



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE MÉXICO.



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
IZTACALA.

**Análisis de la diversidad y estructura genética
poblacional de *Mammillaria supertexta* Mart. ex
Pfeiff (Cactaceae), especie endémica del Valle de
Tehuacán-Cuicatlán, México.**

TESIS

Para obtener el grado de:
BIÓLOGA.

PRESENTA:
CUEVAS ALDUCIN PATRICIA DIANA.

DIRECTORA DE TESIS:
DRA. SOFÍA SOLÓRZANO LUJANO.
Laboratorio de Bioquímica Molecular.
UBIPRO.

TLALNEPANTLA, EDO. DE MÉXICO. 2013.





Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

AGRADECIMIENTOS ACADEMICOS

A mi directora de tesis Dra. Sofía Solórzano Lujano y a mi jurado conformado por: Dr. Oswaldo Téllez Valdés, Dr. Alejandro Casas Fernández, Dr. Salvador Arias Montes, Dra. Patricia Dávila Aranda por su tiempo, paciencia y compromiso para asesorar mi trabajo.

Esta tesis se financió completamente con recursos del proyecto PAPIIT-DGAPA (IN217208). Al Macroproyecto (SDII-PTID-02) por haber apoyado logísticamente el proyecto. Al proyecto Banco de Semillas FES Iztacala, UNAM-RBGK, por facilitar el permiso de colecta (SGP/DGVS/01833/08) para realizar esta tesis. A las autoridades comunitarias, municipales de las localidades donde se realizó el muestreo por su apoyo.

A la M. en C. Laura Márquez (IB, UNAM), por el apoyo técnico en la electroforesis de las muestras aquí analizadas y las facilidades brindadas durante el trabajo experimental de mi tesis.

A mis compañeros Carlos Vega Castañeda, Laura Pineda Matías, Marisol Ibarra Durán, Héctor Tapia Salcido, Francisco Alberto Rivera Ortiz y Verónica García Gómez, por su apoyo en el trabajo de campo.

AGRADECIMIENTOS PERSONALES

A la Dra. Sofía Solórzano, por su paciencia y dedicación en este proyecto. Por escucharme y darme grandes consejos cuando los necesité. Por la amistad y confianza brindadas a lo largo de este camino.

Al Dr. Oswaldo Téllez, por la oportunidad laboral y por su apoyo.

A mis compañeros y grandes amigos, Freddy, Marisol, Nubia, Laura, Gustavo, Carlos, Rosario, Rebeca, Alan, por acompañarme durante esta gran aventura, por su apoyo incondicional y sobre todo por su gran amistad, los quiero mucho chicos.

A mis compañeros de laboratorio, Héctor, Alberto, Vero, Carlos R., Saúl, Nelly, Aidé, Paola, Fabián y a todos los que comparten el laboratorio de Bioquímica Molecular, por su compañerismo y convivencia diaria.

A mis tíos, primos, abuela y hermano por enseñarme el valor de la familia y por estar apoyándome en todo momento.

A Dios, por darme cada una de las pruebas que tuve que superar durante este tiempo, porque sin ellas no sería la persona en la que me he convertido hoy.

DEDICATORIA

Esta tesis está dedicada especialmente a mis padres, y a mi hermano Roy, que por su amor, comprensión, enseñanzas y apoyo me impulsan para seguir luchando por mis sueños e ideales, a pesar de los obstáculos.

A mi abuelita Sofía, a mis tíos (René, Chelita y Estela) por todos los consejos y apoyo brindado desde siempre, a mis primos (Luis, Miriam, Cesar, Yazmin, Martin e Ivonne) y mis hermosos sobrinos Cesar y Emiliano, que por sus locuras, risas, lágrimas y demás han hecho de mi una mejor persona. Los amo.

A esas personas que ahora son un cachito de cielo, ya que me dejaron grandes lecciones de vida.

Índice.

Resumen	I
Introducción	1
<i>Diversidad Genética y estructura genética poblacional</i>	3
<i>Genética de poblaciones y conservación</i>	5
<i>Marcadores Moleculares</i>	7
Hipótesis	11
Objetivos	11
Área de Estudio	12
Métodos	14
<i>Sistema Biológico</i>	14
<i>Trabajo de campo</i>	16
<i>Trabajo de laboratorio</i>	18
Resultados	21
<i>Análisis poblacional y Estructura de tamaños</i>	21
<i>Diversidad genética</i>	24
<i>Diferenciación genética</i>	25
Discusión	26
<i>Análisis poblacional y Estructura de tamaños</i>	26
<i>Análisis genéticos</i>	29
<i>Estructura genética</i>	30
Conclusiones	33
Referencias	34
Anexo 1	

Resumen.

El Valle de Tehuacán-Cuicatlán es una región del centro de México, reconocida por su alta riqueza de especies de cactáceas. De las 81 especies registradas en esa área, 20 son endémicas. Entre ellas *Mammillaria supertexta*, de la cual se han registrado cinco poblaciones, las cuales se encuentran aisladas geográficamente. Los objetivos de este estudio fueron analizar la diversidad y diferenciación genética de las poblaciones de *M. supertexta*, así como describir su densidad y estructura de tamaños, para contribuir a conocer su estado de conservación. Para los análisis de genética de poblaciones, se colectaron muestras de tejido fresco de 20 individuos en cada una de las cinco poblaciones, de las cuales se aisló el ADN genómico total y se amplificaron con PCR cinco loci de microsatélites, con base en los cuales se analizaron la heterocigosidad esperada y observada, el número de alelos, el índice de endogamia, la diferenciación genética y el flujo génico. Para describir la estructura de tamaños poblacional, se midió el diámetro de 223 individuos en cuatro de las poblaciones. En la quinta población no se obtuvieron datos debido a la fragilidad del risco donde se encontraba. La densidad poblacional, se estimó usando un muestreo dirigido en el que se trazaron cuadros de 1 m² en cuatro poblaciones. El análisis genético mostró que la heterocigosidad observada promedio para la especie fue relativamente alta ($H_o=0.73$) y sin diferenciación poblacional ($R_{ST}=0.113$), además que el flujo génico interpoblacional es alto ($Nm=5.17$). La densidad poblacional promedio fue de 1.42 individuos/m². Las poblaciones estudiadas muestran que 63.8% de las plantas ocupan categorías de tamaño de 3.6 cm a 6.6 cm de diámetro, lo que indica que existe un alto número de individuos adultos potencialmente reproductivos. Actualmente, esta especie no se incluye en alguna categoría de riesgo nacional o internacional, sin embargo, debido a su distribución restringida y a una pérdida y transformación de sus hábitats podría enfrentar una problemática de conservación. Por lo tanto no se descarta realizar estudios futuros y poder implementar un plan de conservación para la especie y sus hábitats.

Introducción.

La familia Cactaceae tiene una riqueza total de aproximadamente 680 especies, las cuales se agrupan en 50 géneros, siendo México el principal centro de diversificación de América y del mundo con 48 géneros y 563 especies (45% del total de las especies de la familia) (Bravo-Hollis y Sánchez-Mejorada, 1978; Arias-Montes, 1993; Dávila-Aranda *et al.*, 1993; Hernández y Godínez, 1994; Arias *et al.*, 1997; Zavala-Huratado, 1997).

Uno de los géneros más diversos de esta familia es el género *Mammillaria*, se distribuye a lo largo del Continente Americano, desde el sureste de Estados Unidos, México, Guatemala, Honduras, Las Antillas, Colombia, el noreste de Brasil y Venezuela. México es el país en el cual se ha registrado la mayor riqueza con aproximadamente 160 especies de este género, de las cuales 150 (94%) son endémicas (Bravo-Hollis y Sánchez-Mejorada, 1978; Andrade-Lima, 1981; Hernández & Godínez, 1994; Arias *et al.*, 1997).

En los últimos años, numerosas especies del género *Mammillaria* han sido afectadas por intensos disturbios en sus áreas de distribución, tales como la fragmentación de su hábitat, cambio de uso de suelo para agricultura y ganadería, saqueo irracional, el comercio y las colecciones ilegales (Arias, *et al.*, 1997). Algunas de estas especies son utilizadas como ornamentales y sus frutos son consumidos por la gente (Arias-Montes, 1993; Arias, *et al.*, 1997; Santiago *et al.*, 2004; Martorell y Peters, 2005; Navarro y Juárez, 2006 y Avendaño, 2007). Estos factores suelen afectar también sus poblaciones, reduciendo el número efectivo poblacional y en la actualidad se incluyen 109 especies del género *mammillaria* en la Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010 en alguna categoría de riesgo (SEMARNAT, 2010).

Mammillaria supertexta, la especie estudiada en esta tesis, es endémica del Valle de Tehuacán-Cuicatlán. Para esta especie, se conocen solo cinco poblaciones que cubren una extensión total de 349.9 km² (Peters y Martorell, 2000). Esta especie es utilizada como ornamental, sus frutos son extraídos para consumo local o para propagación por

semilla. Además, las personas venden esta cactacea a los coleccionistas, naturalistas y horticultores de México, Europa y Asia (López *et al.*, 2003). Actualmente esta especie no se encuentra considerada dentro de alguna categoría de riesgo a nivel nacional o internacional. Sin embargo, durante el trabajo de campo de esta tesis, se observó que sus pocas poblaciones identificadas, se encuentran cerca de caminos de terracería, basureros clandestinos o han sido afectadas por el uso de dinamita para la construcción de puentes, lo que afecta a las poblaciones remanentes, y podría ocasionar grandes impactos negativos a corto plazo.

En un estudio realizado con *M. supertexta*, en el territorio de la comunidad de Quiotepec, Oaxaca, Avendaño (2007), documentó que sus individuos se distribuyen de manera agregada. Midió la tasa de germinación, sobrevivencia y fecundidad. Observó que las semillas son fotoblásticas positivas y que la especie tiene una supervivencia mayor conforme a que los individuos llegan a la etapa adulta. Los individuos se clasificaron en cinco categorías de tamaño, las cuales se eligieron tomando en cuenta la altura de los individuos, obteniendo 17.44% juveniles (0.4 a 2.5 cm) y 82.51% adultos potencialmente reproductivos (2.6 a >9.1 cm). Por último, reportó que la población analizada tiende al crecimiento ($\lambda = 1.88$). Sin embargo, menciona que, una medida para proteger a esta especie sería la protección de los individuos juveniles y adultos a través de la conservación del área donde habitan, así como la necesidad de efectuar estudios complementarios que permitan tener más bases para un buen manejo.

