reproducción (sexual y asexual), tal como se mencionó anteriormente. Además, ambas especies muestran niveles considerables de flujo génico (Tabla 7 y 8), lo cual probablemente ha permitido que estas especies mantengan niveles considerables de variación genética similares a los de especies con reproducción sexual (0.261) y predominantemente de entrecruzamiento (0.251) (Loveless y Hamrick 1984).

De acuerdo a Slatkin (1985), las mutaciones somáticas pueden generar variación genética adicional en poblaciones de plantas que se reproducen vegetativamente. Whitman y Slobodchikoff (1981) le confieren también gran importancia a este proceso (reportando evidencias de ello en plantas cultivadas) y señalan que estas mutaciones pueden ocurrir en las células de las yemas y posteriormente propagarse a través de mecanismos sexuales y asexuales. Sin embargo, las evidencias de mutaciones somáticas en especies clonales silvestres son escasas y la frecuencia con que ocurren parece ser bastante baja (Antolin y Strobeck 1985; Klekowski 1997).

¿Pueden ser los altos niveles de endogamia encontrados en ambas especies producto de la clonalidad?

En las plantas clonales el reclutamiento de los individuos a la población se puede dar por dos vías: la sexual y la de la propagación vegetativa (Mendoza 1994; Mandujano *et al.* 1998; Mandujano *et al.* 2000). En el primer caso, cada individuo proviene de un solo cigoto (genet) y por lo tanto, son genéticamente diferentes entre sí. En el segundo caso, la acción coordinada de células meristemáticas produce otro individuo (ramet) que desarrolla su propio sistema radicular y eventualmente se puede separar de la planta progenitora (Harper y White 1974). Estos individuos constituyen unidades fisiológicas y ecológicas independientes que tienen la misma identidad genética que el organismo que las produce (Cook 1985). Por este motivo, algunos autores (*i.e.* Mciellan *et al.* 1997) sugieren que la estimación de las frecuencias alélicas en plantas clonales debe realizarse con cuidado, debido a que se podría estar analizando el mismo

clon. Este análisis repetido del mismo clon, podría influir en las estimaciones de variación y estructura genética. Sin embargo, en dos estudios de caso, uno desarrollado por McClintock y Waterway (1993) y otro por Jonsson *et al.* (1996), encontraron que la pseudoreplicación al nivel de ramet aparentemente no influye en las estimaciones de variación al nivel de genet.

Con la finalidad de conocer el efecto de la clonalidad en las estimaciones de la variación y estructura genética y determinar si ésta afecta los niveles de endogamia, se eliminó de la base de datos a todos los genotipos repetidos (ramets) dentro de las poblaciones. Una vez realizado esto, se analizaron nuevamente los estimadores de variación genética (H_o y H_e) y los estadísticos F de Weir y Cockerham (f y F). Los resultados de este análisis muestran que el promedio de H_e y H_o para todas las poblaciones en *S. gummosus* fue de 0.298 y 0.113 respectivamente. En cambio, el promedio de H_e y H_o en *S. eruca* fue de 0.187 y 0.05, respectivamente. Estos valores son ligeramente más altos a los obtenidos con todos los genotipos repetidos (Tabla 3 y 4) en ambas especies. Por otra parte, los valores de los coeficientes de endogamia f y F con los datos modificados en *S. gummosus* fueron de 0.579 y 0.612, respectivamente. En contraste, los valores de f y F en *S. eruca* son 0.70 y 0.710, respectivamente. Los valores de estos índices no son muy diferentes a los obtenidos con todos los genotipos repetidos anteriormente (Tabla 7 y 8), y aún siguen siendo muy altos. Aparentemente, el efecto de eliminar los genotipos repetidos (ramets) no influye en las estimaciones de déficit de heterócigos. Esto sugiere que la contribución que tiene la clonalidad a los altos niveles de endogamia obtenidos en ambas especies es poco relevante.

Sin embargo, el arreglo espacial de clones dentro de las poblaciones puede tener un efecto importante en la reproducción sexual y sistemas reproductivos de una especie. Dentro de una población clonal, la concentración de individuos relacionados puede incrementarse debido al movimiento de clones (*i.e.* arrastre por corrientes de agua o al desplazamiento mecánico de los tallos). En caso de que ocurra lo anterior y la especie presente flujo génico limitado, puede incrementarse las cruas entre parientes causando deficiencias de heterócigos. Está documentado que dos de los mecanismos más comunes que generan endogamia en plantas son la autopolinización y la crua entre parientes. Affre *et al.* (1997) reporta evidencias de ello en *Cyclamen balearicum*. Esta especie presenta valores promedio cercanos a 1 de f y F , posiblemente debidos a altos niveles de autopolinización y cruas entre parientes causados por una dispersión restringida de polen y semillas.

Tal como se sugirió anteriormente, la endogamia en *S. gummosus* y *S. eruca* podría estar siendo generada por cruas entre parientes. Esta podría incrementarse si el flujo de polen es local y si los clones ocupan un gran espacio dentro de cada población. Por tal motivo, es

importante profundizar en el conocimiento de la biología reproductiva de ambas especies, para conocer el efecto de la clonalidad en la variación genética.

Origen de *S. eruca*.

La evidencia sobre los patrones de variación genética entre especies cercanas puede proporcionar información valiosa sobre sus relaciones filogenéticas. Gibson (1989) sugiere que *S. eruca* se originó recientemente a partir de un ancestro similar a *S. gummosus*, debido a que presenta caracteres morfológicos y químicos muy similares.

Si *S. eruca* se originó recientemente a partir de un ancestro similar a *S. gummosus*, varias predicciones con respecto a la composición alélica y niveles de variación deben de considerarse (Gottlieb 1973a). Primero, que el número de alelos observados en *S. eruca* sea un subconjunto de los observados en *S. gummosus*. Segundo, que las medidas obtenidas de variación genética (riqueza alélica, heterocigosidad esperada y porcentaje de loci polimórficos) sean menores en *S. eruca*. También debe esperarse que la identidad genética interespecíficas obtenidas sean similar o ligeramente menor que las identidades intraespecíficas.

Los resultados obtenidos del análisis de isoenzimas para ambas especies son consistentes con estas predicciones. La composición alélica de *S. eruca* representa un subconjunto de la obtenida en *S. gummosus*. De un total de nueve loci analizados para ambas especies, se detectó un total de 24 alelos. *S. gummosus* presenta nueve alelos únicos no presentes en *S. eruca*, contra un alelo único encontrado en *S. eruca*, ausente en *S. gummosus*. Ambas especies presentan en común 14 alelos (Tabla 9, Fig. 6). Estos en general son alelo(s) frecuentes en los loci de *S. gummosus*, lo cual podría suponerse, ya que se esperaría que los alelos de *S. eruca* fueran un subconjunto aleatorio de los alelos de *S. gummosus*, tal como lo proponen Pleasants y Wendel (1989) para *E. albidum*.