Diversidad genética y diferenciación genética poblacional.

Se ha definido como diversidad genética la variación de alelos y genotipos presentes en una población, y esta puede verse reflejada en diferencias morfológicas, fisiológicas y de comportamiento entre individuos y poblaciones (Toro y Caballero, 2005). La diversidad genética, es la materia prima de la cual dependen la adaptación y la evolución (Amos y Harwood, 1998). Desde el punto de vista funcional, la diversidad genética se puede clasificar como neutral, deletérea o adaptativa (Hartl y Clarck, 2001).

La cantidad y el tipo de variación genética en una población es afectada por una serie de procesos, como las mutaciones, la selección natural, el flujo génico, la deriva génica

y la endogamia (Amos y Harwood, 1998; Hartl & Clark, 2007). Una población a través de las generaciones puede acumular paulatinamente caracteres nuevos por mutaciones, mientras que la pérdida de los caracteres será determinado por la deriva génica y por lo tanto su efecto será inversamente proporcional al tamaño efectivo poblacional (Nei, 1966; Charlesworth y Charlesworth, 1997; Dobzhansky, 2003). Es decir, las poblaciones ancestrales que tengan un tamaño efectivo poblacional alto, acumularán una ganancia de caracteres mayor que aquellas con un tamaño efectivo poblacional pequeño, en las cuales habría una mayor pérdida por deriva génica (Charlesworth y Charlesworth, 1997; Allendorf y Gordon, 2007).

La selección natural es la fuerza evolutiva de gran importancia (Hartl & Clark, 2007). En la actualidad existen tres hipótesis de la selección natural: i) en todas las especies se produce más descendencia que puede sobrevivir y reproducirse; ii) los organismos difieren en su capacidad para sobrevivir y reproducirse (debido a las diferencias en el genotipo); iii) los genotipos de una generación promueven la supervivencia en el medio ambiente actual, cada vez que, tienen mayor probabilidad de alcanzar la edad reproductiva, pasando más copias de sus genes a las siguientes generaciones (Hartl & Clark, 2007). Por tanto, la selección natural es un proceso que puede diferenciar u homogeneizar poblaciones, a partir de su capacidad de producir progenie (Goodenough, 1981; Futuyma, 2003).

El flujo génico es el movimiento de individuos entre poblaciones que se traduce en el intercambio genético (Hartl & Clark, 2007). En otras palabras el flujo génico distribuye alelos entre poblaciones, lo que ocurre debido a la reproducción de los individuos o por la dispersión de semillas y polen. Sin embargo, el grado de desplazamiento de los alelos puede estar afectado por la distancia geográfica. A pesar de ello el aislamiento geográfico no garantiza el aislamiento reproductivo, ya sea dentro o entre las poblaciones. Otros factores que pueden modificar la manera en la que el flujo génico distribuye los alelos entre las poblaciones de plantas pueden ser las barreras o restricciones de migración, diferencias regionales en la fenología y temporadas de polinización, así como los mecanismos de dispersión del polen y las semillas (Ellstrand y Elam, 1993; Jarvis *et al.*, 2005).

La deriva génica, es la variación al azar en las frecuencias alélicas (Norman *et al.*, 1993; Hartl & Clark, 2007). En las poblaciones con un tamaño efectivo alto, los cambios en la frecuencia alélica por deriva génica son relativamente pequeños. En cambio, en las poblaciones pequeñas, las frecuencias alélicas pueden tener cambios más notorios e impredecibles (Norman *et al.*, 1993).

La endogamia es un proceso genético que involucra el apareamiento entre individuos que están relacionados entre sí (endogamia biparental) o consigo mismos (endogamia uniparental) (Hartl y Clark, 2007). Se sabe que la endogamia incrementa los niveles de homocigosis en una población; cuanto más consanguíneos sean los apareamientos, más rápidamente se perderá la heterocigosidad (Eguiarte, 1995). En las plantas la endogamia se presenta comúnmente en dos sentidos: 1) A través de la autofecundación y 2) a través de la endogamia biparental (Barrett y Kohn, 1991). En muchas poblaciones de plantas y animales, existe el apareamiento entre hermanos, por definición dichos individuos comparten uno o más ancestros comunes (Eguiarte, 1995; Hartl y Clark, 2007). Sin embargo, en otros casos las plantas presentan una reproducción exclusiva por autofecundación (forma más extrema de la endogamia) aparentemente sin ninguna pérdida en su vigor, lo que probablemente es el resultado de una larga historia de selección que ha eliminado una buena parte de los alelos deletéreos de la especie (Barrett y Kohn, 1991; Frankham, 2003).

La diferenciación génica es la distribución no aleatoria de alelos o genotipos en tiempo y espacio de las especies y poblaciones (Jarvis *et al.*, 2005). La diferenciación génica está determinada por la interacción entre los procesos de selección, flujo génico, mutación y deriva génica y la variación de estas fuerzas resulta en patrones característicos en la distribución de las especies (Jarvis *et al.*, 2005).

Genética de poblaciones y conservación.

Existen efectos directos sobre la diversidad genética en las poblaciones de plantas, debido a la fragmentación de su hábitat, ya que incrementa significativamente el peligro de extinción en las poblaciones, aumenta la deriva génica, la endogamia y como consecuencia se reduce el flujo génico y se crean poblaciones pequeñas, discretas y aisladas. Así mismo, se disminuye la capacidad de las poblaciones de

evolucionar en respuesta a los cambios ambientales; es decir, conduce a una reducción del tamaño efectivo poblacional (N_e) (Crawley, 1997; Young y Clarke, 2000; Frankham, 2003; Picó *et al.*, 2005; Aguilar *et al.*, 2008). Por lo tanto, uno de los objetivos de la genética de la conservación es el estudio de las especies raras* o con un alto grado de perturbación de su hábitat y principalmente la reproducción de éstas. Por lo que, se debe utilizar la información genética de una manera adecuada y de forma alternativa, se pueden considerar estudios que combinen datos genéticos y demográficos (Petit *et al.*, 1998; Young y Clarke, 2000; Picó *et al.*, 2005).

Actualmente, las investigaciones del género *Mammillaria*, se han dirigido principalmente al análisis de los procesos demográficos de las poblaciones, en los cuáles se evalúa especialmente la reproducción y dinámica poblacional (e.g. Valverde & Contreras, 2002, Zavala-Hurtado *et al.*, 2003), la estructura de tamaños (e.g. Valverde *et al.*, 2006), la densidad poblacional (e.g. Navarro y Juárez, 2006) y el grado de perturbación de sus hábitats (e.g. Martorell *et al.*, 2009).

Recientemente, se incrementó el interés en la evaluación de las consecuencias genéticas de la fragmentación del hábitat en plantas (Aguilar *et al.*, 2008). A pesar de ello, los estudios relacionados con aspectos de variabilidad y diferenciación genética sobre el género *Mammillaria* y de la familia Cactaceae, en general son escasos, por lo que existe poca información relacionada con el género en nuestro país. Por ejemplo, algunos estudios demográficos y genéticos en mamilarias similares a *M. supertexta* en cuanto a su taxonomía, forma de crecimiento y hábitat (e.g. Valverde *et al.*, 2002; Valverde *et al.*, 2006; Solórzano *et al.*, 2009; Ibarra-Suárez, 2009; Tapia-Salcido, 2011) han documentado tendencias a la disminución en la densidad poblacional y aumento en la diferenciación genética entre sus poblaciones. Este hecho está asociado a la presencia de barreras de aislamiento geográfico entre las poblaciones de dichas especies.

*Las especies se consideran como raras debido a que presentan un área de distribución restringida y tamaños poblacionales pequeños (Peters y Martorell 2001).

El presente estudio es la primera contribución en el estudio de genética de poblaciones de la especie *Mammillaria supertexta*, por lo que es de gran interés conocer el estado de conservación en el que se encuentran las poblaciones de esta especie, ya que son muchos los procesos que determinan la dinámica de sus poblaciones entre ellos los demográficos (variabilidad ambiental, densidad poblacional, etc.) y los genéticos (variabilidad genética de los individuos, deriva génica y/o endogamia). Entender los efectos de esos procesos sobre la tasa de cambio poblacional es básico para diseñar planes de conservación efectivos que reduzcan la probabilidad de extinción en un futuro. Ya que la fragmentación reduce el número de individuos por población y aumenta el grado de aislamiento entre poblaciones (Becerra y Paredes, 2000; Picó *et al.*, 2005).

Marcadores Moleculares

Para medir los patrones y niveles de variación poblacional, podemos utilizar distintos marcadores, como los morfológicos y moleculares (Maruchi *et al.*, 2009). Los primeros, se basan en la morfología de la planta, los cuales permiten realizar una primera observación de sus atributos principales para medir las diferencias entre las características que se están analizando. Estos marcadores fueron los primeros utilizados en los estudios de biología poblacional de plantas. Sin embargo, estos marcadores tienen limitaciones ya que solo presentan un locus y caracteres, tales como las tasas de crecimiento o reproducción y están afectados fuertemente por el ambiente (Rallo *et al.*, 2002).

Los métodos citogenéticos, bioquímicos y moleculares, permiten analizar las diferencias entre los cromosomas, las proteínas o el ADN de las plantas respectivamente (Maruchi *et al.*, 2009) y en ocasiones pueden utilizarse para complementar los estudios realizados con los marcadores morfológicos, con el fin de acelerar los programas de conservación (Persson, 2001). Por ello, un marcador molecular se ha definido como un segmento particular de ADN, representado en diferentes regiones del genoma. Además para que esta región sea considerada como un buen marcador hay que tomar en cuenta los siguientes criterios: 1) deben ser polimórficos y distribuidos a lo largo de todo el genoma, 2) deben tener una resolución

adecuada por diferencias genéticas, 3) deben ser marcadores múltiples, independientes y fiables, 4) deben ser sencillos, rápidos y de bajo costo, 5) requieran cantidades pequeñas de tejido y ADN y 6) no requieren información previa sobre el genoma de un organismo (Agarwal *et al.*, 2008).

La genética apoyada en los marcadores moleculares se integra a varios programas de investigación y tienen un papel importante para mejorar la conservación de plantas (Oliveira *et al.*, 2008). Estos marcadores tienen distintas aplicaciones como son el mapeo y marcaje de genes, los estudios de diversidad genética, las relaciones entre y dentro de las diferentes especies y la distribución de esa diversidad entre regiones geográficas (Maruchi *et al.*, 2009).

Para efectuar los estudios utilizando los distintos marcadores moleculares, ha sido de gran importancia el desarrollo de la técnica de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) por Mullis (1986). Esta es una reacción enzimática catalizada por una ADN polimerasa, que permite la amplificación *in vitro* de grandes cantidades de una región particular de ADN, a partir de una pequeña cantidad original de ADN molde (Aranguren *et al.*, 2005).

El uso de marcadores moleculares se ha incrementado significativamente durante los últimos 30 años con la finalidad de describir la diversidad genética entre y dentro de las poblaciones de distintos taxa (Cuadro 1; Hamrick *et al.*, 2002).

Cuadro 1. Principales tipos de marcadores de ADN (Aranguren *et al.*, 2005).

Tipo de marcador	Acrónimo	Nombre común	Requiere	Principal uso
Polimorfismo de base única	SNP's		ADN clonado, secuencias, etc	Mapas de ligamiento
Polimorfismo de longitud de fragmentos de restricción	RFLP		ADN clonado usualmente	Mapas de ligamiento
Secuencias repetidas cortas	SSR	Microsatélites	ADN clonado y secuencias	Mapas de ligamiento
Secuencias de sitios marcados	STS		Secuencias de ADN	Mapas físicos
Secuencias expresadas marcadas	EST	Subset de STS	Secuencias de ADNc	Mapeos físicos y de ligamiento
Polimorfismo amplificado aleatoriamente	RAPD	DAF, AP-PCR	Oligos aleatorios	Fingerprinting
Secuencias de número y tamaño variable	VNTR	Minisatélites	Secuencias repetitivas y pruebas de hibridación	Fingerprinting
Polimorfismo de longitud de fragmentos amplificados	AFLP		Set de oligos diseñados y específicos	Mapas de ligamiento

Modificado de Dodgson *et al.*, 1997

En particular los microsatélites, también conocidos como secuencias simples repetidas (SSRs), son fragmentos de ADN de diferentes tamaños, revelados por métodos electroforéticos. Generalmente consisten en dinucleótidos (AC)_n, (AG)_n, (AT)_n; trinucleótidos (TCT)_n, (TTG)_n; tetranucleótidos (TATG)_n, donde n es el número de unidades repetidas dentro de un locus de microsatélite. Estas secuencias son muy abundantes en el genoma y pueden identificar altos niveles de variabilidad de polimorfismos (Estoup *et al.*, 2002; Argarwal *et al.*, 2008). Uno de los atributos más importantes de los loci de microsatélites es su alto nivel de diversidad alélica. Además son co-dominantes y pueden ayudar a la estimación de la diferenciación y de la endogamia de alguna población, lo que les confiere un alto valor como marcador genético (Ferraris *et al.*, 1996; McCouch *et al.*, 1997; Aranguren *et al.*, 2005; Chistiakov *et al.*, 2006; Agarwal *et al.*, 2008).

Los estudios genéticos en cactáceas han sido llevados a cabo principalmente con el uso de aloenzimas, que identifica y cuantifica la variación de loci enzimáticos. Se sabe que de los aproximadamente 97 géneros y 1400 especies de cactáceas (Mabberley, 1997), solo 11 géneros y 13 especies se han estudiado por aloenzimas (en el cuadro 2 se muestran algunos ejemplos; Hamrick, *et al.*, 2002). Sin embargo, en los últimos años,

se han utilizado los microsatélites en cactáceas para realizar estudios de diversidad genética y diferenciación génica (Cuadro 2).

Cuadro 2. Estudios en cactáceas con marcadores moleculares, mostrando los valores de diversidad genética, heterocigosidad observada (H_o), heterocigosidad esperada (H_e), índice de endogamia (F_{IS}) y número de alelos (N_A); así como los valores de diferenciación genética (G_{ST} , F_{ST} y R_{ST}) y flujo génico (N_m).

Especie	Tipo de Crecimiento	Marcador molecular	H_o	H_e	F_{IS}	N_A	R_{ST} , G_{ST} y/o F_{ST}	N_m	Fuente
<i>Carnegieia gigantea</i>	Columnar	Isoenzimas	0.110	0.116	0.057	2.79	0.075	----	Hamrick <i>et al.</i> , 2002
<i>Cereus repandus</i>	Columnar	Isoenzimas	0.179	0.205	0.182	3.69	0.126	----	Hamrick <i>et al.</i> , 2002
<i>Lophocereus schottii</i>	Columnar	Isoenzimas	0.142	0.144	-0.003	3.00	0.242	----	Hamrick <i>et al.</i> , 2002
<i>Melocactus curvispinus</i>	Columnar	Isoenzimas	0.067	0.098	0.377	3.82	0.189	----	Hamrick <i>et al.</i> , 2002
<i>Stenocereus griseus</i>	Columnar	Isoenzimas	0.145	0.161	0.145	3.50	0.092	----	Hamrick <i>et al.</i> , 2002
<i>Stenocereus pruinosus</i>	Columnar	Microsatélites	0.616	0.724	----	5.417	0.184	59.44	Parra <i>et al.</i> , 2010
<i>Polaskia chichipe</i>	Columnar	Microsatélites	0.631	0.683	0.071	----	0.12	----	Otero-Arnaiz <i>et al.</i> , 2005
<i>Astrophytum asterias</i>	Globosa	Microsatélites	0.598	0.632	----	8.5	----	----	Terry <i>et al.</i> , 2006.
<i>Echinocactus grusonii</i>	Globosa	Microsatélites	0.527	0.513	----	3.33	----	----	Hardesty <i>et al.</i> , 2008.
<i>Ariocarpus bravoanus</i>	Subglobosa	Microsatélites	0.574	0.511	----	5.6	----	----	Hughes <i>et al.</i> , 2008.
<i>Mammillaria crucigera</i>	Globosa	Microsatélites	0.31	0.76	0.605	8.8	----	----	Solórzano <i>et al.</i> , 2009.
<i>Mammillaria crucigera</i>	Globosa	Microsatélites	0.373	0.555	0.743	4.33	0.591	0.173	Ibarra-Suárez, 2009.
<i>Mammillaria napina</i>	Globosa	Microsatélites	0.582	0.722	0.331	----	0.091	2.934	Tapia-Salcido, 2011.
<i>Mammillaria sphaelata</i>	Globosa	Microsatélites	0.677	0.699	0.105	----	0.103	4.787	Tapia-Salcido, 2011.

Hipótesis.

Actualmente, *Mamillaria supertexta* presenta un patrón de distribución discontinuo que aísla geográficamente a las poblaciones por lo que se esperaría un flujo génico bajo y por lo tanto una alta diferenciación genética poblacional. Por otro lado, la fragmentación y distribución de sus hábitats podría causar una disminución de sus tamaños poblacionales por tanto se espera una baja diversidad genética debido a que la endogamia y la deriva génica son altos.

Objetivo General.

- ❖ Contribuir al conocimiento del estado de conservación de *Mamillaria supertexta* a partir del análisis genético y ecológico poblacional

Objetivo particular.

- ❖ Estimar la diversidad y diferenciación genética poblacional, con la finalidad de inferir los procesos y factores ecológicos que los determinan.

Área de Estudio.

El Valle de Tehuacán-Cuicatlán, se localiza en los límites del sureste de Puebla y norte de Oaxaca (Fig. 1). La superficie que cubre es de 10,000 km², y su altitud varía de los 600 a los 2,950 msnm. El clima del VTC se clasifica como semi-árido (BS1h), de acuerdo con la clasificación de Köpen. La región presenta una temperatura de 21 °C y una precipitación media anual de 380 mm y se presenta principalmente de mayo a octubre, con mayores posibilidades de precipitación de junio a septiembre (Zavala-Hurtado *et al.*, 2003; Parks Watch, 2004).

En este valle, los suelos son calcáreos, superficiales y pedregosos con alto contenido de materia orgánica. La vegetación dominante es matorral xerófilo, dominado por agaves, arbustos y cactus (Dávila-Aranda *et al.*, 1993).

El Valle de Tehuacán-Cuicatán, es una zona de alta biodiversidad florística, en donde destacan las comunidades xéricas. En la zona se encuentran 81 especies de cactáceas que representan el cinco por ciento de las especies existentes a escala mundial (Arias *et al.*, 1997). El grado de endemismo es alto, con 20 especies (25%) exclusivas del valle (Arias *et al.*, 1997) y es más notable dentro del género *Mammillaria*, con 22 especies (40%) (Dávila-Aranda *et al.*, 1993; Arias *et al.*, 1997; Peters *et al.*, 2008). Además, en la región de Tehuacán se presentan más del diez por ciento de las especies del género *Mammillaria* del mundo (Peters y Martorell, 2000).

Dentro de este valle se ubican las cinco poblaciones estudiadas: Quiotepec, Quiotepec-Puente, Comulco, La Escoba y Santa Lucía (Fig.1). Se encuentran en una altitud que varía entre los 550 msnm (Quiotepec) hasta los 2306 msnm (Santa Lucía). El tipo de suelo que se encuentra en estas poblaciones es calizo y el tipo de vegetación es matorral xerófilo con dominancia de cactáceas columnares (Valiente-Banuet, 2010).