Las medidas de variabilidad genética ($%P$ y He) son también más altas en *S. gummosus* que en *S. eruca* (Tabla 9, Fig. 6). En la mayoría de los estudios interespecíficos, los alelos únicos obtenidos en la especie derivada se encuentran en bajas frecuencias (*i.e.* Gottlieb 1972; Gottlieb y Pilz 1976; Crawford *et al.* 1984). En este trabajo se obtuvo un resultado similar, debido que el alelo MNR-2-D en *S. eruca* se encuentra en baja frecuencia.

La divergencia genética entre especies es evaluada generalmente calculando el promedio de la identidad genética (I) entre todos los pares de poblaciones de ambas especies. La divergencia genética es máxima en un locus cuando las dos especies no tienen alelos en común y mínima cuando las poblaciones tienen complementos similares de alelos con frecuencias similares. El promedio de la identidad genética interespecífica fue de 0.88, que es ligeramente menor a las obtenidas dentro de las poblaciones de cada especie (0.96 y 0.98) para *S. gummosus* y *S. eruca*, respectivamente. Este valor está dentro del intervalo (0.28-0.99) de los

valores observados en pares de especies progenitor-derivada en otras plantas (Gottlieb 1977, Pleasants y Wendel 1989). El valor obtenido de I nos sugiere que el tiempo de divergencia de *S. eruca* es relativamente reciente.

Los fenogramas construidos con diversos procedimientos revelan patrones distintos en cuanto al arreglo de las poblaciones de cada especie. El procedimiento UPGMA, muestra un fenograma con dos grandes grupos, uno formado por las poblaciones de *S. gummosus* y el otro con las poblaciones de *S. eruca* (Fig. 14). En cambio, el "Neighbor-Joining" muestra un fenograma que incluye a *S. eruca* dentro de un subgrupo de *S. gummosus* (Fig. 15). Esas diferencias entre ambos métodos de reconstrucción filogenética pueden ser debidas a que "Neighbor-Joining" es un método mucho más robusto a los problemas de diferencias en las tasas de sustitución que el UPGMA, el cual puede conducir a errores muy fuertes en la reconstrucción filogenética si existe heterogeneidad en la tasa de cambio evolutivo entre linajes (ver Eguiarte *et al.* 1997).

Los resultados obtenidos con isoenzimas en los patrones de variabilidad genética y alélica discutidos anteriormente apoyan la hipótesis de que *S. eruca* divergió recientemente de un ancestro similar a *S. gummosus*, tal como lo sugiere Gibson (1989). Lowrey y Crawford (1985) mencionan que puede haber grandes cambios morfológicos dentro de un período de tiempo muy corto después de ocurrida la especiación, sin que se presenten grandes cambios genéticos. Un escenario similar pudo haber ocurrido durante el proceso de especiación que dio origen a *S. eruca*.

Un estudio filogenético con marcadores moleculares a base de ADN (*i.e* cloroplasto) nos permitiría conocer con mayor claridad la relación filogenética entre ambas especies y nos proporcionaría evidencia de su posición filogenética con respecto a otras especies del género *Stenocereus* y, en consecuencia, nos permitiría evaluar con mayor rigor las hipótesis planteadas por Gibson (1989).

CONCLUSIONES

- ❖ Los valores de variación genética encontrados en este estudio para *S. gummosus* son similares a los reportados en la literatura para plantas con características de historia de vida parecida: de amplia distribución, reproducción tanto sexual como asexual y polinización cruzada. De igual forma, los valores obtenidos en *S. eruca* son similares a los de especies con distribución restringida y endémicas.
- ❖ Los índices de Fijación (F) y estadísticos de Weir y Cockerham f y F sugieren que las poblaciones de ambas especies presentan niveles considerables de endogamia, lo cual pudiera ser generado por cruce entre parientes.
- ❖ En ambas especies se encontró que no existe un patrón de aislamiento por distancia, lo que sugiere que las poblaciones están fuera del equilibrio entre deriva génica y migración, debido a que existe un constante flujo génico entre poblaciones distantes.
- ❖ La evidencia de diversidad alélica y el fenograma construido con el procedimiento de "Neighbor-Joining" apoyan la hipótesis del origen de las poblaciones de Sonora y movimientos migratorios de *S. gummosus* planteada por Gibson (1989).
- ❖ Las poblaciones de *S. gummosus* del sur de Baja California presentaron mayor variación genética que las del norte, lo cual sugiere eventos de extinción y recolonización a partir de las poblaciones del sur.
- ❖ Se encontró que las poblaciones de *S. eruca*, especie endémica y restringida a las Planicies de Magdalena, B.C.S., no están depauperadas genéticamente, debido a que los valores de variabilidad obtenidos son relativamente altos.
- ❖ Los valores de diversidad genotípica obtenidos indican que en ambas especies ocurre tanto reproducción sexual como vegetativa.
- ❖ El análisis filogenético realizado con isoenzimas sugiere que *S. eruca* se originó recientemente de un ancestro similar a *S. gummosus*, tal como plantea Gibson (1989).

LITERATURA CITADA

- Affre, L. J.D. Thompson, y M. Debussche. 1997. Genetic structure of continental and island populations of the Mediterranean endemic *Cyclamen balearicum* (Primulaceae). *Am. J. Bot.* 84:437-451.
- Alper, P., R. Lumaret y F. Di Giusto. 1983. Population structure inferred from allozyme analysis in the clonal herb *Fragaria chiloensis* (Rosaceae). *Am. J. Bot.* 80:1002-1006.
- Antolin, M.F. y C. Strobeck. 1985. The population genetics of somatic mutation in plants. *Amer. Nat.* 126: 52-62.
- Avise, J.C. 1994. Molecular markers, natural history and evolution. Chapman and Hall, N.Y.
- Barrett, S.C. y J.R. Kohn. 1991. Genetic and evolutionary consequences of small population size in plants: Implications for conservation. En: Falk, D. Y K. Holsinger (eds.), *Genetics and conservation of rare plants*, 3-29. Oxford University Press, N.Y.
- Barton, N.H. y B. Charlesworth. 1984. Genetic revolutions, founder effects, and speciation. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 5:133-164.
- Bayer, R. 1991. Patterns of clonal diversity in geographically marginal populations of *Antennaria rosea* (Asteraceae: *Inuleae*) from subarctic Alaska and Yukon territory. *Bot. Gaz.* 152:486-493
- Berg, E.E. y J.L. Hamrick. 1994. Spatial and genetic structure of two sandhills oaks: *Quercus laevis* and *Q. margareta*. (Fagaceae). *Am. J. Bot.* 81:7-14.
- Bravo, H.H. 1978. Las cactáceas de México. Tomo I. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F.
- Bravo, H.H. y L. Scheinvar. 1995. El interesante mundo de las cactáceas. Fondo de Cultura Económica. México, D.F.
- Britton, N.L. y J.N. Rose. 1963. The Cactaceae: descriptions and illustrations of plants of the cactus family. Dover Publications, INC., New York.
- Broyles, S.B. 1998. Postglacial migration and the loss of allozyme variation in northern populations of *Asclepias exaltata* (Asclepiadaceae). *Am. J. Bot.* 85: 1091-1097
- Bryant, E.H., A.S. McCommas y M.L. Combs. 1986. The effect of an experimental bottleneck upon quantitative genetic variation in the housefly. *Genetics* 114:1191-1211.
- Buxbaum, F. 1958. The phylogenetic division of the subfamily *Cereoideae*, Cactaceae. *Madroño*. 14:177-206.
- Callaghan, T.V. 1984. Growth and translocation in a clonal southern hemisphere sedge, *Uncinia eridensis*. *J. of Ecology*. 72:529-546.
- Cancino, J., H. Romero-Schmidt, A. Ortega-Rubio y J.L. León de La Luz. 1995. Observations on distribution and habitat characteristics of the endangered Mexican endemic cacti *Stenocereus eruca*. *Journal of Arid Environments*. 29:55-62.
- Cheliak, W.M. y J.A. Pitel. 1984. Electrophoretic identification of clones in trembling aspen. *Can. J. For. Res.* 14:740-743.
- Cody, M., R. Moram, y H. Thompson. 1983. The plants. En: Case, J.T. y M.L. Cody (eds.), *Island biogeography in the sea of Cortes*, 49-97. University of California Press.
- Comes, H.P. y R.J. Abbott. 1998. The relative importance of historical events and gene flow on the population structure of a mediterranean ragwort, *Senecio gallicus* (Asteraceae). *Evolution* 52: 355-367
- Cook, R.E. 1985. Growth and development in clonal plant populations. En: Jackson, C.V.J., L.W. Buss y R.E. Cook (eds), *Population biology and evolution of clonal organisms*, 259-297. Yale University Press. New Haven, Conn.
- Comejo, O.D. y B.B. Simpson. 1997. Analysis of form and function in North American columnar cacti (tribe Pachycereae). *Am. J. Bot.* 84:1482-1501.
- Cota, H.J. y R.S. Wallace. 1996. La citología y la sistemática molecular en la Familia Cactaceae. *Cact. Suc. Mex.* Tomo 41. No. 2:27-45.
- Cota, H.J. y R.S. Wallace. 1997. Chloroplast DNA evidence for divergence in *Ferocactus* and its relationships to North American columnar cacti (Cactaceae: Cactoideae). *Syst. Bot.* 22:529-542.
- Crawford, D.J. y E.B. Smith. 1982. Allozyme variation in *Coreopsis nuecensoides* and *C. nuecensis* (Compositae), a progenitor-derivative species pair. *Evolution*. 36:379-386.
- Crawford, D.J., E.B. Smith y R.E. Pilatowski. 1984. Isozymes of *Coreopsis* section *Calliopsis* (Compositae): genetic variation within and divergence among species. *Brittonia*, 34: 375-381.
- Crow, J.F. y K. Aoki. 1984. Group Selection for a polygenic behavioral trait: Estimating the degree of population subdivision. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 81:6073-6077.

- Cheplick, G.C. 1995. Life history trade-off in *Amphibromus scabrivalvis* (Poaceae): Allocation to clonal growth, storage, and cleistogamous reproduction. *Am. J. Bot.* 82:621-629.
- Drury, W.H. 1980. Rare species of plants. *Rhodora.* 82:3-48.
- Eguiarte, L.E. 1988. Una guía para principiantes en la genética de poblaciones. En Franco, O.A. (compilador), *Polémicas contemporáneas en evolución*, 41-56. AGT Editor, S.A. México.
- Eguiarte, L.E. 1990. Genética de poblaciones de *Astrocaryum mexicanum*. Liebm. en los Tuxtlas, Veracruz. Tesis de Doctorado. Centro de Ecología/UACPyP de el CCH, UNAM, México.
- Eguiarte, L.E. y D. Piñero. 1990. Genética de la conservación: leones vemos, Genes no Sabemos. *Ciencias.* No. especial 4:34-47.
- Eguiarte, L.E., N. Pérez-Nasser y D. Piñero. 1992. Genetic structure, outcrossing rate and heterosis in *Astrocaryum mexicanum* (tropical palm): implications for evolution and conservation. *Heredity* 69:203-13.
- Eguiarte, L.E., V. Souza, J. Nuñez-Farfán y B. Hernández. 1997. El análisis filogenético: métodos, problemas y perspectivas. *Bol. Soc. Bot. México* 60:169-181.
- Ellstrand, N.C. y D.R. Elam. 1993. Population genetic consequences of small population size: implications for plant conservation. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 24:217-242.
- Ellstrand, N.C. and M.L. Roose. 1987. Patterns of genotypic diversity in clonal plant species. *Amer. J. Bot.* 74: 123-131
- Felsenstein, J. 1993. *Phylip (Phylogeny Inference Package) 3.5c.* University of Washington, Seattle.
- Fleming, T.H. y N.J. Holland. 1998. The evolution of obligate mutualisms: the senita and senita moth. *Oecologia.* 114:368-378.
- Foster, P.F. y V.L. Sork. 1997. Population and genetic structure of the west African rain forest liana *Ancistrocladus korupensis* (Ancistrocladaceae). *Am. J. Bot.* 84: 1078-1091.
- Frankham, R. 1995. Conservation genetics. *Ann. Rev. Genetics.* 29:305-27.
- Frankham, R. 1997. Do island populations have less genetic variation than mainland populations?. *Heredity.* 78:311-327.
- Futuyma, D.J. 1998. *Evolutionary Biology.* Sinauer Associates Publishers. Sunderland, Mass.
- García, B.J.C. 1997. La evolución tectónica del Golfo de California: una investigación en curso. *Geología del Noroeste.* Publicación de la Est. Reg. Del Noroeste. Del Inst. de Geología. UNAM. Vol. 1. No.2. pp. 15-17.
- Gastil, G., J. Minch, y R.P. Phillips. 1983. The Geology and Ages of islands. En: Case, J.T. y M.L. Cody (eds.), *Island biogeography in the sea of Cortes*, 13-25. University of California Press.
- Gemmill, C.E.C., T.A. Ranker, D. Ragone, S.P. Perlman y K.R. Wood. 1998. Conservation genetics of the endangered endemic Hawaiian genus *Brighamia* (Campanulaceae). *Amer. J. Bot.* 85:528-539.
- Gibson, A.C. 1988. The systematic and evolution of the subtribe *Stenocereinae*. 1. Composition and definition of the subtribe. *Cactus and Succulent Journal (U.S)* 60:11-16.
- Gibson, A.C. 1989. The systematic and evolution of the subtribe *Stenocereinae*. 7. The *Machaerocerei* of *Stenocereus*. *Cactus and Succulent Journal (U.S)* 61:104-112.
- Gibson, A.C. y K.E. Horak. 1978. Systematic anatomy and phylogeny of Mexican columnar cacti. *Ann. Missouri Bot. Gard.* 65:999-1057.
- Gibson, C.A. y P.S. Nobel. 1986. *The Cactus Primer.* Harvard University Press. Cambridge, Mass.
- Gonzalez, C. R. 1999. Análisis de la variación genética de *Agave deserti* en el Desierto Sonorense por medio de marcadores moleculares (RAPDs). Tesis Profesional. Facultad de Ciencias. UNAM. México, D.F.
- Gottlieb, D.L. 1973a. Enzyme differentiation and phylogeny in *Clarkia franciscana*, *C. rubicunda* and *C. amoena*. *Evolution.* 27:205-214.
- Gottlieb, D.L. 1973b. Genetic differentiation, sympatric speciation and the origin of a diploid species of *Stephanomeria*. *Amer. J. Bot.* 60:545-553.
- Gottlieb, D.L. 1974. Genetic confirmation of the origin of *Clarkia lingulata*. *Evolution.* 28:244-250.
- Gottlieb, D.L. 1977. Electrophoretic evidence and plant systematics. *Ann. Missouri Bot. Gard.* 64:161-180.
- Gottlieb, D.L. y G. Pilz. 1976. Genetic similarity between *Gaura longiflora* and its obligately outcrossing derivative *G. demareei*. *Syst. Bot.* 1:181-187.
- Grant, V. 1971. *Plant speciation.* Columbia University Press. New York.
- Hamrick, J.L. 1989. Analysis of genetic structure in plant populations. En Soltis D.E. y P.S. Solyis (eds.), *Isozymes in Plant Biology*, 87-105. Discorides Press. Portland.