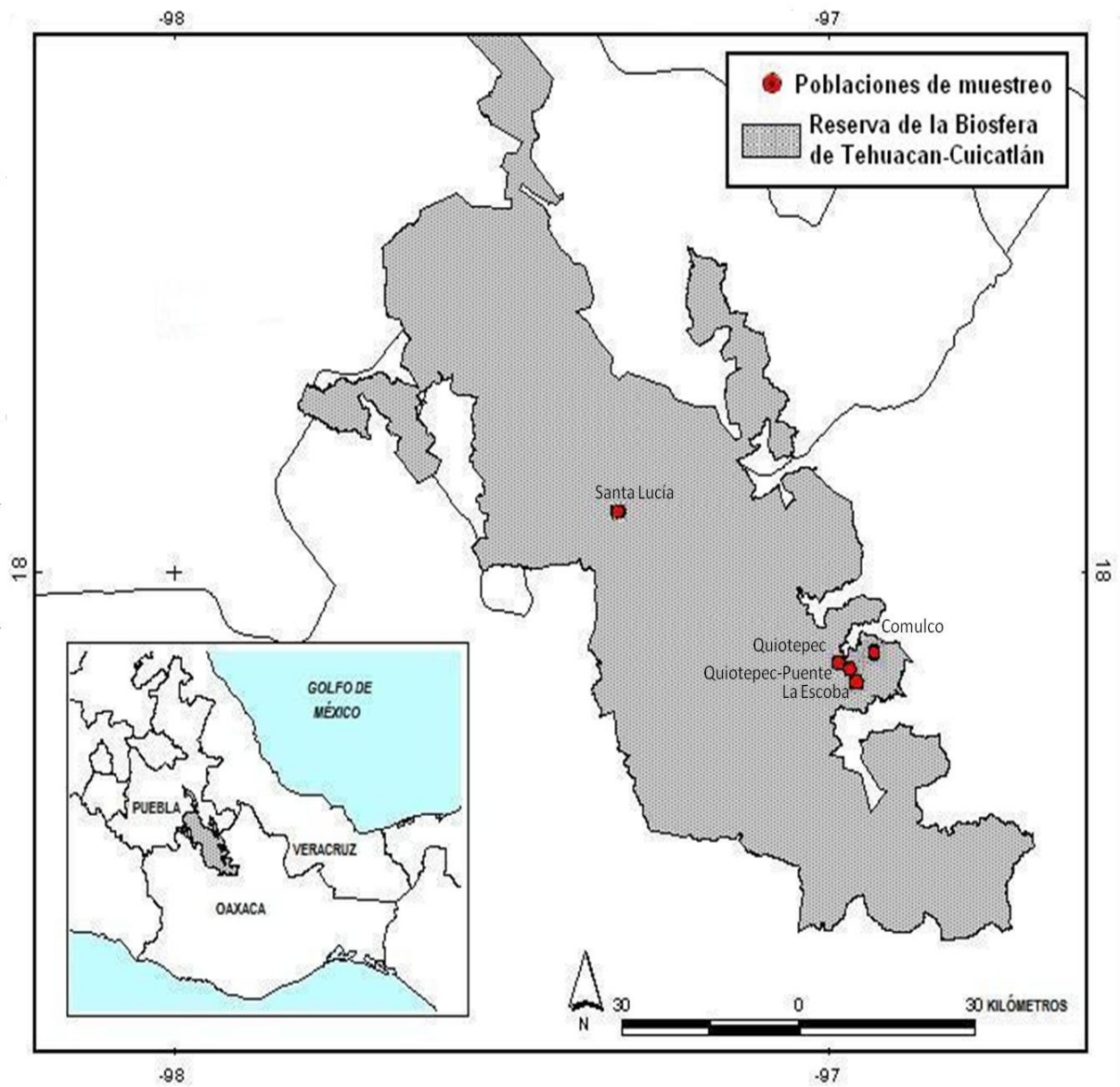


Figura 1: Ubicación de las poblaciones muestreadas de *M. supertexta* en la Reserva de la Biosfera Tehuacán-Cuicatlán (Mapa realizado por: Pineda L.).

Métodos.

Sistema Biológico.

Mammillaria supertexta Mart. ex Pfeiff, es una cactácea endémica del VTC. La distribución conocida de ésta cactacea, es entre los estados de Puebla y Oaxaca (Bravo-Hollis *et al.*, 1991). Esta especie, presenta un tallo globoso o cortamente cilíndrico, aproximadamente de 16 cm de altura por 6 a 7 cm de diámetro. Presenta axilas con lana blanca y caduca (Fig. 2). Este cactus tiene tubérculos redondeados de color verde. Las espinas son radiales (16-18) y setosas, siendo las laterales más largas, rígidas y blancas. Por su parte, las espinas centrales (2) son cortas, rígidas, algo aplanadas, blancas en la parte basal, de color castaño hacia arriba y con las puntas negras. Sus flores son de 12 mm de longitud aproximadamente. Estas presentan una forma campanulada y son de color rojo-púrpura. Los frutos son claviformes de color rojo claro y miden entre 1.1 y 1.5 cm de largo por 2.8 a 3.6 mm de ancho. Sus semillas son negras, miden entre 0.7 y 0.8 mm, son reniformes, tiene una testa foveolada y sus paredes celulares ligeramente sinuosas. Este cactus habita en el bosque tropical caducifolio, sobre suelo calizo, en elevaciones de 600 a 1000 m. El tiempo de floración para este cactus se presenta de enero a mayo (Fig. 3) (Anderson, 2001; Bravo-Hollis *et al.*, 1991; Arias *et al.*, 1997).



Figura 2. *Mammillaria supertexta* con crecimiento clonal (Foto: Diana Cuevas).



Figura 3. Individuo adulto de *Mammillaria supertexta* con botones florales (Foto: Diana Cuevas).

Trabajo de Campo.

Densidad poblacional y estructura de tamaños

Para estimar la densidad poblacional, se trazaron como mínimo veinte cuadros de 1 m² a través de un muestreo dirigido. Se midió el diámetro de cada uno de los individuos (con crecimiento clonal o solitario) encontrados en cada cuadro. Estos datos no se tomaron en la población de Quiotepec-Puente, debido a la inestabilidad del sitio por la pendiente y la fragilidad del risco en donde se encontraban los individuos de *M. supertexta*.

Colecta de muestras para análisis genético

Se colectaron muestras de tejido fresco vegetal de por lo menos 20 individuos en cada una de las poblaciones. Cada muestra se guardó en bolsas de plástico y se etiquetó con los siguientes datos: nombre de la localidad, fecha de colecta, especie y número de individuo colectado. Una vez etiquetadas todas las muestras, se empaquetaron y se colocaron en un recipiente con nitrógeno líquido para su posterior traslado y análisis en el laboratorio.

Trabajo de Laboratorio

Densidad poblacional y estructura de tamaños

Para la estimar la densidad poblacional, se realizó el conteo en campo de todos los individuos encontrados por m². Para describir la estructura de tamaños, se identificaron distintas clases de tamaño. Finalmente se aplicó una prueba de ji cuadrada (χ^2) para conocer los valores esperados en cuanto al tamaño de los individuos (Chernoff, 1954; Plackett, 1983).

Análisis genético

Se empleó el “kit” de reactivos DNA easy plant minikit (QIAGEN), siguiendo las especificaciones del fabricante para realizar la extracción total de ADN de cada individuo.

El ADN aislado se visualizó en geles de agarosa al 0.8%, teñidos con bromuro de etidio y luz UV en el Multimage™ light cabinet (Alpha Innotech Corporation). Los fragmentos de ADN se amplificaron mediante la técnica de PCR y los loci de microsatélite diseñados para *M. crucigera* (Solórzano *et al.*, 2009).

Se analizaron cinco loci microsatélite (MamVTC2, MamVTC8, MamVTC10, MamVTC12 y MamVTC14). Las condiciones de PCR fueron 94°C de desnaturalización inicial durante 5 minutos, seguido de 34 ciclos que incluyeron 10 segundos a 94°C de desnaturalización, 10 segundos de alineamiento con temperaturas de 54°C a 60°C, dependiendo de cada locus, y 10 segundos a 72°C de extensión, finalizando con 5 minutos a 72°C con la extensión final, en un termociclador Mastercycler personal (Eppendorf).

Los productos de PCR se visualizaron en geles de agarosa al 1.2% teñidos con bromuro de etidio y luz UV en el Multimage™ light cabinet (Alpha Innotech Corporation). Los loci utilizados se marcaron en su extremo 5' con flourocromos NED o HEX (Cuadro 3). La electroforesis de los productos de PCR se realizó con el secuenciador ABI 3100 y

para la identificación de los loci polimórficos, así como la estimación de su tamaño se utilizó el programa Peak Scanner (Applied Biosystems).

Cuadro 3. Lista de los loci, secuencias F y R, incluyendo el flourocromo (NED o FAM) temperatura de alineamiento y el tamaño de los fragmentos de amplificación para *M. supertexta*.

NOMBRE DEL LOCUS	SECUENCIA 5'-3'	TEMP (°C)	GRADIENTE DE TAMAÑO (PB),
MamVTC2	F-FAM TCTCACTGCCCGTTTTCTCT R: ACGGTGATGGTGGGTGTTAT	59	170-191
MamVTC8	F- FAM TCGATTATCTGCTGCTTCCA R: CCGAGAAAGCCCTAAAACCT	60	170-187
MamVTC10	F-NED CATTCTAGACATCATATCGCTCT R: TGAGACTCCACTCTATTTCTCT	56	150-177
MamVTC12	F-NED TGGGGAATGGGCTATGATTA R: CTCAGTGCCCCCTTGAAT	58	222-236
MamVTC14	F-NED TTTGATTGGGAAGTGCAGTG R: TCTCACTCTGACGCTTGAA	60	146

Posteriormente, se realizó el análisis estadístico de los datos con el programa Arlequín 3.1 (Excoffier *et al.*, 2006). Para la diversidad genética se calculó la diversidad alélica (N_A), el índice de endogamia (F_{IS}) y la heterocigosidad, la cual la podemos estudiar como hetericigosidad observada (H_O), que se define como la frecuencia relativa de individuos heterocigotos observados en la muestra para cualquier loci (Hedrick, 2000) y heterocigosidad esperada (H_e), la cual, desde el punto de vista matemático, es la probabilidad de que dos alelos tomados al azar de la población sean diferentes (Crow y Kimura, 1970) (Anexo 1).

También se estimó el flujo génico (N_m), la diferenciación genética (R_{ST}) y finalmente se realizó un AMOVA, para estimar su diferenciación genética poblacional de *M. supertexta* (Anexo 1).

Resultados.

Análisis Poblacional y Estructura de Tamaños

La densidad promedio para *M. supertexta* fue de 1.42 individuos/m². La mayor densidad se encontró en la población de La Escoba con 1.53 individuos/m², seguida de Santa Lucía (1.44 individuos/m²), Comulco (1.37 individuos/m²) y Quiotepec (1.32 individuos/m²) (F=0.32, $\alpha=0.05$).

Los datos demográficos de las cuatro poblaciones analizadas, muestran que el 54.82% presenta 1 individuo/m², el 8.33% presenta 2 individuos/m² y el 6.14% presenta 3 ó más individuos/m² (Fig. 4).