- Hamrick, J.L., y M.J.W. Godt. 1989. Allozyme diversity in plant species. En Brown, A.D.H., M.T. Clegg, A.L. Kahler and B.S. Weir (eds), Plant populations genetics, breeding and genetic resources, 43-63. Sinauer, Sunderland, Mass.
- Hamrick, J.L., Y.B. Linhart, y J.B. Mitton. 1979. Relationships between life history characteristics and electrophoretically detectable genetic variation in plants. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 10:173-200.
- Hamrick, J.L., M.J.W. Godt, y S.L. Sherman-Broyles. 1992. Factors influencing levels of genetic diversity in woody plant species. *New Forests* 6:95-124.
- Hamrick, L.J., J.D. Nason y T.H. Fleming. 2000. Genetic diversity in columnar cacti. En Fleming, T. y A. Valiente (eds.), Chapter for symposium for meeting on "Evolution, Ecology and Conservation of columnar cacti and their mutualists". Tehuacan, Mexico.
- Harper, J.L. 1985. Modules, branches and the capture of resources. En: Jackson, J.B., L.W. Buss y R.E. Cook (eds.), *Population biology and evolution of clonal organisms*, 1-33. Yale University Press, New Haven.
- Harper, J.L. y J. White. 1974. The demography of plants. *Annual Review of Ecol. Syst.* 5:419-463.
- Hartl, D.L. and A.G. Clark. 1989. *Principles of Population Genetics*. Sinauer Associates. Sunderland, Mass.
- Hedrick, P.W. 1985. *Genetics of Populations*. Jones and Bartlett. Boston.
- Hernández, A. 1999. Consecuencias genéticas y evolutivas del surgimiento del golfo de California en poblaciones de *Bursera microphylla* (Burseraceae) en el Desierto Sonorense. Tesis Profesional. Facultad de Ciencias UNAM, México.
- Izquierdo, Y.L. 1995. Estructura y variación genética en cuatro especies de *Aechmea* (Bromeliaceae) en México: *A. mexicana* (Baker), *A. lueddemanniana* (K.Koch) Brongn. Ex Mez in Engl. Pflanzenr., *A. macvaughii*, L.B. Smith y *A. tuitensis* (P. Magaña y E. Lott). Tesis de Doctorado. Centro de Ecología. UNAM. México, D.F.
- Jaenike, J.R. 1973. A steady state model of genetic polymorphisms on islands. *Am. Nat.* 107:793-795.
- Jonsson, B.O., S.I. Jónsdóttir y N. Cronberg. 1996. Clonal diversity and allozyme variation in populations of the arctic sedge *Carex bigelowii* (Cyperaceae). *J. of Ecology*. 84:449-459.
- Karron, J.D. 1987. A comparison of levels of genetic polymorphism and self-compatibility in geographically restricted and widespread plant congeners. *Evol. Ecol.* 1:47-58.
- Karron, N.R., Y.B. Linhart, C.A. Chaulk y C. Roberson. 1988. Genetic structure of populations of geographically and widespread species of *Astragalus* (Fabaceae). *Am. J. Bot.* 75:1114-1119.
- Kigel, J. 1995. Seed germination in Arid and Semiarid Regions. En: Kigel, J. y G. Galili (eds.), *Seed development and germination*, 645-699. Marcel Dekker, Inc.
- Kimura, M., y T. Maruyama. 1971. Pattern of neutral polymorphism in geographically structured population. *Genet. Res.* 18:125-30.
- Klékowski, J.E. 1997. Somatic mutations theory of clonality. En: Kroon, H. y J.V. Groenendael (Eds), *The Ecology and Evolution of clonal plants*, 227-241. Backhuys Publishers. Leiden. The Netherlands.
- Kress, J.W., G.D. Maddox y C. S. Roesel. 1994. Genetic variation and protection priorities in *Ptilimnium nodosum* (Apiaceae), an Endangered plant of the eastern United States. *Cons. Biol.* 8:271-276.
- Kruckerbeg, R.A y D. Rabinowitz. 1985. Biological aspects of endemism in higher plants. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 16:447-479.
- Lande, R. 1988. Genetics and demography in biological conservation. *Science* 241:1455-1460.
- Leberg, L.P. 1992. Effects of population bottlenecks on genetic diversity as measured by allozyme electrophoresis. *Evolution*. 46:477-494.
- Lenay, C. 1994. *La evolución: de la bacteria al hombre*. RBA Editores, S.A. Barcelona, España.
- Levins, R. 1970. Extinction. *Lectures on Mathematics in the life. Science* 2:75-105.
- Lewontin, R.C. 1974. *The genetic basis of evolutionary change*. Columbia University Press. USA.
- Li, C.C. y D.G. Horvitz. 1953. Some methods of estimating the inbreeding coefficient. *Am. J. Human Genetics* 5:107-117.
- Linhart, J.B., J.B. Mitton, K.B. Sturgeon y M.L. Davis. 1981. Genetic variation in space and time in a population of ponderosa pine. *Heredity* 46:407-426.
- Lokker, C., D. Susko, L. Lovett-Doust y J. Lovett-Doust. 1994. Population genetic structure of *Vallisneria americana*, a dioecious clonal macrophyte. *Am. J. Bot.* 81:1004-1012.

- Lonsdale, P. 1989. Geology and tectonic history of the Gulf of California. En Winterer, H.D. Hussong, y W.R. Decker (eds.), The Eastern Pacific ocean and Hawaii: Boulder, Colorado, Geological Society of America, 449-521. The Geology of North America. v.N.
- Loveless, M.D. y J.L. Hamrick. 1984. Ecological determinants of genetic structure in plant populations. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 15:65-95.
- Lowrey, T.K. and D.J. Crawford. 1985. Allozyme divergence and evolution in *Tetramolopium* (Compositae: Asteraceae) on the Hawaiian Islands. *Syst. Bot.* 10:64-72.
- Mandujano, C.M., C. Montaña, M. Franco, J. Golubov y A. Flores-Martínez. (en prensa). Integración de demográfico anual variabilidad in a clonal desert cactus. *Ecology* 2000.
- Mandujano, C.M., C. Montaña, I. Mendez y J. Golubov. 1998. The relative contributions of sexual reproduction and clonal propagation in *Opuntia rastrera* from two habitats in the Chihuahuan Desert. *J. of Ecol.* 86:911-921.
- Manly, B.F.J. 1991. Randomization and Monte Carlo methods in biology. Chapman and Hall, London. 281 pp.
- Mantel, N. 1967. The detection of disease clustering and a generalizad approach. *Cancer Res.* 27:209-220.
- Mendoza, O.E.A. 1994. Demografía e integración clonal en *Reinhardtia gracilis*, una palma tropical. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias. UNAM, México.
- Menken, S.B., E. Smit y H. Den Nijs. 1995. Genetical population structure in plants: gene flow between diploid sexual and triploid asexual dandelions (*Taraxacum* section *Ruderalia*). *Evolution* 9: 1108-1118
- McClintock, K.A. y M.J. Waterway. 1993. Patterns of allozyme variation and clonal diversity in *Carex lasiocarpa* and *C. pellita* (Cyperaceae). *Am. J. Bot.* 80:1251-1263.
- McCommas, S.A. y H.E. Bryant. 1990. Loss of electrophoretic variation in serially bottlenecked populations. *Heredity* 64:315-321.
- Mclellan, J.A., D. Prati, O. Kaltz y B. Schmid. 1997. Structure and analysis of phenotypic and genetic variation in clonal plants. En: Kroon, H. y J.V. Groenendaal (Eds), *The Ecology and Evolution of clonal plants.* 227-241. Backhuys Publishers. Leiden. The Netherlands.
- Miller, M.P. 1997. Tools for Population Genetic Analysis (TFPGA). A windows program for the analysis of allozyme and molecular population genetic data. Software distributed by author
- Mitton, J.B., Y.B. Linhart, J.L. Hamrick y J.S. Beckman. 1977. Observations on the genetic structure and mating system of ponderosa pine in the Colorado front range. *Theor. Appl. Genet.* 51:5-13.
- Mitton, J.B., Y. Linhart, B.K. Sturgeon, and J.L. Hamrick. 1979. Allozyme polymorphisms detected in mature needle tissue of ponderosa pine. *Journal of Heredity* 70:86-89.
- Molina-Freaner, F. y S.K. Jain. 1992. Isozyme variation in Californian and Turkish populations of the colonizing species *Trifolium hirtum*. *J. of Heredity* 83:423-430.
- Morden, C.W., J. Doebley, y K.F. Schertz. 1987. A manual of techniques for starch gel electrophoresis of *Sorghum* isozymes. Texas Agricult. Exper. Station. MP-1635. 10 pp.
- Navarro, Q.R.A. 1999. Estructura genética y procesos de especiación de *Agave cerulata* (Trel.) y *Agave subsimplex* (Trel.) en el desierto Sonorense a partir de RAPD's. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias. UNAM. México, D.F.
- Neel, C. M., J. Clegg y N.C. Ellstrand. 1996. Isozyme variation in *Echinocereus engelmannii* var. *Munzii* (Cactaceae). *Conservation Biology* 10:622-631.
- Nei, M. 1972. Genetic distance between populations. *Am. Nat.* 106:283-292.
- Nei, M. 1977. F-statistics and analysis of gene diversity in subdivided populations. *Ann. Hum. Genet.* 41:225-233.
- Nei, M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics* 89:583-590.
- Niklas, J.K. 1997. *The evolutionary biology of plants.* The Univesity of Chicago Press. Chicago.
- Parker, C.K. 1988. Growth rates of *Stenocereus thurberi* and *Lophocereus schottii* in Southern Arizona. *Bot. Gaz.* 149:335-346.
- Parker, C.K. and J.L. Hamrick. 1992. Genetic diversity and clonal structure in a columnar cactus, *Lophocereus schottii*. *Amer. J. Bot.* 79: 86-96
- Peñalba, M.C. y T.R. Van Devender. 1998. Cambios de vegetación y clima en Baja California, México, durante los últimos 20,000 años. *Geología del Noroeste* 2:21-23.
- Pérez, N.N. 1998. Biología reproductiva y estructura genética de *Psychotria faxlucens* (Rubiaceae) en los Tuxtlas, Veracruz. Tesis de Maestría. Facultad de Ciencias. UNAM, México.