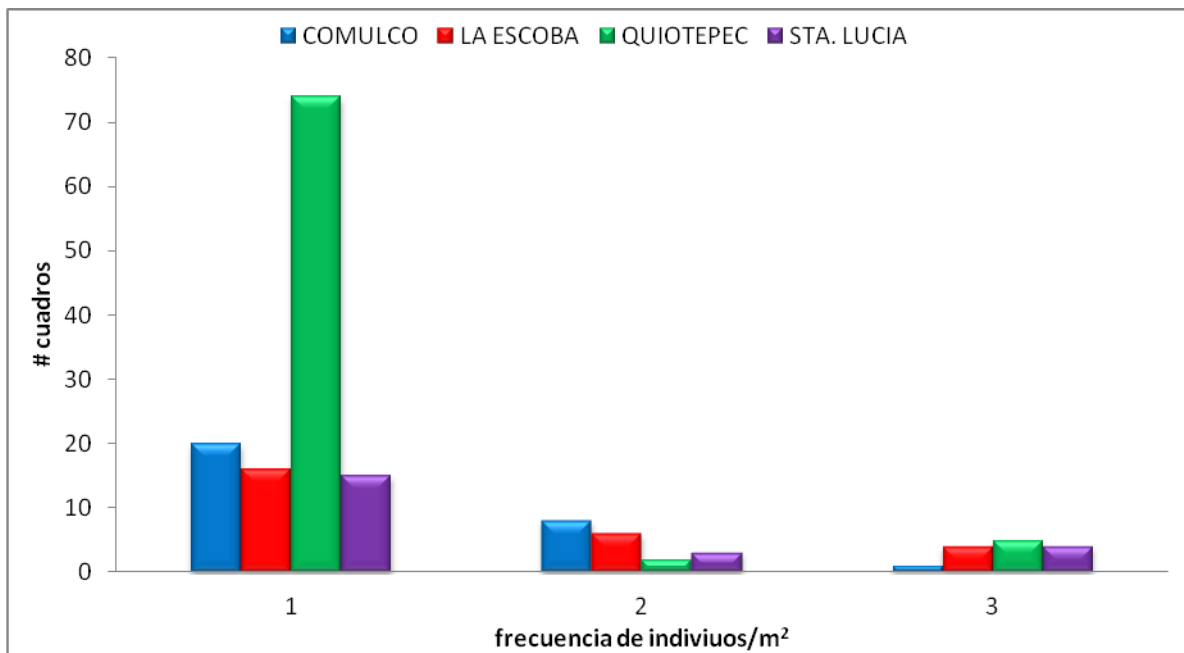


Figura 4. Frecuencia de los individuos encontrados por m² en de las poblaciones analizadas de *M. supertexta*.

En cuanto a la distribución de los diámetros de los individuos en clases de tamaños se observa que, el 63.8% de los individuos presentaron un diámetro entre 3.6 cm a 6.0 cm en las cuatro poblaciones analizadas (Fig. 5). La prueba de X² muestra que los valores

observados y esperados son similares en las poblaciones de La Escoba, Comulco y Quiotepec. La población de Santa Lucía muestra una diferencia significativa en comparación con el resto de las poblaciones analizadas ($\chi^2=7.815$, $\alpha=0.05$, $\mu=3$. Figura 6).

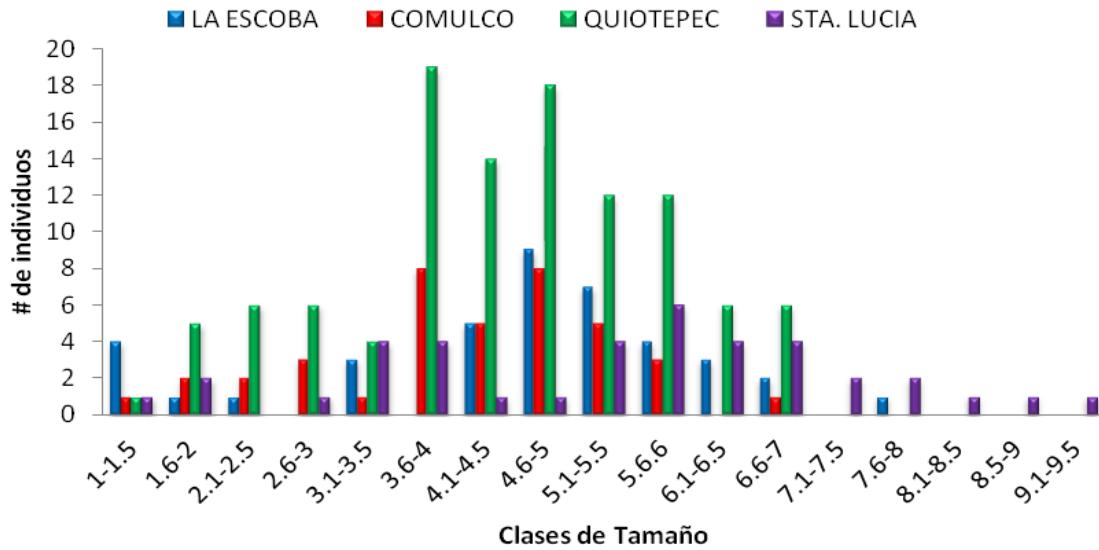


Figura 5. Promedio de las Clases de tamaño en *Mammillaria supertexta*, de las cuatro poblaciones de estudio.

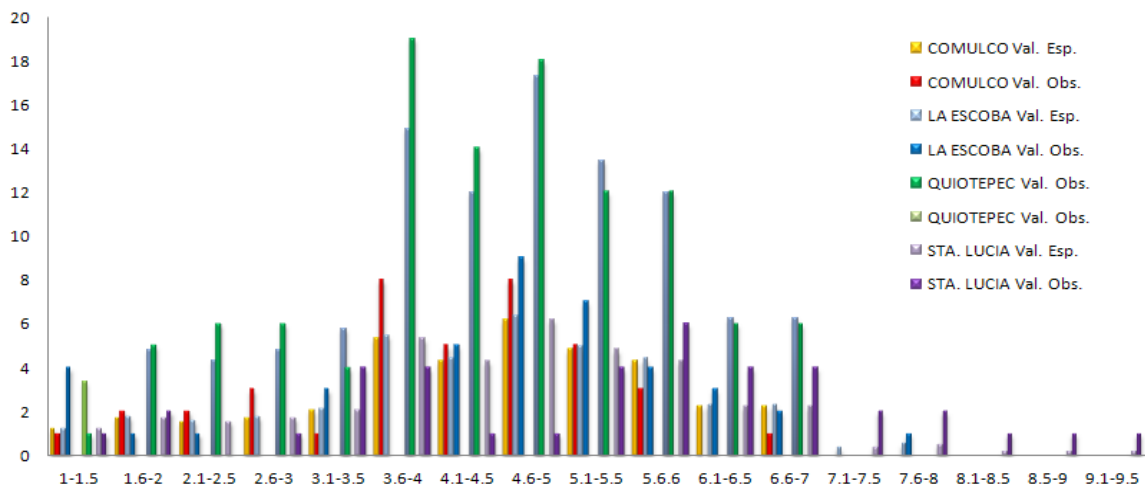


Figura 6. Comparación del número esperado y observado en los individuos en cada categoría de diámetro (cm) en las cuatro poblaciones de estudio.

Diversidad genética

De los cinco loci de microsatélites ensayados sólo cuatro resultaron polimórficos (Cuadro 3). La heterocigosidad observada de *M. supertexta* fue alta con un promedio de $H_o = 0.73$, para los cuatro loci analizados en las cinco poblaciones de estudio. Se observa que el índice de endogamia es relativamente bajo con un promedio de $F_{IS} = 0.080$, por lo que se puede sugerir que hay un equilibrio entre los individuos homocigos y los heterocigos. En cuanto a la diversidad alélica, se obtuvo un promedio de ocho para la especie.

Entre las poblaciones, la heterocigosidad observada fue de moderada a alta. La población de La Escoba tuvo el mayor valor de heterocigosidad. No obstante las poblaciones de Quiotepec, La Escoba y Santa Lucía, presentaron un desequilibrio Hardy-Weinberg (Cuadro 4). Los índices de endogamia (F_{IS}) fueron bajos y en la población de La Escoba, se observa un valor negativo, por lo que presenta un exceso de heterocigotos (Cuadro 4).

Cuadro 4. Estimadores de diversidad genética para las cinco poblaciones estudiadas. Número promedio de alelos (N_A), Heterocigosidad observada (H_o) y esperada (H_E) y coeficiente de endogamia (F_{IS}). El valor de $P \leq 0.05$ indica desequilibrio Hardy-Weinberg.

POBLACIÓN	N_A	H_o	H_E	P	F_{IS}
Quiotepec	9	0.74	0.83	0.0017*	0.11
Quiotepec-Puente	7	0.75	0.79	0.07122	0.04
Comulco	8	0.59	0.78	0.13516	0.24
La Escoba	7	0.84	0.78	0.02241*	-0.07
Santa Lucía	9	0.70	0.89	0.00003*	0.084

Diferenciación genética

Para esta especie, los resultados del AMOVA muestran que la mayor variación fue entre el total de los individuos con un valor de 134%. Además, en el cuadro 5 se presenta el índice de diferenciación (R_{ST}), se muestran valores bajos para todas las poblaciones, con un promedio de 0.113, lo cual indica que las poblaciones no están estructuradas. También se presentan valores altos de flujo de genes, que en promedio fue de $N_m = 5.17$ individuos por generación (Cuadro 5).

Cuadro 5. Estimadores de diferenciación genética. Arriba de la diagonal (en oscuro), se presentan los valores de diferenciación (R_{ST}). Debajo de la diagonal, se muestran los valores de flujo génico (N_m) dentro y entre las poblaciones estudiadas de *M. supertexta*.

POBLACIÓN	Quiotepec	Quiotepec-Puente	Comulco	La Escoba	Santa Lucía
Quiotepec		0.00319	0.24836	-0.00687	0.054660
Quiotepec-Puente	2.15		0.27817	0.00399	0.11331
Comulco	1.91	2.58		0.21772	0.17396
La Escoba	1.92	2.75	2.01		0.04898
Santa Lucía	1.88	4.13	1.90	4.63	

Discusión.