- Pielou, E.C. 1969. An Introduction to Mathematical Ecology. Wiley-Interscience. New York
- Pinkava, J.D., L.A. McGill, T. Reeves y M.G. McLeod. 1977. Chromosome numbers in some cacti of western North American. *Bulletin of the Torrey Botanical Club* 104:105-110.
- Pinkava, J.D., M.A. Baker, B.D. Parfitt, M.W. Mohlenbrock, y R.D. Worthington. 1985. Chromosome numbers in some cacti of Western North America-V. *Syst. Bot.* 10:471-483.
- Pleasants, J.M. y J.F. Wendel. 1989. Genetic diversity in a clonal narrow endemic, *Erythronium propulans*, and in its widespread progenitor, *Erythronium albidum*. *Am. J. of Bot.* 76:1136-1151.
- Polis, G.A. 1991. Desert communities: an overview of patterns and process. En: Polis, G.A. (ed.), *The ecology of Desert communities*, 1-25. The University of Arizona Press, E.E.U.U.
- Primack, B.P. 1980. Phenotypic variation of rare and widespread species of *Plantago*. *Rhodora*. 82:87-103.
- Rabinowitz, D. 1980. Seven forms of rarity. En: H. Synge (ed.). *The biological aspects of rare plants conservation*, 205-218. Wiley, New York.
- Rice, W.P. y E.E. Hoster. 1993. Laboratory experiments on speciation: what have we learned in 40 years?. *Evolution* 47:1637-1653.
- Ridley, M. 1995. *Evolution*. Blackwell Scientific Publications. Boston.
- Ritland, K. 1989. Genetic differentiation, diversity and inbreeding in the mountain monkeyflower (*Mimulus caespitosus*) of the Washington Cascades. *Canadian J. Botany*. 67:2017-2024.
- Rodman, J.E., M.K. Oliver, R.R. Nakamura, J.U. McClammer Jr. Y D.H. Bledsoe. 1984. A Taxonomic analysis and revised classification of *Centrospermae*. *Syst. Bot.* 9:297-323.
- Saitou, N. Y M. Nei. 1977. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution* 4:406-425.
- Sarukhán, J. y M. Gadgil. 1974. Studies on plant demography: *Ranunculus repens* L., *R. acris* L. III. A mathematical model incorporating multiple modes of reproduction. *J. of Ecology*. 62:921-936.
- Schuster, W.S., D.R. Sandquist, S.L. Phillips and J.R. Ehleringer. 1994. High levels of genetic variation in populations of four dominant arid plants species in Arizona. *J. Arid Environments* 27: 159-167
- Silander, J.A. 1985. Microevolution in clonal plants. En J.B.C. Jason, L.W. Buss y R.E: Cook (eds.), *Populations biology an evolution of clonal organisms*, 107-152. Yale, University Press. New Heaven.
- Sipes, D.S. y P.G. Wolf. 1997. *Clonal structure and patterns of allozyme diversity in the rare endemic Cycladenia humilis var. jonesii* (Apocynaceae). *Am. J. Bot.* 84:401-409.
- Slatkin, M. 1985. Gene flow in natural populations. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 16:393-430.
- Slatkin, M. 1987. Gene flow and the geographic structure of natural populations. *Science* 236: 787-792
- Slatkin, M. 1993. Isolation by distance in equilibrium and non-equilibrium populations. *Evolution* 47: 264-279
- Slatkin, M. 1994. Gene flow and population structure. En Real, L. (ed.), *Ecological genetics*. Princeton University Press. Princeton, N.J.
- Sokal, R.R. y F.J. Rohlf. 1995. *Biometry*. 3era. Ed., W.H. Freeman. New York.
- Stubber, C.W., J.F. Wendel, M.M. Goodman and J.S.C. Smith. 1988. Techniques and scoring procedures for starch gel electrophoresis of enzymes from maize (*Zea mays* L.). *Technical bulletin* 286. North Carolina Agricultural Research Service. N.C. State University, Raleigh N.C.
- Swofford, D.L. y R.B. Selander. 1989. BIOSYS-1: a computer program for the analysis of allelic variation in population genetic and biochemical systematics. Release 1.7. Illinois. Natural History Survey, Champaign, Illinois.
- Sytsma, K.J. y A.B. Schaal. 1985. *Genetic variation, differentiation, and evolution in a species complex of tropical shrubs based on isozymatic data*. *Evolution* 39:582-593.
- Templeton, A.R. 1981. Mechanisms of speciation-A population genetic approach. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 12:23-48.
- Turner, R.M., J.E. Bowers and T.L. Burgess. 1995. *Sonoran Desert Plants*. University of Arizona Press. Tucson, Az. USA
- Usberti, A.J. y S.J. Jain. 1978. Variation in *Panicum maximum*: a comparison of sexual and asexual population. *Bot. Gaz.* 139:112-116.
- Van Devender, T.R. 1997. 21,000 Years of vegetation change in the northern Vizcaino, Baja California. Baja California Botanical Symposium (abstracts). San Diego Natural History Museum. USA
- Van Devender, T.R. 1998. *Evolution of the Sonoran desert*. En Vazquez, C.D., M. Ortega y C.A. Yocupicio (eds.), *Symposium internacional sobre la utilización y aprovechamiento de la flora silvestre de zonas aridas*, 195-205. Universidad de Sonora. Hermosillo, México.

- Van Treuren, R., R. Bijlsma, W. Van Delden y N.J. Ouborg. 1991. The significance of genetic erosion in the process of extinction. I. Genetic differentiation in *Salvia pratensis* and *Scabiosa columbaria* in relation to population size. *Heredity*. 66:181-189.
- Wallace, S.R. 1995. Molecular systematic study of the Cactaceae: Using chloroplast DNA variation to elucidate Cactus phylogeny. *Bradleya*. 13:1-12.
- Waller, D.M., D.M. O'Malley, y S.C. Gawler. 1987. Genetic variation in the extreme endemic *Pedicularis furbushiae* (Scrophulariaceae). *Conserv. Biol.* 1:335-340.
- Webb, C.J. y K.S. Bawa. 1983. Pollen dispersal by hummingbird and butterflies: a comparative study of two lowland tropical plants. *Evolution*. 37:1258-1270.
- Weir, B.S. y C.C. Cockerham. 1984. Estimating F-statistic for the analysis of population structure. *Evolution*. 38:1358-1370.
- Weeden, F.N. y F.J. Wendel. 1989. Genetics of plants isozymes. En Soltis, D.E. y P.S. Soltis (eds.), *Izozymes in Plant Biology*, 46-72. Dioscorides Press. Portland.
- Wendel, J.F. y N.F. Weeden. 1989. Visualization and interpretation of plant isozymes. En Soltis, D.E. y P.S. Soltis (eds.), *Izozymes in Plant Biology*, 5-45. Dioscorides Press. Portland.
- Whitman, T.G. y C.N. Slobodchikoff. 1981. Evolution by individuals, plant-herbivore interactions and mosaics of genetic variability: the adaptative significance of somatic mutations in plants. *Oecologia*. 29:287-292.
- Widén, B., N. Croberg y M. Widén. 1994. Genotypic diversity, molecular markers and spatial distribution of genets in clonals plants, a literature survey. *Plant clonality*. En Soukupová, I., C. Marshall, T. Hara y T. Herben (eds.), *Biology and diversity*, 139-157. Opulus Press, Uppsala.
- Workam, P.L. y J.D. Niswander. 1970. Population studies on Southwestern Indian Tribes. II. Local genetic differentiation in the Papago. *Amer. J. Hum. Genet.* 22:24-29.
- Wright, S. 1978. *Evolution and the genetics of populations*, Vol. 4. *Variability within and among populations*. University of Chicago Press. Chicago, IL, USA.