Análisis poblacional y estructura de tamaños

Estudios previos con algunas especies del género *Mammillaria* reportan valores de densidad más bajos a los obtenidos en el presente estudio, como en el caso de *M. magnimamma* (0.060 individuos/m²) (Valverde *et al.*, 1999); *M. zephyrantoides* (1.14 individuos/m²) (Navarro y Juárez, 2006); y *M. hamata* (0.005 individuos/m²) (Castillo y Navarro, 2006). La especie en este estudio, mostró una densidad promedio de 1.42 individuos/m², y entre poblaciones no se presentaron diferencias significativas. Estos resultados pueden deberse a que *M. supertexta* está sujeta a presiones moderadas (Martorell y Peters 2000). Además, se sabe que algunas especies del género *Mammillaria* en el sitio de La Cañada (VTC), muestran en general las presiones más bajas, mientras que los máximos valores se registran en la Mixteca. Es decir, los componentes de la perturbación varían entre especies y localidades (Peters y Martorell 2000). Por lo tanto, los resultados obtenidos para *M. supertexta*, pueden estar asociados a los impactos negativos a los que están sujetas las poblaciones de esta especie, lo que posiblemente ocasiona que los individuos jóvenes no alcancen la etapa de maduración, por lo cual disminuye su reproducción y por consiguiente, el reclutamiento de sus plántulas es bajo (Aguilar *et al.*, 2008).

Por otra parte, se argumenta que las cactáceas en riesgo o amenazadas son más vulnerables a la extinción como resultado de los siguientes factores: 1) áreas de distribución y abundancia restringidas y 2) a causa de aspectos reproductivos, fenológicos o ecológicos (Valiente-Banuet *et al.*, 2002; Hernández-Oria *et al.*, 2007). También, se conoce que las distintas perturbaciones al hábitat tales como el sobrepastoreo y el ganado, han tenido efectos y consecuencias negativas sobre las diferentes especies de cactáceas, lo que implica un alto riesgo en la disminución poblacional (Arias, 1993; Martorell y Peters, 2005). Tomando en cuenta lo anterior y los resultados obtenidos para *M. supertexta*, se puede decir que ésta podría enfrentar una problemática de conservación en un futuro, porque está amenazada por las

actividades humanas (Peters y Martorell, 2000) ya que se encuentra cerca de los caminos de terracería, o en las zonas dinamitadas (Fig. 7). Aunado a lo anterior, un estudio previo con *M. supertexta* refiere que la mortalidad de los individuos de esta especie, está relacionada en gran medida con el sitio en el que se encuentran, además, el fuerte grado de pendientes en las que las plantas habitan, ocasiona que trozos de cerro se desprendan y con ello arrastren a las plantas (Fig. 8). La erosión natural debida a las características propias del terreno se ve agravada por los cortes hechos a los cerros para la edificación de caminos de terracería (Avendaño, 2007). Otra posible causa de mortalidad es ocasionada por la presencia de ganado caprino, la visita de personas, así como la extracción de recursos maderables y sus implicaciones (Peters y Martorell, 2008). Por lo que es de gran importancia contar con propuestas para su conservación a largo plazo.



Figura 7. La construcción del puente Calapa en la autopista México-Puebla, extinguió poblaciones locales de *M. supertexta* y perturbó a las poblaciones remanentes (Foto Diana Cuevas).

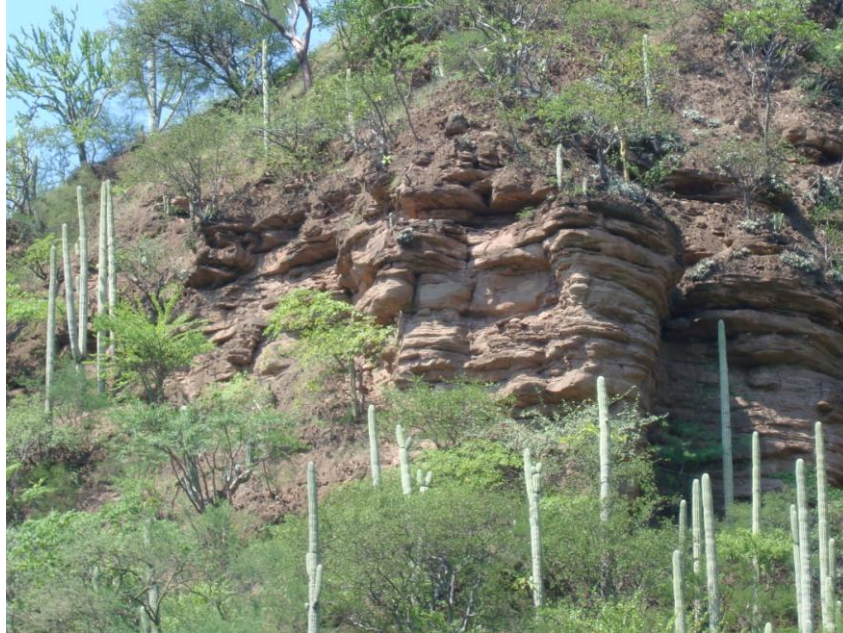


Figura 8. Hábitat típico (con grandes pendientes) de *M. supertexta* (Foto Diana Cuevas).

En cuanto a las clases de tamaño que presentó *M. supertexta*, se observó que la mayoría de los individuos son adultos potencialmente reproductivos en las cuatro poblaciones analizadas. Sin embargo, en la población de Santa Lucía se observaron diferencias significativas, mostrando individuos de mayor tamaño que en el resto de las poblaciones (Fig. 4), en campo se observó que esta población fue afectada por el uso de dinamita para la construcción de puentes y se pensaría que los individuos de mayor tamaño se establecieron antes de la fragmentación del hábitat, ya que existe un bajo reclutamiento de plántulas, lo que podría afectar a la población en un futuro (Peters y Martorell, 2000; Aguilar *et al.*, 2008).

Diversidad Genética

Los estimadores de la diversidad genética obtenidos para *M. supertexta* en comparación a los reportados para *M. crucigera* (Solórzano *et al.*, 2009), fueron similares en cuanto al número de alelos observados y heterocigosidad esperada. Sin embargo, los valores de la heterocigosidad observada fueron mayores en *M.*

supertexta. El índice de endogamia fue menor en *M. crucigera* que en la especie analizada en el presente estudio (véase Cuadros 2 y 4). Estas diferencias se pueden atribuir a que *M. crucigera*, presenta una distribución más restringida, en la cual se observan valores más bajos de densidad que los reportados para *M. supertexta* y un bajo éxito reproductivo (Valverde *et al.*, 2002).

Por otra parte, en un estudio realizado con las especies *M. napina* y *M. sphacelata* (Tapia-Salcido, 2011), se registraron valores de heterocigosidad menores a *M. supertexta* ($H_E = 0.72$ y $H_E = 0.69$ respectivamente). Así mismo, el valor de endogamia (F_{IS}) en *M. napina* y en *M. sphacelata* fue mayor que en *M. supertexta* (Cuadro 4). Por lo que la diversidad genética en las poblaciones de *M. supertexta* es mayor que en aquellas de *M. napina* y *M. sphacelata*. Estos resultados se relacionan con que *M. napina*, tiene un área de distribución restringida y bajas densidades poblacionales, por lo que se considera como amenazada por la Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010 (DOF 2010). Por otra parte, *M. sphacelata* es afectada por diversos factores, por ejemplo el cambio de uso de suelo o contaminación (Aguilar *et al.*, 2008).

Así mismo, *M. supertexta*, también presenta valores de heterocigosidad altos al compararla con otras especies de cactáceas globosas, tal es el caso de *Astrophytum asterias*, que muestra una $H_E = 0.632$ y $H_O = 0.598$ (Terry *et al.*, 2006) y en *Echinocactus grusonii* que se reporta una $H_E = 0.513$ y $H_O = 0.527$ (Hardesty *et al.*, 2008).

Al comparar la diversidad obtenida entre las poblaciones de *M. supertexta*, se observó que son similares entre las cinco poblaciones analizadas. En un estudio previo se señala que la población de Quirotepec en particular, se encuentra en equilibrio con una tendencia al crecimiento (Avendaño, 2007). Esta información, desde el punto de vista de la conservación es una buena noticia, ya que se sabe, que el tamaño poblacional es importante, porque si existen poblaciones pequeñas, estas suelen tener niveles más bajos de diversidad genética que las poblaciones de mayor tamaño, por lo que se hacen más susceptibles al efecto de la deriva génica, y en consecuencia hay pérdida de alelos y las poblaciones se pueden diferenciar genéticamente (Dobzhansky, 2003; Hamrick y Loveless, 1984). También, el tamaño poblacional puede reducir la capacidad

de las poblaciones de evolucionar en respuesta al cambio ambiental, y se tiene una estrecha relación entre la pérdida de diversidad genética y la tasa de extinción por los cambios del medio ambiente (Hamrick y Loveless, 1984; Picó, *et al.*, 2005). Los valores de endogamia, en las poblaciones de *M. supertexta*, son relativamente bajos especialmente en la población de La Escoba, que presentó un exceso de heterocigotos, lo cual puede atribuirse a que no existe endogamia. Es decir, las poblaciones de la especie no están subdivididas y por lo tanto hay un flujo génico entre ellas (Norman *et al.*, 1993; Amos *et al.*, 1998; Otero-Arnaiz *et al.*, 2005). Nuevamente estos datos son favorables para la especie desde el punto de vista de la conservación de la especie.

Diferenciación genética

La diferenciación génica dentro y entre las poblaciones de las plantas es afectada por distintos factores, tales como el sistema de reclutamiento (es decir, la presencia de nuevas plántulas en la población), el apareamiento mixto, la predominancia de cruza fuera de la población, la morfología floral (hermafroditas, monoicas, dioicas o heterostilas), el modo de reproducción, o el mecanismo de polinización (Hamrick y Loveless 1984).

En *M. supertexta*, se obtuvo una diferenciación génica relativamente baja ($R_{ST} = 0.113$), y un flujo génico alto ($Nm = 5.17$). Esto sugiere que aunque existe un intercambio de polen y/o semillas entre los individuos de esta especie, las poblaciones están poco diferenciadas, debido a que aparentemente no existe un reclutamiento de plántulas efectivo, porque dentro de las poblaciones se ha reducido la cantidad de heterocigotos (Cuadro 4). Bajo esta situación, se podría estar afectando el tamaño efectivo poblacional, por una migración restringida y en consecuencia se estaría produciendo una alta subdivisión poblacional (Hamrick y Loveless, 1984).