APENDICE 1

Buffer de extracción de Mitton *et al.* (1979)

Para preparar 100 mL de buffer es necesario pesar 0.093 g de dióxido de Germanio y disolverlo en 65 mL de agua destilada, hervirlo hasta que se disuelva y dejar que este se enfríe a temperatura ambiente.

Posteriormente agregar

0.3 g ácido dietildiocarbámico
4.4 g polivinilpirilidone
4.4 g ascorbato de sodio
0.33 g metabisulfito de sodio
1.21g borato de sodio
8.8 ml 0.16M buffer fosfato pH 7.0 *

Finalmente se agrega

8.8ml sulfóxido de dimetil
0.8 ml 1-fenoxietanol
0.18 ml B-Mercaptoetanol

Todo se afora a 100 ml.

*Para preparar 100ml de buffer fosfato pH 7.0 se pesan 2.272 g de fosfato dibásico y se afora a 100 mL.

Recetas utilizadas para preparar los sistemas de buffer:

Sistema 6 (Wendel y Weeden 1989). Correr a 280volts y 60 mA.

Litio-Borato, pH 8.3/ Tris-citrato, pH 8.3

ELECTRODO

0.192 M Acido Bórico (11.87 g) titular a pH 8.3 con hidróxido de Litio (aprox. 1.59 g, con Molaridad aproximada de 0.038 M)

GEL

0.019M Acido Bórico (1.17g)

0.004 M LiOH (0.16 g)

0.047 M Tris (5.69 g)

0.007 M Acido cítrico (1.47); la otra forma de prepararlo es:

Este buffer es preparado utilizando 1 volumen de buffer de electrodo y 9 volúmenes de Tris-Citrato, pH 8.3 (0.052 M Tris- 0.008 M Acido cítrico).

Sistema PP (Mitton *et al.* 1977). Correr a 250 volts y 60 mA.

ELECTRODO

0.031 M Hidróxido de sodio (NaOH) (1.25 g)

0.295 M Acido bórico (18.25 g)

Aforar a un litro con agua destilada. Ajustar el pH a 7.5 con NaOH o con Acido bórico.

GEI

0.015 M Trizma Base (1.8 g)

0.295 M Acido Cítrico (monoh.) (0.7 g)

Aforar a un litro con agua destilada. Ajustar el pH a 7.6 con NaOH o con Acido cítrico.

Sistema D (Stuber *et al.* 1988) modificado. Correr a 250 volts y 60 mA.

L-Histidina-Acido cítrico pH 6.5/L-Histidina-Acido cítrico pH 6.0

ELECTRODO

0.065 M L-Histidina (10.088 g);

0.007 M Acido cítrico.H₂O

(aprox. 1.50 g; pH ajustarlo con Ácido cítrico)

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

GEL

0.0108 M L-Histidina;

0.0012 M Acido cítrico.H₂O

(1:5 dilución del buffer del electrodo en agua destilada)

Recetas de tinción de las isoenzimas montadas

Acida Fosfatasa (APH)

100 ml 0.05mM Acetato de sodio, pH 5.0

75 mg alpha-naphthyl acido fosfato, sal de sodio

80 mg Fast garnet GBC salt

Incubar en la oscuridad a 37°C (cerca de 1 hora) y fijar.

Alcohol dehidrogenasa (ADH)

50 ml 50mM Tris-HCL, pH 8.0

20 mg NAD

1 ml Etanol (95%)

10 mg MTT

2 mg PMS

Incubar en la oscuridad a 37°C (cerca de 1 hora) y fijar.

Diaforasa (DIA)

50 ml 50mM Tris-HCL, pH 8.0

0.5 mg 2,6-dichlorofenol-indofenol

13 mg β-NADH

0.5 ml MTT

Incubar en la oscuridad a 37°C (cerca de 1 hora) y fijar.

Esterasa (EST)

50 ml 100mM Na-fosfato, pH 6.0

35 mg ALPHA-Napthyl acetato

35 mg β-Napthyl acetato

50 mg Fast Garnet GBC

Añadir a los sustratos 1 ml de acetona. Incubar a 37°C (cerca de 30 min.) y fijar.

Fosfoglucosa isomerasa (PGI)

50 ml 0.1M Tris-HCL, pH 8.0

20 mg Fructosa-6-Fosfato

10 U G-6-PDH (NADP)

5 mg NADP

50 mg MgCl₂

5 mg MTT

1.5 mg PMS

Incubar en la oscuridad a 37°C por 30 minutos.

Fosfoglucomutasa (PGM)

50 ml 50mM Tris-HCL, pH 8.5

120 mg Glucosa-1-Fosfato, Na₂-salt

20 U G-6-PDH (NAD)

50 mg MgCl₂

10 mg NAD

10 mg MTT

2 mg PMS

Incubar en la oscuridad a 37°C por 1 hora.

Glucosa-6-fosfato dehidrogenasa (G6PDH)

50 ml 50mM Tris-HCL, pH 8.0

5 mg NADP

50 mg MgCl₂

80 mg Glucosa-6-fosfato, Na₂-salt

10 mg MTT

2 mg PMS

Incubar en la oscuridad a 37°C (cerca de 40 min.) y fijar.

Glutamato dehidrogenasa (GDH)

50 ml 0.1M Tris-HCL, pH 8.5

220 mg Acido L-glutámico

20 mg NAD

10 mg NBT

3 mg PMS

Incubar en la oscuridad a 37°C por 2 horas.

Leucina aminopeptidasa (LAP)

Pesar:

60 mg Fast Black K salt

disolverlo bien en 5 ml de agua destilada justo antes de teñir.

Añadir:

50 ml 0.2 M Tris-maleato pH 5.2

3 ml L-leucina b-naftilamida-HCL 2.5%

Incubar en la oscuridad a 37°C por 30 minutos.