Por otra parte, aunque no se conoce el mecanismo de polinización de *M. supertexta*, sin embargo, la flor infundibuliforme, menor de 1.4 cm de largo y de color rojo-púrpura concuerda con el síndrome de polinización por abeja como en el caso de *M. gaumeri*, (Giovanetti *et al.*, 2007), o de otras cactáceas como *Astrophytum asterias* en

la que se sabe los heminópteros son responsables de la polinización, (Williamson *et al.*, 2008).

Si esto es cierto para la especie en estudio, esta polinización podría definir la diferenciación entre las poblaciones, dependiendo del mecanismo utilizado. Por ejemplo, los insectos pequeños pueden limitar el movimiento de polen y por lo tanto incrementar la diferenciación poblacional, así como reducir el flujo génico. En especial dentro de las poblaciones este tipo de polinización reduce el tamaño efectivo poblacional y promueve la subdivisión y el aumento de endogamia. En contraste, cuando existe una dispersión de polen por vectores (e.g. viento) a largas distancias, se puede mover grandes cantidades de polen y por lo tanto prevenir la divergencia entre las poblaciones. Ahora bien, dentro de las poblaciones algunos vectores que intervienen (e.g. aves) pueden visitar más plantas, reducir la subdivisión y ayudar a aumentar el número de alelos y el tamaño de la población (Hedrick y Loveless, 1984).

En estudios recientes sobre la vulnerabilidad de muchas especies de plantas, usando aloenzimas para la describir la diferenciación poblacional se ha encontrado por ejemplo, que dentro y entre poblaciones la diferenciación genética ha sido baja en la mayoría cactus analizados (nueve especies), con excepción de *Lophocereus schottii*. Esta última especie la cual tuvo un valor de G_{ST} relativamente alto (0.242) (Hamrick *et al.*, 2002). Ahora bien, utilizando microsatélites en *M. crucigera* (Ibarra-Suárez, 2009) se obtuvo una diferenciación genética alta $R_{ST}=0.591$, lo cual indica que sus poblaciones están estructuradas, apoyando lo reportado por Contreras y Valverde (2002). En general, parece ser que los microsatélites muestran una mejor resolución para los valores genéticos de las poblaciones. Esto implica ver la posibilidad que los altos valores de diferenciación génica obtenidos en varias especies de cactáceas se deben al uso del marcador genético.

Finalmente desde el punto de vista de la conservación, los resultados obtenidos en este estudio, no muestran la posible problemática de conservación a la que pueden estar sujetas las poblaciones de esta especie. Como ya se ha mencionado sus poblaciones están cerca de caminos de terracería, basureros clandestinos, zonas

dinamitadas, entre otros. Por lo que no se descarta la continuación de estudios futuros para conocer más acerca de la biología de *M. supertexta* y tener la certeza de cuáles son los factores que están realmente afectando a las poblaciones de este cactus endémico del Valle de Tehuacán- Cuicatlán.

Conclusiones.

El presente estudio es la primera en aportar datos moleculares sobre *Mamillaria supertexta*. Cabe destacar que esta tesis demostró que *Mamillaria supertexta* contiene valores relativamente altos de diversidad genética y densidad poblacional.

Sin embargo, no se descarta la continuación de estudios para poder conocer más acerca de la biología de esta especie y poder realizar un plan de conservación a largo plazo, en donde se implementara la protección de los individuos adultos y juveniles, ya que como se observó hay un bajo reclutamiento plántulas, así mismo se debe trabajar en la conservación del hábitat donde se encuentran los individuos de esta especie.

Referencias

- Allendorf, F.W. y Gordon, L. 2007. Conservation and the Genetics of Populations. Blackwell Publishing Ltd. USA, pp. 577.
- Amos, W. y Harwood, J. 1998. Factors affecting levels of genetic diversity in natural populations. *The Royal Society*. 353: 177-186.
- Anderson, E., 2001. *The Cactus Family*. Portland, Oregon USA, pp. 446.
- Andrade-Lima, D. 1981. The caatingas dominium. *Revista Brasileña de Botánica*. 4, 149-163.
- Aguilar R., Quesada M., Ashworth L., Herrerias, Y. y Lobo, J. 2008. Genetic consequences of habitat fragmentation in plant populations: susceptible signals in plant traits and methodological approaches. *Molecular Biology*. 17, 5177-5188.
- Agarwal, M., Shrivastava N. y Padh H. 2008. Advances in molecular marker techniques and their applications in plant sciences. *Plant Cell Rep.* 27,617-631.
- Agargwal, M., Shrivastava, N. y Padh, H. 2008. Advances in molecular marker techniques and their applications in plant sciences. *Plant Cell Rep.* 27,617-631.
- Aranguren-Méndez, J.A., Román-Bravo, R., Isea, W., Villasmil, Y. y Jordana, J. 2005. Los microsatélites (STR's), marcadores moleculares de ADN por excelencia para programas de conservación: una revisión. *Archivos Latinoamericanos de Producción Animal*. 13, 30-42.
- Arias-Montes, S., 1993. Cactáceas: Conservación y Diversidad en México. *Diversidad Biológica de México*. *Revista de la Sociedad Mexicana de Historia Natural* 44, 109-115.
- Arias, S., Gama-López, S., Guzmán-Cruz, I.U. 1997. Flora del Valle de Tehuacán-Cuicatlán. Cactaceae. Instituto de Biología. México, DF, pp. 146.
- Avendaño, T., 2007. Dinámica Poblacional de *Mammillaria supertexta* Mart. Ex Pfeiff. En el Valle de Cuicatlán, Oaxaca, México, pp. 1-71.
- Barrett SCH, Kohn JR. 1991. Genetic and evolutionary consequences of small population size. *Genetics and Conservation of Rare Plants*. Oxford University Press. New York, pp. 3-30
- Becerra, V., Paredes, M. 2000. Uso de Marcadores Bioquímicos y Moleculares en Estudios de Diversidad Genética. *Agricultura Técnica*. Chile. 60,270-281.
- Bravo-Hollis, H., Sánchez Mejorada, H., 1978 *Las Cactáceas de México*. Vol. II. Universidad Nacional Autónoma de México, México.
- Bravo-Hollis, H., Sánchez Mejorada, H., 1991 *Las Cactáceas de México*. Vol. II. Universidad Nacional Autónoma de México, México.
- Castillo, A. & M. C. Navarro (en prensa). 2006. Estudio preliminar sobre la germinación de *Mammillaria hamata* en Los Ángeles Tetela, Puebla.
- Charlesworth, B., Nordborg M. y Charlesworth, D. 1997. The effects of local selection, balanced polymorphism and background selection on equilibrium patterns of genetic diversity in subdivided populations. *Genetical Research*. 70,155-174.
- Chistiakov, Hellemans, B. y Volcaert, F.A. 2006. Microstellites and their genomic distribution, evolution, function and applications. A review with special reference to fish genetics. *Aquaculture*. 255,1-29.

- Chernoff, H.; Lehmann E.L. (1954). «The use of maximum likelihood estimates in X^2 tests for goodness-of-fit». The Annals of Mathematical Statistics, pp 579–586
- Crawley, M. J., 1997. Sex. En Plant Ecology. 2ª ed. Ed. Blackwell Publishing, Oxford, UK. pp. 156-213.
- Crow, F. F. y Kimura, M. 1970. An introduction to population genetics theory. New York, Evanston and London. Harper and Row Publishers, pp. 83-98.
- Dávila-Aranda P., Villaseñor, J.L., Medina, T., Ramirez, A., Salinas, A., Sánchez-Ken, J., Tenorio, P., 1993. Listados Florísticos de México. X. Flora del Valle de Tehuacán-Cuicatlán. Instituto de Biología, México.
- Dobzhansky, T. Ayala, F. Stebbins, G. y Valentine, J., 2003. Evolución. Ed. Omega, Barcelona, pp. 508.
- Eguiarte, L.E. 1995. Hutchinson (Agavales) vs Humber y Dahlgren (Asparagales): Análisis moleculares sobre la filogenia y evolución de la familia Agavaceae *sensu* Hutchinson dentro de las monocotiledoneas. Boletín de la Sociedad Botánica de México. 56,45-56.
- Elstrand, N.C. y Elman, D.R. 1993. Population genetic consequences of small population size: Implications for plant conservation. Annual Review of Ecology and Systematic. 24,217-242.
- Estoup, A., Phillipe, J. y Cornuet, Jean-Marie. 2002. Homoplasy and mutation model at microsatellite loci and their consequences for population genetics analysis. Molecular Ecology. 11,1591-1604.
- Escudero, A., Iriondo, J.M., Torres, M.E. 2003. Spatial analysis of genetic diversity as a tool for plant conservation. Biological Conservation. 113, 351-365.
- Excoffier, L. G. Laval, and S. Schneider. 2006 Arlequin ver. 3.1: An integrated software package for population genetics data analysis. Evol. Bioinform. Online. 1: 47-50.
- Ferraris, D.J., Palumbi, S. R., 1996. Molecular Zoology, Advances, Strategies and Protocols. Ed. Wiley-Liss. USA, pp 163.
- Futuyma, D.J. 2003 Evolutionary Biology. Sinauer Associates Inc. Sunderland, Massachusetts, pp. 349.
- Frankham, R., 2003. Genetics and Conservation biology. Comptes Rendus Biologies 326. S22-S29.
- Giovanetti, M. Cervera, C. y Andrade, J.L. 2007. Pollinators of an endemic and endangered species, *Mammillaria gaumeri* (Cactaceae), in this natural habitat (costal dune) and in a botanical garden. Madroño. 54, 286-292.
- Goodenough, U. 1981. Genética. Barcelona. 751-764, 772-776pp.
- Hamrick, J.L. y Loveless, M.D. 1984. Ecological determinants of genetic structure in plant populations. Annual Review of Ecology and Systematics. 15,65-95.
- Hamrick, J.L., Nason, J.D., Fleminf, T.H. y Nasar, J.M. 2002. Genetic diversity in columnar cacti. En: Fleming, T.H. y Valiente-Banuet, A. (eds). Columnar Cacti and their mutualists: Evolution, Ecology and Conservation. Universidad de Arizona, Tucson AZ, pp. 122-133.
- Hardesty, B.D., Hughes, S.L., Rodriguez, V.M. y Hawkin, J.A. 2008. Characterization of microsatellite *loci* for the endangered cactus *Echinocactus grusonii*, and their cross-species utilization. Molecular Ecology Resources. 8, 164-167.
- Hartl, L.D., Clark, G.A. 2001. Principles of Population Genetics. 3a ed. Ed. Sinauer Associates, Inc. Massachusetts, pp. 163.