Malato dehidrogenasa (MDH)

50 ml 50mM Tris-HCL, pH 8.5

10 mg NAD

150 mg ácido málico

10 mg MTT

2 mg PMS

Incubar en la oscuridad a 37°C por 30 minutos.

Menadione reductasa (MNR)

75 ml 0.2M Tris-HCL, pH 7.0

25 mg Menadione

25 mg NADH

10 mg NBT

Incubar en la oscuridad a 37°C (cerca de 30 min.) y fijar.

Superoxidaza dismutasa (SOD)

50 ml 50mM Tris-HCL, pH 8.0

2 mg Riboflavina

1 mg EDTA

10 mg NBT

Incubar en la oscuridad a 37°C por 30 minutos (el tiempo puede variar dependiendo de la actividad).

Removerla de la incubación y colocarla ante luz. Lavar y fijar.

APENDICE 2

Frecuencias alélicas de las poblaciones de *S. gummosus*. (N) es el tamaño de la población y RxC es el resultado de la prueba de Fisher. Ver Tabla 1 para la identificación de poblaciones.

Región	BAJA CALIFORNIA						ISLAS			SONORA			RXC
Locus/alelo	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	
ADH-1													
A	0.850	0.824	0.870	0.840	0.880	0.750	0.918	0.820	0.820	0.810	0.640	0.680	P=0.001
B	0.150	0.176	0.130	0.160	0.120	0.250	0.082	0.180	0.180	0.190	0.360	0.320	
APH-2													
A	0.480	0.716	0.810	0.640	0.430	0.830	0.690	0.765	0.620	0.670	0.590	0.650	P=0.001
B	0.520	0.284	0.190	0.360	0.570	0.100	0.310	0.235	0.380	0.330	0.410	0.350	
C	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.070	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	
DIA-1													
A	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	P=0.001
EST-1													
A	0.980	0.824	0.790	0.700	0.870	0.980	0.980	0.408	0.540	0.900	0.780	0.930	P=0.001
B	0.000	0.000	0.000	0.010	0.050	0.000	0.000	0.571	0.000	0.080	0.170	0.020	
C	0.020	0.176	0.210	0.290	0.080	0.020	0.020	0.020	0.460	0.020	0.050	0.050	
GDH-1													
A	0.470	0.637	0.710	0.750	0.670	0.540	0.800	0.663	0.770	0.700	0.790	0.620	P=0.001
B	0.530	0.363	0.290	0.250	0.330	0.460	0.200	0.337	0.230	0.300	0.210	0.380	
G6PH													
A	0.690	0.245	0.750	0.650	0.550	0.570	0.710	0.755	0.810	0.840	0.790	0.710	P=0.001
B	0.310	0.755	0.250	0.350	0.450	0.430	0.290	0.245	0.190	0.160	0.210	0.290	
LAP-1													
A	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	P=0.001
MDH-1													
A	1.000	0.676	0.830	0.850	0.860	0.820	0.890	0.908	0.790	0.850	0.670	0.850	P=0.001
B	0.000	0.010	0.080	0.120	0.100	0.010	0.090	0.031	0.030	0.060	0.040	0.140	
C	0.000	0.314	0.090	0.030	0.040	0.170	0.020	0.061	0.180	0.090	0.290	0.010	
MNR-2													
A	0.900	0.882	0.750	0.850	0.780	0.660	0.370	0.816	0.860	0.740	0.310	0.740	P=0.001
B	0.100	0.118	0.250	0.150	0.220	0.280	0.630	0.184	0.140	0.260	0.690	0.260	
C	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.060	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	
PGI-1													
A	0.800	0.863	0.800	0.900	0.610	0.800	0.750	0.929	0.830	0.790	0.670	0.780	P=0.001
B	0.140	0.137	0.120	0.100	0.290	0.100	0.250	0.071	0.130	0.170	0.290	0.140	
C	0.060	0.000	0.060	0.000	0.060	0.100	0.000	0.000	0.040	0.040	0.040	0.080	
D	0.000	0.000	0.020	0.000	0.040	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	
PGM-1													
A	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.730	0.690	0.440	0.860	P=0.001
B	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.270	0.310	0.560	0.140	
SOD-1	+++++	+++++	+++++	+++++	+++++	+++++	+++++	+++++	+++++	+++++	+++++	+++++	+++++
(N)	50	51	50	50	50	50	50	49	50	50	50	50	X ² =178.3

++++ Mala resolución del loci.

Frecuencias alélicas para las poblaciones de *S. eruca* (N) tamaño de la población. RxC es el resultado de la prueba de Fisher. Ver Tabla 2 para la identificación de poblaciones.

Locus	A	B	C	D	E	F	G	H	RxC
ADH-1									
A	0.808	+++++	+++++	0.760	0.827	0.780	0.795	+++++	P=0.812
B	0.192			0.240	0.173	0.220	0.205		
APH-1									
A	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	
APH-2									
A	0.288	0.380	0.450	0.640	0.357	0.390	0.355	0.257	P=0.001
B	0.712	0.620	0.550	0.360	0.643	0.610	0.645	0.743	
EST-1									
C	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	
G6PDH									
A	0.115	0.730	0.240	0.320	0.244	0.300	0.190	0.214	P=0.001
B	0.885	0.270	0.760	0.680	0.756	0.700	0.810	0.786	
LAP-1									
A	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	
MDH-1									
A	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	
MNR-1									
A	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	
MNR-2									
A	0.365	0.610	0.360	0.440	0.541	0.630	0.750	0.629	P=0.001
B	0.635	0.390	0.640	0.560	0.459	0.370	0.240	0.371	
D	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.010	0.000	
PGI-1									
A	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	
PGM-1									
A	0.788	1.000	0.990	0.630	0.837	0.790	0.880	0.571	P=0.001
B	0.212	0.000	0.010	0.370	0.163	0.210	0.120	0.429	
PGM-2									
A	0.846	0.820	0.750	0.770	0.867	0.910	0.810	1.000	P=0.001
B	0.154	0.180	0.250	0.230	0.133	0.090	0.190	0.000	
SOD-1									
A	1.000	0.940	0.980	1.000	1.000	1.000	1.000	0.943	P=0.001
B	0.000	0.060	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.057	
C	0.000	0.000	0.020	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	
GDH-1	+++++	+++++	+++++	+++++	+++++	+++++	+++++	+++++	+++++
DIA-1	+++++	+++++	+++++	+++++	+++++	+++++	+++++	+++++	+++++
(N)	52	50	50	50	49	50	100	35	X ² =112.72

++ Poblaciones donde no hubo resolución para el locus.