- Hartl, L.D., Clark, G.A. 2007. Principles of Population Genetics. 3a ed. Ed. Sinauer Associates, Inc. Massachusetts, pp. 175.
- Hedrick, P. W. 2000. Genetics of Populations 2a Ed. Jones and Bartlett, Boston, MA, pp. 553.
- Hernández-Oria, J., Chávez-Martínez, R., Sánchez-Martínez, E., 2007. Factores de riesgo en las cactaceae amenazadas de una región semiárida en el sur del desierto chihuahuense, México. *Interciencia*. 32, 728-734.
- Hernández, M.H. y Godínez, A.H. 1994. Contribución al conocimiento de las cactáceas amenazadas. *Acta Botánica Mexicana*. 26,33-52.
- Hunt, D. 1999. CITES Cactaceae checklist. Royal Botanical Gardens Kew/ International Organization for succulent plant study. Inglaterra.
- Ibarra-Suárez, A. 2009. Estudio de la Diversidad Genética de Cactáceas endémicas del Género *Mammillaria* del Valle de Tehuacán-Cuicatlán, Puebla-Oaxaca, México. Tesis de Licenciatura, UNAM, México, pp. 37.
- Jarvis, A., Yeaman, S., Guarino, L. y Tohme, J. 2005. The Role of Geografic Analysis in Locating Understanding, and Using Plant Genetic Diversity. Elsevier Inc. 17:279-298.
- López, A., Dávila, P., Flores, A. y Pritchard, H., 2003. Longevity of *Mammillaria supertexta* seeds under ultra-dry long-term storage. En Smith, R.D., Dickie, J.B., Linington, S.L., Pritchard, H.W. & Probert, R.J. Seed Conservation: Turning Science into Practice. Kew: Royal Botanic Gardens, Kew, pp. 825-834.
- Mabberley, D.J. 1997. The Plant Book. 2a ed. London: Cambridge University press.
- Maruchi, A., Alor, B., M., García, O. M. y Teller, L. 2009. Caracterización de accesiones de papaya (*Carica papaya* L.) a través de marcadores AFLP en Cuba. *Revista Colombiana de Biotecnología*. 2, 31-39.
- Martorell, C. Ureta, C. 2009. Identifying the impacts of chronic anthropogenic disturbance on two threatened cacti to provide guidelines for population-dynamics restoration. *Biological Conservation*. 142, 1992-2001.
- Martorell, C., Peters, E. 2005. The measurement of chronic disturbance and its effects on the threatened cactus *Mammillaria pectinifera*. *Biological Conservation*. 124,199-207.
- McCouch, S. R., Chen, S., Panaud, O., Temnykh, S., Xu, Y., Cho, Y., Huang, N., Ishii, T. y Blair, M., 1997. Microsatellite marker development, mapping and applications in rice genetics and breeding. *Plant Molecular Biology*. 35, 89-99.
- Mullis, K.B. Fallona, F., Scharf, Saiki R., Horn, G., Erlich, H. 1986. Specific enzymatic amplification of DNA in vitro: the polymerase chain reaction. *Cold Spring Harbor Symposium in Quantitative Biology*. 51, 263-273.
- Navarro, M. C. y Juárez, M., 2006. Evaluación de algunos parámetros demográficos de *Mammillaria zephyranthoides* en Cuautinchán, Puebla. México. *Zonas Áridas*. 10, 74-83.
- Nei, M., Imaizumi, Y. 1966. Effects of restricted population size and increase in mutation rate on the genetic variation of quantitative characters. *Genetic*. 54, 753-782.
- Norman, C. E. y Elam, D. M. 1993. Population Genetic consequences of small population size: Implications for Plant Conservation. *Annual Review of Ecology and Systematics*. 24, 217-42.

- Oliveira, E. J., Dantas, J. L. L., Castellen, M. da S., Lima, D. S., Barbosa, H. S. e Motta, T. B. N. 2007. Marcadores moleculares na predição do sexo em plantas de mamoeiro. *Pesquería Agropecuaria Brasil*. 42, 1747-1754.
- Otero-Arnaiz, A., Schnabel, A., Glenn, T.C., Schabel, N.A., Hagen, C. y Ndong, L. 2005. Isolation and characterization of microsatellite markers in the East African tree, *Acacia brevispica* (Fabaceae: Mimosoideae). *Molecular Ecology*. 5, 366-368.
- Parks Watch, 2004. Reserva de la Biosfera, Tehuacán-Cuicatlán; en <http://www.parkswatch.org/parkprofile.php?l=spa&country=mex&park=tcbr>.
- Parra, F., Casas, A., Peñaloza-Ramires, J.H., Cortés-Palomee, A., Rocha-Ramirez, V., González-Rodríguez, A. 2010. Evolution under domestication on going artificial selection and divergence of wild and managed *Stenocereus pruinosus* (Cactaceae) populations in the Tehuacan Valley, México. *Annals of Botany*. 106, 483-496.
- Peters, E., Martorell, C. 2000. Conocimiento y conservación de las mamilarias endémicas del Valle de Tehuacán-Cuicatlán. Reporte final del proyecto no. R166. CONABIO.
- Peters, E. y C. Martorell. 2001. Conocimiento y conservación de las mamilarias endémicas del Valle de Tehuacán-Cuicatlán. Universidad Nacional Autónoma de México. Instituto de Ecología. Informe final SNIB-CONABIO proyecto No. R166. México D. F. (Para las secciones de exploración y descripción de localidades).
- Peters, E.M., Martorell, C., Ezcurra, E. 2008. Nurse rocks are more important than nurse plants in determining the distribution and establishment of globose cacti (*Mammillaria*) in Tehuacán Valley, Mexico. 72, 593-601.
- Petit, R.D., Mousadik, K.A., Pons, O. 1998. Identifying populations for conservation on the basis of genetic marker. *Conservation Biology*. 12, 844-855.
- Picó F. X., Quintana-Ascencio P. F. 2005. Análisis de Factores demográficos y genéticos para la conservación de poblaciones de plantas en un hábitat fragmentado. *Ecosistemas*. 14, 109-115.
- Plackett, R.L. (1983). «Karl Pearson and the Chi-Squared Test». *International Statistical Review*. International Statistical Institute (ISI), 51, 59-72.
- Rallo, P., Belaj, A., De La Rosa, R., Trujillo, I. 2002. Marcadores moleculares (en línea). Córdoba, España. http://www.extremadura21.com/caudal/hemeroteca/ayojunio_2000/almazara/almazara1.htm.
- Santiago, R.J., Brachet, J.C., Crisanto, P.J. y De la Rosa. G.A. 2004. Cactáceas y otras plantas nativas de la cañada Cuicatlán. Oaxaca. UNAM. México, DF, pp. 69.
- SEMARNAT (Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales, 2010. NOM 059-ECOL.2001. Diario Oficial de la Federación. México, DF.
- Solórzano, S., Cortés-Palomec, A., Ibarra, A. Dávila, P. y Oyama, K., 2009. Isolation, characterization and cross-amplification off polymorphic microsatellite loci in the threatened endemic *Mammillaria crucigera* (Cactaceae). *Molecular Ecology Resources*. 9, 156-158.
- Tapia-Salcido, H.J., 2001. Análisis de la Diversidad y la Estructura Genética Poblacional de dos especies del género *Mammillaria*, endémicas del valle de Tehuacán-Cuicatlán. Tesis de Maestría. UNAM, México, DF, pp. 43.

- Terry, M., Pepper A. y Manhart, R., 2006. Development and characterization of microsatellite loci in endangered *Astrophytum asterias* (Cactaceae). *Molecular Ecology Notes*. 6, 865-866.
- Toro, M. A. y Caballero, A. 2005. Characterization and conservation of genetic diversity in subdivided populations. *The Royal Society*. 360, 1367-1378.
- Valiente-Banuet, A., Flores-Hernández, N., Verdú, M y Dávila, P. 1998. The chaparral vegetation in Mexico under a non-mediterranean climate: The convergence and madrean-tethyan hypotheses reconsidered. *American Journal of Botany*. 85, 1398-1408.
- Valiente-Banuet, A., 2002. Vulnerabilidad de los sistemas de polinización de cactáceas columnares de México. *Revista Chilena de Historia Natural*. 75, 99-104.
- Valverde, T., Trejo, M. y Castillo, S. 1999. Patrón de distribución y abundancia de *Mammillaria magnimamma* en la Reserva del pedregal de San Ángel, México, DF. *Cactáceas y Suculentas Mexicanas*. 44, 64-74.
- Valverde, T. Contreras, C., 2002. Evaluation of the conservation status of a rare cactus (*Mammillaria crucigera*) through the analysis of its populations dynamics. *Journal of Arid Environments*. 51, 89-102.
- Valverde, T. Contreras, C., 2006. Assessing the ecological status of *Mammillaria pectinifera* Weber (Cactaceae), a rare and threatened species endemic of Tehuacán-Cuicatlán Region in Central Mexico. 64, 193-208.
- Williamson, P. y Blair, A., 2008. Effectiveness and Importance of pollinators to the star cactus (*Astrophytum asterias*). *The Southwestern Naturalist*. 53, 423-430.
- Wright, S. 1965. Interpretation of population structure by F-statistics with special regard to system of mating. *Evolution*. 19, 395-420.
- Young, A. G. y Clarke, G. M., 2000. *Genetics, Demography and Viability of Fragmented Populations*. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- Zavala-Huratdo, A. 1997. *Suculentas mexicanas. Cactáceas*. INAM. CONABIO. CVS Publicaciones. México.
- Zavala-Hurtado, J. A. y Valverd, P.L., 2003. Habitat restriction in *Mammillaria pectinifera*, a threatened endemic Mexican cactus. *Journal of Arid Environments*. 14, 891-898.